



**FLÁVIA ROMAM DA COSTA SOUZA**

**CONDICIONADORES QUÍMICOS E INOCULANTES  
MICROBIOLÓGICOS NO CRESCIMENTO DA *Urochloa  
brizantha* SOBRE REJEITO DA BARRAGEM DE FUNDÃO,  
MARIANA, MG**

**LAVRAS - MG  
2019**

**FLÁVIA ROMAM DA COSTA SOUZA**

**CONDICIONADORES QUÍMICOS E INOCULANTES MICROBIOLÓGICOS NO  
CRESCIMENTO DA *Urochloa brizantha* SOBRE REJEITO DA BARRAGEM DE  
FUNDÃO, MARIANA, MG**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro  
Orientador

**LAVRAS - MG  
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Souza, Flávia Romam da Costa.

Condicionadores químicos e inoculantes microbiológicos no  
crescimento da *Urochloa brizantha* sobre rejeito da barragem de  
Fundão, Mariana, MG / Flávia Romam da Costa Souza. - 2019.

80 p. : il.

Orientador(a): Marco Aurélio Carbone Carneiro.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Carvão. 2. Acúmulo de metais. 3. Interação de  
microrganismos. I. Carneiro, Marco Aurélio Carbone. II. Título.

**FLÁVIA ROMAM DA COSTA SOUZA**

**CONDICIONADORES QUÍMICOS E INOCULANTES MICROBIOLÓGICOS NO  
CRESCIMENTO DA *Urochloa brizantha* SOBRE REJEITO DA BARRAGEM DE  
FUNDÃO, MARIANA, MG**

**CHEMICAL CONDITIONS AND MICROBIOLOGICAL INOCULANTS IN *Urochloa  
brizantha* GROWTH ON FUNDÃO DAM WASTE, MARIANA, MG**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 02 de agosto de 2019.

Dr(a). Maria Rita Scotti Muzzi - UFMG

Dr. Jéssé Valentim dos Santos - UFLA

Prof. Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro  
Orientador

**LAVRAS - MG  
2019**

*Aos meus pais Adriana e Paulo César e ao meu irmão Cássio pelo apoio, amor e carinho em todas as etapas e por serem os meus maiores exemplos de vida.  
Dedico*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, especialmente, ao Departamento de Ciência do solo, pela oportunidade.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado e ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro às pesquisas.

À Renova, pelo apoio logístico durante as viagens de campo.

A todos os funcionários e professores do DCS/ UFLA, em especial, ao Paulo, que antes de ser o nosso técnico, foi e é meu grande amigo.

Aos pós doutorandos, Aline, Flávio, Jessé e Marisângela, sem vocês não seria possível.

Mais uma vez, à Aline, pela amizade, paciência, por toda disposição em ajudar e por todo conhecimento passado.

Ao professor Marco Aurélio Carbone Carneiro, pela orientação e conhecimento.

A todos os colegas de departamento, especialmente, Ana Paula, Bruna e Devíson que se tornaram mais que amigos.

Aos meus pais, Adriana e Paulo, ao meu irmão, Cássio e aos meus avós, Dotiva e Tuti e a todos os familiares próximos pela paciência, amor, carinho e apoio incondicional.

Ao meu afilhado, Miguel, pelo amor mais puro.

Aos meus amigos, Filipe (Duroquinho), Lorena, Maju, Marcela, Mayara e Vanusa pelo apoio, pela amizade e paciência nas horas mais difíceis.

À minha ex orientadora, Ligiane, pelo apoio, incentivo e oportunidades concedidas.

A todos que eu não mencionei, mas se fizeram presentes.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

*Muito obrigada a todos!*

## RESUMO GERAL

O Quadrilátero Ferrífero, localizado no estado de MG, é a região com maior produção de minério de Fe do Brasil, e promove grande desenvolvimento sócio econômico para o país. Apesar dessa essencialidade, o processo de mineração é uma atividade que causa degradação nos ecossistemas. Após o rompimento da barragem de Fundão em 2015, no distrito de Mariana-MG, que liberou aproximadamente 34 milhões de m<sup>3</sup> são necessárias técnicas que auxiliam no processo de revegetação para a reabilitação da área. Contudo, a aplicação de condicionadores de solo pode ajudar a melhorar as condições do Tecnosolo para o desenvolvimento de plantas, assim como a interação entre a microbiota do solo pode beneficiar o estabelecimento das plantas no local. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar como os condicionadores de solo afetam as condições químicas do Tecnosolo e no desenvolvimento de *Urochloa brizantha* e avaliar a contribuição dos FMAs na ativação microbiana do solo no rejeito e no crescimento de *Urochloa brizantha* em rejeito de mineração de Fe. Amostras de rejeito de mineração de Fe oriundas de Mariana foram coletadas para cultivar *Urochloa brizantha* com diferentes condicionadores de solo e em outra etapa com fungos micorrízicos associados a diferentes concentrações de células microbianas. O primeiro estudo foi desenvolvido em casa de vegetação com sete tratamentos (controle e seis diferentes condicionadores de solo biochar, carvão, esterco bovino, composto orgânico, gesso e enxofre) e cinco repetições e após o cultivo foram avaliados os atributos químicos do rejeito e os teores e acúmulos de elementos nas plantas. O segundo estudo foi desenvolvido em casa de vegetação e constou de um fatorial 5 x 2, sendo cinco diluições para extinção de microrganismos do solo (0, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-6</sup> e 10<sup>-9</sup>) com e sem inoculação com FMAs, em quatro repetições. Foi avaliado a quantificação da colonização micorrízica, a atividade da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), a determinação do carbono da biomassa microbiana, a extração de esporos, a glomalina facilmente extraível (PSRG-FE) e a determinação do comprimento de micélio total (CMT). A aplicação de gesso e enxofre proporcionaram os maiores MSPA, MSR e incremento no acúmulo de elementos químicos em relação aos demais condicionadores, no entanto, foram semelhantes ao controle, o que indica que o Tecnosolo não tem efeito negativo no crescimento das plantas. A aplicação de carvão e composto orgânico e esterco bovino proporcionaram aumentos no pH. Os condicionadores utilizados não foram eficientes na alteração das características físico-químicas do Tecnosolo e na promoção do crescimento de *Urochloa brizantha*. Já os fungos micorrízicos arbusculares favoreceram o aumento da biomassa microbiana do solo, mas não foram capazes de promover aumento do crescimento da *Urochloa brizantha*. O rejeito não apresentou restrições para o crescimento de *Urochloa brizantha*, entretanto não dá condições favoráveis ao desenvolvimento de uma microbiota adequada para o reestabelecimento dos serviços ecossistêmicos nos locais atingidos pelo rompimento da barragem.

**Palavras-chave:** Biochar. Carvão. Acúmulo de metais. Interação de microrganismos. Biomassa microbiana.

## GENERAL ABSTRACT

The *Quadrilátero Ferrífero*, located in the state of MG, is the region with the largest production of Fe ore in Brazil, and promotes great socioeconomic development for the country. Despite this essentiality, the mining process is an activity that causes degradation in ecosystems. Following the breach of the *Fundão* dam in 2015, in the district of Mariana-MG, which released approximately 34 million m<sup>3</sup>, techniques are needed to assist in the revegetation process for the rehabilitation of the area. However, the application of soil conditioners can help improve tailing conditions for plant development, just as the interaction between soil microbiota can benefit the establishment of plants on site. Therefore, the aim of this study was to evaluate how soil conditioners affect the chemical conditions of tailings and *Urochloa brizantha* development and to evaluate the contribution of AMFs to soil microbial activation in tailings and growth of *Urochloa brizantha* in Fe mining tailings. Mining tailings samples from Fe from Mariana were collected to cultivate *Urochloa brizantha* with different soil conditioners and in another stage with mycorrhizal fungi associated with different concentrations of microbial cells. The first study was carried out in a greenhouse with seven treatments (control and six different soil conditioners biochar, charcoal, manure, organic compost, plaster and sulfur) and five replicates. content and accumulation of elements in plants. The second study was conducted in a greenhouse and consisted of a 5 x 2 factorial, with five dilutions for extinction of soil microorganisms (0, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-6</sup> and 10<sup>-9</sup>) with and without inoculation. with FMAs, in four repetitions. Quantification of micrometer colonization, fluorescence diacetate hydrolysis activity, microbial biomass carbon determination, spore extraction and easily extractable glomalin and total mycelium length were evaluated. The application of gypsum and sulfur provided the largest SDM, RDM and increase in the accumulation of chemical elements in relation to the other conditioners, however, were similar to the control, which indicates that the technosol has no negative effect on plant growth. Application of coal and organic compost and manure provided increases in pH. The conditioners used were not efficient in altering the physicochemical characteristics of the Technosol and in promoting the growth of *Urochloa brizantha*. Already mycorrhizal fungi arbitrate to favor the increase of soil microbial biomass, but were not able to promote the growth of *Urochloa brizantha*. The tailings show no restriction on the growth of *Urochloa Brizantha*, but it does not provide favorable conditions for the development of an appropriate microbiota for the restoration of ecosystem services at sites affected by the dam rupture.

**Keywords:** Biochar. Coal. Metal accumulation. Interaction of microorganisms. Microbial biomass.

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	<b>9</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>9</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 Minério de ferro e o Quadrilátero Ferrífero</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2 Degradação pela mineração de ferro</b> .....	<b>11</b>
<b>2.3 Rompimento da barragem de Fundão</b> .....	<b>13</b>
<b>2.4 Condicionadores de solo</b> .....	<b>15</b>
<b>2.5 Fungos Micorrízicos Arbusculares</b> .....	<b>17</b>
<b>2.6 Sinergia entre FMAs e a microbiota do solo</b> .....	<b>19</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>21</b>
<b>SEGUNDA PARTE - ARTIGOS</b> .....	<b>29</b>
<b>ARTIGO 1 - Chemical attributes of iron ore tailings after application of soil conditioners and development of <i>Urochloa brizantha</i></b> .....	<b>29</b>
<b>ARTIGO 2 - Relação entre fungos micorrízicos arbusculares e a atividade microbiana em rejeito de mineração de Ferro</b> .....	<b>53</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>79</b>
<b>AGRADECIMENTO</b> .....	<b>80</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Quadrilátero Ferrífero encontra-se situado entre importantes bacias, a do São Francisco, a do Rio Grande e a do Rio Doce (BRD) no centro-sul do estado de Minas Gerais (MG) – Brasil, é um local de destaque nacional desde o século XVII devido à grande riqueza mineral. Em vista disso, detém grande relevância para o desenvolvimento econômico do estado já que impulsiona o setor industrial, especialmente, o siderúrgico e o de mineração. Desde o século XVII, sobretudo, em meados do século XX até a atualidade apresenta intensa atividade mineradora em que, dentre vários minérios extraídos, o Manganês (Mn) e o Ferro (Fe) recebem destaque de produção (DARDENNE; SCHOBENHAUS, 2001; GUEVARA et al., 2018), sendo a região com a maior produção de minério de ferro no país.

Entre as mais antigas cidades do Quadrilátero Ferrífero, destaca-se Mariana, a primeira capital do estado. Em 05 de novembro de 2015 ocorreu um dos maiores desastres ambientais em áreas de mineração no Brasil, a ruptura da barragem de Fundão que continha rejeito de mineração de Fe e era pertencente à Samarco. Nesse acidente foram liberados aproximadamente 63% (34 milhões de m<sup>3</sup>) da capacidade do reservatório de rejeito, o material foi arrastado ao longo da Bacia do Rio Doce por mais de 650 km a jusante, até a foz do rio Doce no estado do Espírito Santo (ANA, 2015; IBAMA, 2015) onde provocou impactos negativos em todos os ecossistemas na bacia do Rio Doce.

Esse rejeito possui predominância de óxidos de silício (SiO<sub>2</sub>) e de ferro (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) e de minerais, como o quartzo e a hematita (FILLIPOV et al., 2014), característica de textura silto-arenosa, portanto baixos níveis de argila (SILVA et al., 2015). Ainda apresentam alta densidade e baixa porosidade, o que dificulta a aeração, infiltração de água e o estabelecimento de raízes, o pH é alcalino, possui baixos teores de nutrientes disponíveis (exceto Fe e Mn), reduzida concentração de matéria orgânica (MO) e baixa capacidade de troca de cátions (CTC). As concentrações de metais pesados trocáveis Zn, Cd, Cu, Pb e Ni são muito baixas e os teores trocáveis de Fe e Mn dos rejeitos são elevados (SILVA et al., 2016). Assim, técnicas como a utilização de condicionadores de solo que alteram o pH podem minimizar o efeito desse impacto, uma vez que possuem a finalidade de melhorar as condições químicas do rejeito e melhorar o ambiente para o desenvolvimento radicular e o crescimento dos vegetais.

Alguns condicionadores de solo, por exemplo, os esterco, resultam em alterações significativas das propriedades químicas e na fertilidade do solo (BRITO et al., 2005). Já a utilização de compostos orgânicos, biochar e carvão diminuem a biodisponibilidade e mobilidade de metais pesados (ZENG et al., 2015) além de aumentarem a CTC do solo e estimularem a microbiota (FORJÁN et al., 2017; MOORE et al., 2018). O enxofre elementar ( $S^0$ ), como condicionador de solo, tem por objetivo fornecer enxofre e reduzir o pH por meio de sua oxidação pelos microrganismos e apresenta melhor eficiência quando comparado ao sulfato de cálcio (ARAÚJO et al., 2015).

Outro fator importante para o processo de reabilitação de áreas degradadas são os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Esses fungos são de ocorrência generalizada (cosmopolitas) e fazem associação simbiótica mutualista com a maioria das plantas vasculares. Vários são os estudos que demonstram os efeitos benéficos dos FMAs no crescimento de plantas em áreas degradadas (SIQUEIRA et al., 2010; SOARES; CARNEIRO, 2010) contaminadas por metais pesados e mineradas (SIQUEIRA et al., 2007). Os FMAs proporcionam às plantas maior absorção de água e nutrientes devido ao volume de solo explorado por meio das hifas extrarradiculares que são responsáveis pela imobilização desses elementos, e ainda atuam na ativação de uma comunidade de microrganismos importantes vivendo na micorrizosfera, como os solubilizadores de fosfatos, fixadoras de nitrogênio, entre outros (KLAUBERG FILHO et al., 2005). Deste modo, com o intuito da melhoria do ambiente radicular, a ativação da microbiota do solo pelas hifas extrarradiculares dos FMAs podem representar uma alternativa para a aceleração do processo de reabilitação das áreas afetadas pela deposição do rejeito.

Portanto, o presente estudo teve por objetivo: a) avaliar como os condicionadores de solo afetam as condições químicas do rejeito de mineração de ferro e no desenvolvimento de *Urochloa brizantha* e b) avaliar a contribuição dos FMAs na atividade microbiana do rejeito de mineração de ferro.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Minério de ferro e o Quadrilátero Ferrífero**

A mineração é um dos setores básicos da economia e contribui de forma decisiva para o desenvolvimento e para a melhoria da qualidade de vida da população (FARIAS, 2002). Dentre as explorações de minério realizadas no Brasil, a mineração de ferro é uma das mais expressivas (BARRETO, 2001). As reservas mundiais de minério de ferro totalizam 170 bilhões de toneladas e as reservas lavráveis brasileiras representam 13,6% dessas, portanto o terceiro maior produtor mundial. Os principais estados produtores do Brasil são: Minas Gerais (72,5% das reservas e teor médio de 46,3% de Fe), Mato Grosso do Sul (13,1% e teor médio de 55,3%) e Pará (10,7% e teor médio de 64,8%) (JESUS, 2014). Além da grande quantidade de minério, os minérios brasileiros são considerados de alta qualidade devido aos altos teores de ferro (MOTA, 2001)

Em 2016, as exportações brasileiras de minerais totalizaram US \$ 21,6 bilhões, sendo o minério de ferro responsável por 66% desse valor. No mesmo ano, o setor de mineração gerou 663 mil empregos diretos (IBRAM, 2017).

A produção de minério de ferro no Brasil se desenvolve em minas a céu aberto (JESUS, 2014), metade dessas minas de grande porte situam-se nos estados de Minas Gerais, Pará e Mato Grosso do Sul (GERMANI, 2002; PINHEIRO, 2000).

A região que possui maior atividade de extração de minério de ferro do mundo abrange uma área de aproximadamente 7200 km<sup>2</sup> no estado de Minas Gerais e é denominada de Quadrilátero Ferrífero (CABRAL, 2006). Situa-se ao sul da Cadeia do Espinhaço e corta o estado no sentido Norte-Sul e seu relevo é caracterizado pela presença de mar de morro (SCHAEFER et al., 2015). Esse nome, Quadrilátero Ferrífero, é devido a localização espacial das terras altas, constituem um conjunto de cristas e superfícies erosivas soerguidas que possuem uma forma grosseiramente quadrangular que forma o entorno das terras baixas (VARAJÃO et al., 2009) e, também, pela composição do material de origem (itabiritos, dolomitos ferruginosos e rochas básico-ultrabásicas) (CARVALHO FILHO; CURI; SHINZATO, 2010). Os solos dessa região possuem características influenciadas pelo material de origem, como teores muito elevados de óxidos de ferro, pouco profundos e textura arenosa (CARVALHO FILHO; CURI; SHINZATO, 2010; CARVALHO FILHO et al., 2015).

## **2.2 Degradação pela mineração de ferro**

A degradação do ecossistema pode ser ocasionada de maneira natural ou pela intervenção antrópica, sendo essa última intensificada nos últimos anos. Tal fato tem causado

grande impacto negativo sobre os recursos naturais como, principalmente, degradação dos solos e poluição da água e do ar (OLIVEIRA; CRUZ, 2014).

O solo possui grande importância por ser o meio sob qual se mantém a vida na superfície terrestre. É nele que ocorrem os principais processos ecossistêmicos responsáveis pela manutenção da vida, destacam-se a decomposição de compostos orgânicos e a ciclagem dos elementos no sistema solo-planta-microrganismos (ESCOBAR et al., 2015; FINKENBEIN et al., 2013). Solos degradados perdem essa capacidade e, portanto, tornam-se um problema mundial, visto que envolve a redução dos recursos naturais, comprometem a qualidade do ar, da água e do solo e, assim podem gerar a diminuição da produção de alimentos.

A mineração é uma das atividades antrópicas que mais causam impactos negativos ao meio ambiente (poluição dos recursos hídricos, assoreamento, destruição da fauna e da flora, contaminação do solo e perda da biodiversidade) (BARRETO, 2001; SENGUPTA, 1993), assim afeta diretamente os atributos químicos, físicos e biológicos do solo que, muitas vezes, são de difícil mensuração (KELTING et al., 1999). No entanto, desde que realizada com responsabilidade e de maneira sustentável, é uma atividade de grande relevância para o desenvolvimento econômico e social dos países (FARIAS, 2002). Em Minas Gerais, no Quadrilátero Ferrífero é onde a mineração de ferro possui maior potencial de geração de impactos ambientais (PAULA et al., 1997).

Os impactos ambientais causados pela mineração são influenciados pela formação geológica do local de extração do minério de interesse, pelo tipo de lavra, pelo tipo de rejeito produzido e pela forma de estocagem do material (QUADROS et al., 2016; WAHSHA et al., 2017). Com isso, as principais implicações no ecossistema causadas pela atividade de mineração de ferro estão relacionadas com os resíduos gerados que são, particularmente, preocupantes devido às grandes quantidades produzidas e à presença de elementos tóxicos em alguns tipos de rejeito (GUERRA et al., 2017) e, também a interferência na diminuição da diversidade, em especial, de plantas e da microbiota, o que compromete o equilíbrio ecológico e a saúde humana (GOMES et al., 2017).

A legislação afirma que as áreas que passaram pela atividade de mineração devem retornar em condições estáveis e, para isso, devem ser reabilitadas (IBAMA, 1990). Dentre as estratégias utilizadas para reabilitação de áreas mineradas, a prática de revegetação com a utilização de espécies nativas e/ou exóticas é eficaz e de baixo custo (QUADROS et al., 2016). O primeiro passo no processo de reabilitação é a correção física e química da área impactada, e nesse processo pode-se utilizar produtos como os condicionadores de solo que atuam na

melhoria dos atributos químicos. Além disso, a recuperação da diversidade das comunidades microbianas do solo também é de suma importância para o processo de reabilitação de áreas degradadas (ESCOBAR et al., 2015; FAUCON; HOUBEN; LAMBERS, 2017).

### **2.3 Rompimento da barragem de Fundão**

A natureza do material determina a riqueza dos minérios de ferro que podem ser concentrados por diferentes formas: gravíticas, magnéticas ou flotação. A Samarco desde a década de 1970 utiliza a técnica de flotação catiônica reversa, técnica que necessita de alguns reagentes, como amido e as aminas, sendo esses tóxicos para o ecossistema (SILVA et al., 2015).

A partir do processo de mineração, são gerados resíduos (rejeitos, estéreis) que, em sua maioria, são armazenados em barragens. Essas barragens são construídas a montante com material grosseiro residual oriundo da atividade de mineração e, normalmente, em encostas íngremes (AZAM; LI, 2010; GUERRA et al., 2017). Elas são projetadas para durar por tempo indeterminado, entretanto devido ao material de construção, à dimensão da barragem, aos custos de manutenção, à falta de monitoramento e de regulamentação, a segurança das barragens de rejeitos é, atualmente, um desafio para a engenharia (AZAM; LI, 2010; RICO et al., 2008). Somente no estado de Minas Gerais, 40 represas são instáveis e em plena capacidade de uso (MEIRA et al., 2016). Portanto, devido a esses fatores mencionados anteriormente, nas últimas décadas há diversos relatos no mundo de desastres causados pelo rompimento de barragens, o que faz com que necessite de atenção para assegurar esse tipo de instalação.

A barragem de Fundão, pertencente à empresa Samarco S/A, encontrava-se localizada no município de Mariana-MG, foi, especificamente, construída para servir de depósito para os resíduos gerados durante o processo de mineração de ferro dessa região. No dia 05 de novembro de 2015, o dique de Fundão pertencente ao complexo de Germano entrou em colapso e rompeu-se, a partir disso liberou milhões de metros cúbicos de rejeitos de mineração para o meio ambiente, o que acarretou em várias consequências socioambientais de grande amplitude (ALMEIDA et al., 2018; GOMES et al., 2017; IBAMA, 2015). Dentre esses impactos, o Centro de Sensoriamento Remoto do IBAMA concluiu que a tragédia foi responsável pela destruição de “1.469 hectares ao longo de cursos d’água, incluindo Áreas de Preservação Permanente” (BRASIL, 2015). Conforme dispõe o artigo 3º, II do Novo Código Florestal - Lei nº 12.651/2012 - considera-se Área de Preservação Permanente - APP - a “área protegida, coberta

ou não por vegetação nativa, com a função ambiental de preservar os recursos hídricos, a paisagem, a estabilidade geológica e a biodiversidade, facilitar o fluxo gênico de fauna e flora, proteger o solo e assegurar o bem-estar das populações humanas” (BRASIL, 2012).

Relato semelhante de rompimento de barragem de rejeito de mineração aconteceu em Aznalcollar 1998, na Espanha, que liberou 2 milhões de m<sup>3</sup> de lama composta, principalmente, pelos elementos químicos Zn e As, o que resultou na morte de várias espécies aquáticas (DAVIES, 2002) e em outros países como no Chile, em 1985, onde a barragem de mineração de Cu rompeu-se e liberou aproximadamente 2 milhões de m<sup>3</sup> (RICO; BENITO; HERRERO, 1999).

No Brasil, existem registros históricos de outros desastres ambientais com barragens ou falha de pilha de rejeitos como, recentemente, o de Brumadinho-MG em 2019 que liberou aproximadamente 13 milhões de m<sup>3</sup>, entretanto nenhum deles teve a mesma dimensão em termos de áreas afetadas como o rompimento da barragem de Fundão que foi, portanto, um dos maiores desastres ambientais desse tipo no país (PORTAL BRASIL, 2015; ANA, 2016). A barragem continha 50 milhões de m<sup>3</sup> de rejeitos de ferro, dos quais 34 milhões de m<sup>3</sup> foram liberados no meio ambiente, o qual percorreu 663 km pelos corpos hídricos da bacia do Rio Doce em Minas Gerais até o estado do Espírito Santo (PORTAL BRASIL, 2015; IBAMA, 2015).

O rejeito liberado após o rompimento da barragem provocou impactos negativos, dentre eles: na água, tanto na qualidade quanto em sua disponibilidade, na vegetação, fertilidade e microbiota do solo por onde a lama de rejeito percorreu (AIRES et al., 2018). Esses impactos foram ocasionados pelo acúmulo de sedimentos e, além disso, pela toxicidade do material, particularmente, devido à presença de aminas (éter mono-amina e éter di-amina) que, também, são responsáveis pela elevação do pH do material (GUERRA et al., 2017; SEGURA et al., 2016; SILVA et al., 2015) além dos danos causados à população humana, principalmente, quanto ao uso da água, como impedimento de geração de energia elétrica, uso industrial, lazer e pesca que também foram prejudicados (ANA, 2016).

A caracterização química desse rejeito apresenta compostos inorgânicos, como Ba, Pb, As, Fe, Sr, Mn, e Al com alto potencial de lixiviação na coluna d'água e alta concentração, especialmente, de Fe, Mn, Zn e Ni nos sedimentos (SEGURA et al., 2016).

Esse rejeito oriundo da mineração de Fe do município de Mariana – MG possui característica textural silto-arenosa e predominância de minerais de quartzo (SiO<sub>2</sub>) e hematita (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) em sua composição (ALMEIDA et al., 2018). Desse modo, pode haver alta

disponibilidade de elementos químicos em solução para as plantas em desenvolvimento nesse substrato. Como é sabido, o pH dos solos e de materiais como o rejeito de mineração também influencia na disponibilidade de elementos para as plantas e, como consequência, pode intervir negativamente no desenvolvimento das mesmas.

Visando a reabilitação das áreas onde foram depositados o rejeito oriundo da barragem de Fundão, a revegetação é o primeiro passo e o uso de condicionadores de solo pode auxiliar nesse processo.

## **2.4 Condicionadores de solo**

O uso de condicionadores de solo possui como principal objetivo melhorar as condições físicas e, como consequência, químicas e biológicas de solos (XU et al., 2018). É uma alternativa para aumentar a retenção de água e nutrientes de forma indireta (FORJÁN et al., 2017). O conceito de condicionadores envolve a aplicação de materiais que modificam de forma favorável as características dos solos. Esses materiais podem ser orgânicos ou inorgânicos e até sintéticos industrializados, como escórias siderúrgicas. Pode -se destacar o biochar, carvão, esterco, compostos orgânicos, gesso agrícola e enxofre elementar, entre os mais comuns condicionadores do solo que podem ser utilizados.

O Biochar pode ser designado a qualquer material rico em Carbono (C) obtido por meio da biomassa carbonizada sob baixa concentração de oxigênio. O uso de biochar para a finalidade de condicionadores de solo promovem aumento do estoque de carbono e retenção de metais (XU et al., 2018), aumento da capacidade de retenção de água e nutrientes de forma indireta (FORJÁN et al., 2017) e melhoria no habitat microbiano (MOORE et al., 2018).

A utilização do biochar pode contribuir para mudanças significativas nas propriedades físicas do solo, como estrutura, porosidade, diâmetro dos poros, distribuição granulométrica e densidade (DOWNIE et al., 2007).

O biochar no solo possui maior tempo de residência de C quando comparado a biomassa não carbonizada (carvão), portanto pode resultar em uma retirada líquida e CO<sub>2</sub> atmosférico mais eficiente (LEHMANN, 2007b). Além disso, o biochar melhora a eficiência do uso de fertilizante e de calcário (LEHMANN, 2003).

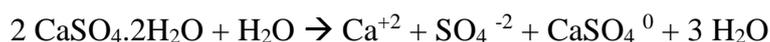
A aplicação de biochar no solo ao longo do ciclo do milho resultou em aumentos de 2,7 vezes o teor de carbono total no solo em relação ao tratamento sem aplicação de biochar, além do aumento em 17% na produção de massa seca do milho (MAIA; SOHI, 2010).

Vários estudos com carvão confirmam seu potencial na melhoria das propriedades físicas químicas e biológicas do solo. Major et al. (2005) verificaram que a adição carvão aumentou a biomassa de plantas de arroz em 53%. Liang et al. (2014) observou redução na respiração e aumento no C-biomassa microbiana e, conseqüentemente, aumento na eficiência metabólica dos microrganismos com aplicação de carvão ao solo.

Já o carvão pode aumentar a capacidade de retenção de água devido a sua porosidade e à grande superfície específica, principalmente, em solos de textura arenosa (GLASER LEHMANN; ZECH, et al., 2002). Desse modo, essas alterações ocasionadas nas propriedades físicas do solo podem influenciar em mudanças nas propriedades químicas e biológicas em função do surgimento de sítios reativos e habitats de proteção para os microrganismos no solo (BRADY; WEIL, 2008). O carvão apresenta-se como um bom material para o alcance de um solo segundo o modelo Terras Pretas de Índios (TPI), pois apresenta grupos aromáticos condensados que garantem a sua resistência à degradação química, ou recalcitrância, sendo potencialmente um eficiente material para sequestro de carbono.

Vários estudos avaliaram o uso de gesso como condicionantes de solo. O uso do gesso pode melhorar a estrutura do solo, fornece o enxofre e o cálcio às camadas mais profundas do solo, portanto reduz a saturação por  $Al^{+3}$  tóxico as plantas e contribui para o aprofundamento do sistema radicular, assim, aumenta a absorção de água e nutrientes (MELO; SILVA, 2013).

Na solução do solo, o gesso sofre dissociação liberando os íons  $Ca^{+2}$  e  $SO_4^{-2}$  que participam de trocas iônicas:



Observaram aumento nos teores de  $Ca^{+2}$  e redistribuição de  $Mg^{+2}$  nas camadas de 0,10 - 0,20 m e 0,20 - 0,40 m no solo e diminuição nos teores de  $Al^{+3}$  na camada de 0,20 - 0,40 m. O gesso aumentou a produtividade de grãos de milho e de soja com resposta até a dose de 2.000 kg ha<sup>-1</sup> com incrementos de 9,3%, para o milho, e 11,4% e 11,3%, respectivamente, com e sem calcário, para a soja (ZANDONA et al., 2015)

Silva et al. (2013) utilizaram doses crescentes de gesso agrícola para verificar a estabilidade de agregados e carbono orgânico em Latossolo do Cerrado sob cafeicultura, verificaram que o carbono orgânico total do solo correlacionou positiva e significativamente com a agregação do solo e que as doses elevadas de gesso alteraram positivamente a agregação do solo em 0,15 m de profundidade.

Quando considera a baixa carga de Ca e Mg e elevados teores de Mn, o uso de gesso pode auxiliar no crescimento de plantas, no entanto não há relato do uso de gesso em rejeito de mineração de Fe.

O enxofre elementar ( $S^0$ ) é usualmente utilizado como corretivo de solo, pois possui como característica principal a redução do pH em solos alcalinos por meio da oxidação pelos microrganismos que são responsáveis pela formação de ácido sulfúrico e, posteriormente, liberação de íons de hidrogênio na solução do solo (HEYDARNEZHAD et al., 2012), principalmente, as bactérias do gênero *Thiobacillus* são responsáveis por esse processo (HEYDARNEZHAD et al., 2012). Orman e Kaplan (2011) afirmam que além dos microrganismos, fatores como a umidade, aeração, temperatura e o teor de matéria orgânica também influenciam esse processo.

A oxidação do S elementar ocorre em temperaturas entre 4 e 45°C, sendo o ideal entre 25 e 40°C. Baixos teores de umidade limitam a atividade microbiana além de reduzirem a acessibilidade às partículas de  $S^0$  e altos teores de umidade também não são favoráveis, pois reduzem a oxidação pela baixa aeração. Maiores teores de matéria orgânica favorecem o processo de oxidação, pois são fontes de energia para os microrganismos (HEYDARNEZHAD et al., 2012).

Trabalhos evidenciam a eficiência do enxofre elementar em reduzir o pH de substratos orgânicos, no entanto acarretam no aumento de condutividade elétrica (BOARO et al., 2014). De fato, o rejeito apresenta elevado pH e a utilização desse condicionador pode favorecer a redução do pH e, assim, auxiliar no crescimento da planta.

## 2.5 Fungos Micorrízicos Arbusculares

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) são microssimbiontes biotróficos obrigatórios, ou seja, dependem de um hospedeiro vivo compatível para se desenvolverem e, assim, completarem seu ciclo de vida (JOHANSSON et al., 2004).

Os FMAs são organismos eucariotos pertencentes ao filo Glomeromycota na ordem Glomales. De acordo com Simon et al. (1993), estima-se que a simbiose mutualística entre esses fungos e raízes de planta denominada de micorriza arbuscular (MA) seja uma das mais antigas, sendo o tipo mais comum de associação entre fungos e raízes de plantas vasculares (SMITH; READ, 1997).

A partir da exsudação pelas raízes, na rizosfera, de fitormônios tais como auxina e estrigolactonas (HAICHAR et al., 2014), ocorre a sinalização e o estímulo para a associação micorrízica (HAICHAR et al., 2014). Durante a formação da simbiose mutualística, ou seja, em que os dois simbiontes se beneficiam, o fungo penetra nas paredes das células corticais da raiz e forma estruturas especializadas chamadas de apressórios, sem penetrar nos tecidos vasculares. Dentro das raízes há o surgimento de estruturas chamadas de arbúsculos e vesículas, local onde ocorre a troca de nutrientes e estrutura de reserva do fungo, respectivamente (SIQUEIRA et al., 2010). Desse modo, a planta serve de ambiente para o crescimento do fungo e possui a capacidade de supri-lo quanto à necessidade de energia por meio do fornecimento de carbono (SIQUEIRA et al. 2010). Em contrapartida, o fungo provê a planta e o solo com vários serviços. Dentre estes serviços, não o mais importante e sim o mais evidente, é realizado pelo micélio extrarradicular. Por meio desse, o fungo possibilita um aumento na área de exploração das raízes e, assim, um aumento na absorção e translocação de água e nutrientes pouco móveis ou imóveis no solo, em especial, o fósforo (MIYASAKA; HABTE, 2001).

Quanto aos benefícios proporcionados ao solo, os FMAs impõem estabilidade de agregados (BARBOSA et al., 2019). Isso ocorre devido ao enovelamento pelas hifas de partículas do solo e, também, pela ação de uma glicoproteína produzida pelos próprios FMAs, denominada de glomalina (RILLING; MUMMEY, 2006). Os FMA contribuem também para o acúmulo de carbono e biomassa microbiana em solos (OLSSON; WILHELMSSON, 2000; RILLING et al., 2001).

Estudos relacionados à diversidade de espécies e de funções de FMAs são importantes, principalmente, para o aspecto tecnológico, ou seja, desenvolvimento de biotecnologias ligadas ao emprego desses em áreas degradadas dentre outras aplicações. A importância dos FMAs na recuperação de áreas degradadas e para uso eficiente do fósforo é amplamente aceita pela comunidade científica (BERBARA et al., 2006; DE SOUZA; DA SILVA, 1996; SMITH; READ, 1997). Os FMAs possuem ocorrência abundante em solos contaminados (STÜRMER; SIQUEIRA, 2006), isso é, relevante pois auxiliam o desenvolvimento das plantas que possuem limitação devido ao solo degradado ou contaminado. Schneider et al. (2013) constatou alguns gêneros de FMAs mais representativos em áreas de mineração de ouro contaminadas por As, como *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Glomus*, *Gigaspora* e *Paraglomus* e, dentre eles, *Paraglomus occultum*, *Acaulospora morrowiae* e *Glomus clarum*, como as espécies mais tolerantes. Já em áreas de mineração contaminadas por Cd, González-Cháves et al. (2004) encontraram plantas com hifas e arbúsculos além de esporos de FMAs, principalmente, dos

gêneros *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora* e *Acaulospora*. Em solos contaminados por Mn, os gêneros mais encontrados foram *Glomus* e *Rhizophagus*, os quais proporcionaram melhor desenvolvimento para as plantas de *Phytolacca americana* (WEI et al., 2014). Além da contribuição relacionada ao crescimento de plantas, os FMAs podem imobilizar elementos traços em sua biomassa como verificado por Cabral et al. (2010), em que o *Glomus clarum* e *Gigaspora gigantea* possuem rápida capacidade de retenção de metais em seus micélios em áreas contaminadas por Cu, Zn, Cd e Pb.

## 2.6 Sinergia entre FMAs e a microbiota do solo

O solo é um habitat que abriga diferentes macro e microrganismos em um grama de solo com elevada diversidade e densidade de microrganismos em ambientes não degradados (SCHLOSS; HANDELSMAN, 2006). Estima-se que há uma ocorrência  $10^9$  células  $g^{-1}$  de solo (CANNAVAN, 2011), principalmente, na rizosfera, zona de influência das raízes, logo uma área rica em compostos favoráveis para os microrganismos e, por consequência, uma região de alta atividade biológica (PHILLIPPOT et al., 2013).

Fatores ambientais como bióticos (ex.: relações ecológicas) e abióticos (ex.: disponibilidade de nutrientes, pH), atuam na estruturação e no estabelecimento de comunidades microbianas, o que define essa diversidade e densidade na rizosfera e no solo de modo geral (HARDOIM et al., 2008; REDFORD et al., 2010).

Efeitos benéficos podem ser atribuídos à diversidade de microrganismos presentes no solo, em que esses atuam de forma conjunta sobre processos bioquímicos do solo como: a decomposição da matéria orgânica, imobilização e mineralização dos nutrientes fornecidos às plantas, transformações químicas, produção de fitormônios e sideróforos, dentre outros (BRAZ, 2011; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A espécie vegetal, de acordo com seu genótipo, estágio fisiológico, alterações nas condições ambientais e manejo adotados, assim como a interação entre microrganismos do solo, diferenciam os componentes da rizosfera igualmente a estruturação da microbiota.

De acordo com o tipo de manejo que a área recebe, sabe-se que na rizosfera da maioria das plantas pode ocorrer um sinergismo entre FMAs e bactérias (ARTURSSON et al., 2006). Geralmente, essa interação ocorre com bactérias saprófitas ou simbióticas, e pode ou não ser prejudicial à planta (BAREA et al., 2002). Pelo fato dos FMAs não serem cultivados em meio

de cultura, devido sua característica biotrófica obrigatória, muito ainda não se sabe sobre os benefícios que eles podem proporcionar às plantas e aos demais microrganismos.

*Mycorrhiza Helper Bacteria* - *MHB* é o termo em inglês denominado aos grupos bacterianos que possuem papel de efeito benéfico no estabelecimento da micorrização (GARBAYE, 1994; GRYNDLER et al., 2000). Desse modo, devido à liberação de compostos por essas bactérias, ocorre aumento na permeabilidade das raízes das plantas pelos FMAs e, conseqüentemente, facilita a colonização, e, também, podem favorecer a germinação de esporos de FMAs (VIVAS et al., 2003; XAVIER; GERMIDA, 2003).

A fisiologia dos FMAs pode ser regulada por bactérias que se encontram próximas aos fungos, isso pode ser explicado pelo fato da descoberta da coexistência de endobactérias dentro de esporos de determinadas espécies de FMAs (DESIRÓ et al., 2014). Outros estudos também mencionam a presença de espécies bacterianas, como *Burkholderia*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* em esporos de algumas espécies de FMA (BHARADWAJ et al., 2008). Em contrapartida, outras espécies de bactérias podem inibir a germinação (CARPENTER-BOGGS et al., 1995) ou, até mesmo, ocorrer a relação de parasitismo de esporos de FMA (JEFFRIES, 1997).

De acordo com Nogueira e Cardoso (2002), plantas micorrizadas e cultivadas em comunidade microbiana reestabelecida apresentam maior crescimento e os efeitos da toxidez por Mn são reduzidos.

Um efeito indireto é a competição entre FMAs e patógenos do solo pelo mesmo sítio de infecção ou até mesmo pela competição nutricional (ABDALLA; ABDEL-FATTAH, 2000; CARDOSO; KUYPER, 2006). Estudos comprovam que essa competição confere resistência a determinadas espécies vegetais aos microrganismos patogênicos como, por exemplo, maior acúmulo de massa vegetal e menor incidências de fungos patogênicos em plantas de amendoim inoculadas com FMAs (ABDALLA; ABDEL-FATTAH, 2000).

Quando há presença de FMAs, pode haver variação do número de espécies bacterianas devido à exsudação da raiz ou das hifas (GARBAYE, 1991; ANDRADE et al., 1997).

A utilização de espécies de leguminosas arbóreas associadas às bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares é uma forma de superar as deficiências de nitrogênio e fósforo em áreas degradadas (FRANCO et al., 1992). Segundo Azevedo (2010), os FMA aumentam as taxas de fósforo, elemento requerido em grandes quantidades no processo de Fixação Biológica de Nitrogênio.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, M. E.; ABDEL-FATTAH, G. M. Influence of the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the development of peanut pod rot disease in Egypt. **Mycorrhiza**, v. 10, n. 1, p. 29-35, June, 2000.
- AIRES, U. R. V. et al. Changes in land use and land cover as a result of the failure of a mining tailings dam in Mariana, MG, Brazil. **Land Use Policy**. Amsterdam, v. 70, p. 63–70, 2018.
- ALMEIDA, C. A. et al. Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin e Brazil. **Chemosphere**, v. 209, p. 411–420, 2018.
- ANA - AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS. Relatório de Segurança de Barragens 2014. Brasília: Agência Nacional de Águas. Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos – **SPR. Brasília/DF**, 2015.
- ANA - AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Bacia do Rio Doce - Rompimento da Barragem em Mariana/MG, Conjuntura dos Recursos Hídricos do Brasil, 2016.
- ANDRADE, G. et al. Bacteria from the rizhosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, London, v. 192, p. 71-79, 1997.
- ARAÚJO, J. L. et al. Enxofre elementar ou sulfato de cálcio para remediação de solos salino-sódicos?. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 4, p. 388–396, 2015.
- ARTURSSON, V.; FINLAY, R. D.; JANSSON, J. K. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 8, p. 1-10, 2006.
- AZAM, S; LI, Q. Tailings Dam Failures: A Review of the Last One Hundred Years. **Geotechnical News**, p. 50-53, 2010.
- AZEVEDO, J. M. A. **Variabilidade genética entre acessos de Amendoim Forrageiro quanto à associação micorrízica e resposta ao fósforo**. 2010. 156 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Acre, 2010.
- BARBOSA, M. V. et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and *Urochloa brizantha*: symbiosis and spore multiplication. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, Aug, 2019.
- BAREA, J. M.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 81, p. 343–351, 2002.
- BARRETO, M. L. Mineração e desenvolvimento sustentável: desafios para o Brasil. **CEFETEM/MCT**, Brasil, p. 215, 2001.
- BATISTA, B. L. Potential risks of the residue from Samarco’s mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollut**, v. 218, p. 813–825, 2016.

BERBARA, R. L. L.; DE SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. C. Fungos Micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. In: Nutrição Mineral de Plantas (M. S. Fernandes, ed.), **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, Brasil, p. 53-88, 2006.

BHARADWAJ, D. P. et al. Evidence for specificity of cultivable bacteria associated with arbuscular mycorrhizal fungal spores. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 65, p. 310–322, 2008.

BILOTTA, G. S.; BRAZIER, R. E. Understanding the Influence of Suspended Solids on Water Quality and Aquatic Biota. **Water Research**, v. 42, p. 2849-2861, 2008.

BOARO, V. et al. Enxofre elementar no manejo do pH de substrato orgânico alcalino. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 12, p. 1610-1614, 2014.

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **The nature and properties of soils**. 14th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2008.

BRASIL. Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais. In: **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA**. Minas Gerais, 2015.

BRASIL - Lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012. Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa e dá outras providências. In: **Diário Oficial da União**. Brasília, 2012.

BRAZ, R.R. **Estímulo da solubilização de fosfato resultante da co-inoculação de *Aspergillus niger* e *Burkholderia cepacia***. 2011. 80 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2011.

BRITO, O. R.; VENDRAME, P. R. S.; BRITO, R. M. Chemical properties changes of a typical clayey oxisol submitted to different treatments of organic residues. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 33–40, 2005.

CABRAL, E. R., Institucionalização da questão ambiental e exploração mineral do Pará e Minas Gerais: Valorização da natureza e inversão da imagem da mineração? **Revista Iberoamericana de Economia Ecológica**, v. 5, p. 27-45, 2006.

CABRAL, Lucélia et al. Retenção de metais pesados em micélio de fungos micorrízicos arbusculares. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 25-29, 2010.

CANNAVAN, F. S. **A estrutura e composição de comunidades microbianas (Bacteria e Archaea) em fragmentos de carvão pirogênico de Terra Preta de Índio da Amazônia Central**. 2011. 138 p. Tese (Doutorado em Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba 2011.

CARDOSO, I. M.; KUYPER, T. W. Mycorrhizas and tropical soil fertility. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 116, p. 72-84, 2006.

CARPENTER-BOGGS, L.; LOYNACHAN, T. E.; STAHL, P. D. Spore germination of *Gigaspora margarita* stimulated by volatiles of soil-isolated actinomycetes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, p. 1445–1451, 1995.

CARVALHO FILHO, A.; CURI, N.; SHINZATO, E. Relações solo-paisagem no Quadrilátero Ferrífero em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p. 903-916, 2010.

CARVALHO FILHO, A. et al. Iron oxides in soils of different lithological origins in Ferriferous Quadrilateral (Minas Gerais, Brazil). **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 118, p. 1–7. 2015.

DARDENNE, M. A.; SCHOBENHAUS, C. **Metalogênese do Brasil**, Ed. UnB, Brasília-DF, 2001.

DAVIES, M. P. Tailings Impoundment Failures: Are Geotechnical Engineers Listening?. **Geotechnical News**, p. 31 -36, 2002.

DE SOUZA, F. A.; DA SILVA, E. M. R. Micorrizas Arbusculares na Recuperação de áreas degradadas. In: *Avanços e Aplicações na pesquisa com Micorrizas* (J. O. Siqueira, ed.), **DCS-DCF**, Editora UFLA, Lavras, Brasil, p. 255-290, 1996.

DESIRÓ, A. Detection of novel intracellular microbiome hosted in arbuscular mycorrhizal fungi. **ISME Journal**, New York, v. 8, p. 257– 270, 2014.

DOWNIE, A.; CROSKY, A.; MUNROE, P.; Physical properties of biochar. In: E. W. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. **ISME Journal**, New York, v. 1, n. 4, p. 283-290, 2007.

ESCOBAR, I. E. C. et al. Changes in Microbial Community Structure and Soil Biological Properties in Mined Dune Areas During Re-vegetation. **Environmental Management**, v. 55, p. 1433–1445, 2015.

FARIAS, C. E. G. Mineração e Meio Ambiente no Brasil. Relatório Preparado para o **CGEE – PNUD**, Contrato 2002/001604. Outubro, 2002.

FAUCON, M.; HOUBEN, D.; LAMBERS, H. Plant Functional Traits: Soil and Ecosystem Services. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 5, 2017.

FILLIPPOV, L. O.; V. V. SEVEROV; I. V. FILIPPOVA. An overview of the beneficiation of iron ores via reverse cationic flotation. **International Journal of Mineral Processing**, v.127, Mar., 2014.

FINKENBEIN, P. et al. Soil enzyme activities as bioindicators for substrate quality in revegetation of a subtropical coal mining dump. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 56, p. 87–89, Jan, 2013.

FORJÁN, A. RODRÍGUEZ-VILA, B. CERQUEIRA, E. F. COVELO. Comparison of the effects of compost versus compost and biochar on the recovery of a mine soil by improving the nutrient content. **Journal of Geochemical Exploration**, n. 83, p. 46-57, 2017.

FRANCO, A. A. Revegetação de solos degradados. **Embrapa-CNPS**, Seropédica, p. 8, 1992.

GARBAYE, J. Biological interactions in the mycorrhizosphere. **Experientia**, Berlin, v. 47, p. 370–375, 1991.

GARBAYE, J. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. **New Phytologist**, Hoboken, v. 128, p. 197–210, 1994.

GERMANI, D. J. A mineração do Brasil: Relatório Final. **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos**, Rio de Janeiro, p.79, 2002.

GLASER, B.; LEHMANN, J.; ZECH, W. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal - review. *Biology and Fertility of Soil*, v. 35, p. 219-230, June, 2002.

GOMES, L. E. O. et al. The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, [S.I.], v. 120, p. 28–36, 2017.

GONZALEZ-CHAVEZ, M. et al. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollut**, v. 3, n. 130, p. 317–323, 2004.

GRYNDLER, M.; HRSELOVÁ, H.; STRÍTESKÁ, D. Effect of soil bacteria on growth of hyphae of the arbuscular mycorrhizal (AM) fungus *Glomus claroideum*. **Folia Microbiology**, Dordrecht, v. 45, p. 545–551, 2000.

GUERRA, M.B.B. et al. Post-catastrophe analysis of the *Fundão* tailings dam failure in the Doce River system, southeast Brazil: potentially toxic elements in affected soils. **Water Air Soil Pollut**, p. 228, 2017.

GUEVARA, Y. Z. C. et al. Reference values of soil quality for the Rio Doce Basin. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 42, p. 1–16, 2018.

HAICHAR, F. Z. Root exudates mediated interactions belowground. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 77, p. 69-80, oct, 2014.

HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; VAN ELSAS, J. D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends Microbiology**, Oxford, v. 16, p. 463–471, 2008.

HEYDARNEZHAD, F. et al. Influence of elemental sulfur and sulfur oxidizing bacteria on some nutrient deficiency in calcareous soils. **International Journal of Agriculture and Crop Science**, London, v. 4, n. 12, p. 735-739, 2012.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Lauda técnico preliminar. Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais**, novembro, 2015.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Manual de recuperação de áreas degradadas pela mineração**, Brasília, p. 96, 1990.

JEFFRIES, P. Mycoparasitism. In: *The Mycota IV* (WICKLO, D. T.; SODERTROM, B. E., ed.), p. 149-164. **Environmental and microbial relationships**. Springer, Berlin Heidelberg, New York, 1997.

JESUS, C. A. G. Ferro/Aço. In: *Economia mineral do Brasil-2009*. **Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM)**, 2014.

JOHANSSON, J. F.; PAUL, L. R.; FINLAY, R. D.; Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 48, p. 1-13, 2004.

KELTING, D. L.; BURGER, J. A.; PATTERSON, S. C. Soil quality assessment in domesticated forests – a southern pine example. **Forest Ecology and Management**, 1999.

KLAUBERG-FILHO, O. et al. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. In: P. VIDAL-TORRADO, L.R.F. ALLEONI, M. COOPER, A.P. SILVA E E.J. CARDOSO (eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, UFV - Viçosa, p. 85-144, 2005.

LEHMANN, J. Bio-energy in the black. **Frontiers in Ecology and the Environment**, New York, v. 5, p. 381-387, 2007b.

LEHMANN, J. et al. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. **Plant and Soil**, v. 249, p. 343-357, 2003.

MAIA, C. M. B. F.; SOHI, S. P. The effect of biochar on soil-carbon stabilization in a highly SOM depleted soil. 3 rd IBI Meeting. **Proceedings**, Rio de Janeiro, 2010.

MAJOR, J. et al. Weed composition and cover after three years of soil fertility management in the central Brazilian Amazon: Compost, fertilizer, manure and charcoal applications. **Weed Biology and Management**, v. 5, p. 69-76, June, 2005.

MEIRA, R. M. S. A., A. L. et al. Brazil's mining code under attack: giant mining companies impose unprecedented risk to biodiversity. **Biodiversity and Conservation**, v. 25, p. 407–409, 2016.

MELO, R. A. A.; SILVA, D. G. Estudo da viabilidade do uso do fosfogesso como matéria prima na produção de materiais cerâmicos. **E-xacta**, Belo Horizonte, v. 6, n. 2, p. 13-31, 2013.

MIYASAKA, S. C.; HABTE, M. Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, p. 1101-1147, 2001.

MOORE, F. at al. Copper immobilization by biochar and microbial community abundance in metalcontaminated soils. **Science of the Total Environment**, p. 616–617, p. 960–969, 2018.

MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia Bioquímica do Solo**, 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, 2006.

MOTA, J. A. O valor da natureza: economia e política dos recursos naturais. **Garamond**, Brasil, p. 198, 2001.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Interações microbianas na disponibilidade e absorção de manganês por soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1605-1612, 2002.

OLIVEIRA, L.S.; CRUZ, M.L.B. Vetores de pressão sobre a Unidade de Conservação de Proteção Integral: a Estação Ecológica de Aiuaba, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 07, n. 6, p. 1126-1132, 2014.

OLSSON, P. A.; WILHELMSSON, P. The growth of external AM fungi mycelium in sand dunes and in experimental systems. **Plant and Soil**, v. 226, 161-169, 2000.

ORMAN, S; KAPLAN, M. Effects os elemental sulfurand and farmyard manure on pH and salinity os calcareous Sandy loam soil and some nutriente elements in tomato plant. **Journal os Agricultural Science and Technology**, v. 5, p. 20-26, 2011.

PAULA, J. A. et al. Biodiversidade, população e economia: uma região de Mata Atlântica, **UFMG/Cedplar**, Belo Horizonte, Brasil p. 1-24, 1997.

PHILLIPPOT, L. et al. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 11, p. 789-799, 2013.

PINHEIRO, J. C. F. **A mineração brasileira de ferro e a reestruturação do setor siderúrgico**. 2000. Tese (Doutorado) - Instituto de Geociências, Universidade estadual de Campinas, 2000.

PORTAL BRASIL. **Entenda o acidente de Mariana e suas consequências para o meio ambiente**. Brasília, 23 dez., 2015.

QUADROS, P. D. et al. Coal mining practices reduce the microbial biomass, richness and diversity of soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 98, p. 195–203, 2016.

REDFORD, A. J. et al. The ecology of the phyllosphere: geographic and phylogenetic variability in the distribution of bacteria on tree leaves. **Environmental Microbiology**, Hoboken, v. 12, p. 2885–2893, 2010.

RICO, M.; BENITO, G.; DÍEZ-HERRERO, A. Floods from tailings dam failures. **Journal of Hazardous Materials**, v. 154, n. 1–3, p. 79-87, 1999.

RICO, M. et al. Reported tailings dam failures: the european incidents in the worldwide context. **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, p. 846-852, April, 2008.

RILLING, M. C.; MUMMEY, D. L. Mycorrhizas and soil structure. **New Phytologist**, v. 171, p. 41-53, 2006.

RILLING, M. C. et al. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soil. **Plant and Soil**, v. 233, p. 167-177, 2001.

Schaefer, C. Solos desenvolvidos sobre Canga Ferruginosa no Brasil: uma revisão crítica e papel ecológico de termiteiros. In: Flávio Fonseca do Carmo, Luciana Hiromi Yoshino Kamino. (Org.). **Geossistemas Ferruginosos do Brasil**. Ed. Belo Horizonte: p. 77-102, 2015.

SCHLOSS, P.D.; HANDELSMAN, J. Introducing TreeClimber, a tool for phylogeny of microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 2379-2384, 2006.

SCHNEIDER, J. et al. Anatomy and ultrastructure alterations of *Leucaena leucocephala* (Lam.) inoculated with mycorrhizal fungi in response to arsenic-contaminated soil, **Journal Hazard Materials**, v. 262, n.15, p.1245-1258, Oct., 2013.

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

SENGUPTA, M. Environmental impacts of mining: monitoring, restoration, and control. **Boca Raton**, Lewis, p. 494, 1993.

SILVA, D. L. da; FERREIRA, M. C.; SCOTTI, M. R. O maior desastre ambiental brasileiro: de Mariana (MG) a Regência (ES). **Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico/UFMG**, Belo Horizonte, v. 24, n. 1/2, 2015.

SILVA, L. F. O. et al. Study of environmental pollution and mineralogical characterization of sediment rivers from Brazilian coal 88 minings acid drainage. **Science of the Total Environment**, v. 447, n. 1, p. 169-178, mar., 2013.

SILVA, W. M. **Aplicação de biochar de resíduos de café em Neossolo Regolítico: efeitos nas características químicas e biológicas e na produção de milho e feijão**. 2016. 57 p. Dissertação (Mestrado em Produção Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2016.

SIMON, L et al. Origen and Diversification of Endomycorrhizal and Coincidence with Vascular Land Plants. **Nature**, v. 363, p. 67-69, 1993.

SIQUEIRA, J.O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**, Editora UFLA, Lavras, p. 716, 2010.

SIQUEIRA, J. O. et al. Micorrizas e a degradação do solo: Caracterização, efeitos e ação recuperadora. **Tópicos em ciências do solo**, Viçosa: UFV, v. V, p. 219-306, 2007.

SMITH, S. E.; READ, D. J. Mycorrhizal Symbiosis, 2. Ed. **Academic Press**, London, UK, 1997.

SOARES, C.R.F.S; CARNEIRO, M. A. C. Micorrizas arbusculares na recuperação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B; TSAI. S. M. (Org.). **Micorrizas 30 anos de Pesquisa no Brasil**. Lavras: Ed. UFLA, v. 1, p. 475-501, 2010.

STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. E BRUSSAARD, L. **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Oxfordshire, CABI, p.206-236, 2006.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Biblioteca Universitária. Manual de normalização e estrutura de trabalhos acadêmicos: TCCs, monografias, dissertações e teses. 2. ed. rev., atual. e ampl. Lavras, 2016.

VARAJÃO, A. F. D. C. et al. Estudo da evolução da paisagem do Quadrilátero Ferrífero (Minas Gerais, Brasil) por meio da mensuração das taxas de erosão ( $^{10}\text{Be}$ ) e da pedogênese. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 5, p. 1409–1425, 2009.

VIVAS, A. et al. Influence of bacterial strains isolated from lead-polluted soil and their interactions with arbuscular mycorrhizae on the growth of *Trifolium pratense* L. under lead toxicity. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 49, p. 577–588, 2003.

WAHSHA, M. et al. Microbial enzymes as an early warning management tool for monitoring mining site soils. **Catena**, v. 148, p. 40–45, 2017.

WEI, Y. et al. Molecular diversity of arbuscular micorrhizal fungi associated with a Mn hyperaccumulator – *Phytolacca americana*, in Mn mining area. **Applied Soil Ecology**, v. 82, n. 4, p. 11-17, may., 2014.

XAVIER, L. J. C.; GEMIDA, J. J. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 471–478, 2003.

XU, Y. et al. Biochar modulates heavy metal toxicity and improves microbial carbon use efficiency in soil. **Science of the Total Environment**, v. 621, p. 148–159, 2018.

ZANDONA, RENAN RICARDO et al. Gesso e calcário aumentam a produtividade e amenizam o efeito do déficit hídrico em milho e soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 2, p. 128-137, June., 2015.

ZENG, G. et al. Efficiency of biochar and compost (or composting) combined amendments for reducing Cd, Cu, Zn and Pb bioavailability, mobility and ecological risk in wetland soil. **RSC Advances**, v. 5, n. 44, p. 34541–34548, 2015.

## SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

**ARTIGO 1** - Chemical attributes of iron ore tailings after application of soil conditioners and development of *Urochloa brizantha*

Artigo submetido na revista Integrated Environmental Assessment and Management

Chemical attributes of iron ore tailings after application of soil conditioners and development  
of *Urochloa brizantha*

Flávia Romam da Costa Souza<sup>1</sup>, Flávio Araújo Pinto<sup>1</sup>, Aline Oliveira Silva<sup>1</sup>, Marisângela  
Viana Bardosa<sup>1</sup>, Alexandre Carvalho Ribeiro Júnior<sup>1</sup>, Marco Aurélio Carbone Carneiro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Setor de Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, Departamento de Ciência  
do Solo, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras - MG, Brasil.

\*Corresponding author

E-mail address: [marcocarbone@ufla.br](mailto:marcocarbone@ufla.br)

Phone number: +55 35 2142-2051

**Abstract:** The iron ore tailings from the Fundão dam (Mariana, MG, Brazil) deposited on the banks of the Gualaxo do Norte River, presents a complex chemical composition, with high values of pH and total heavy metal contents (Fe, Mn, Zn, Ni, Cr, Cu, Pb, and Co), but low bioavailable of elements, what makes difficult the growth of plants and rehabilitation of impacted areas. In this purpose, the use of chemical and organic soil conditioners can alter these characteristics of the waste making it suitable for plant growth. Therefore, the objective of this study was to evaluate the use of different soil conditioners applied in the Technosoil formed by the iron mining tailing in the initial growth of *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf. The experiment was conducted in a greenhouse in pots with 2 kg of tailing, in a completely randomized experimental design, with five replicates. The treatments consisted of: Control (reject only), Biochar, Charcoal, Bovine manure; Organic compost (chicken manure and tanned coffee husk); agricultural gypsum and Elemental sulfur. After the 25-day incubation period, eight *Urochloa brizantha* seeds were sown per potting and cultivated for 60 days. The evaluations were: shoot dry mass (SDM), roots (RDM) and total dry mass (TDM), accumulation of elements in the plant (P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn, Cr e Ni) and of the Technosoil (P, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, e Pb) after cultivation of *Urochloa brizantha*. The application of Gypsum and Sulfur provided the highest SDM, RDM and increment in the accumulation of chemical elements in relation to the other conditioners, however, were similar to Control, which indicates that the Technosoil has no negative effect on plant growth. The application of Charcoal, Organic compost and Bovine manure provided increases in the pH. The conditioners used were not efficient in altering the physico-chemical characteristics of the Technosoil and in promoting the growth of *Urochloa brizantha*.

**Keywords:** Gypsum; Organic compost; Biochar; Charcoal.

## **Introduction**

The Doce river basin, located between the states of Minas Gerais and Espírito Santo (Brazil), is between the Cerrado and Atlantic Forest biomes. It is a region of great socioeconomic and environmental importance that stands out as one of the main mining centers in the world. In addition to mining, this area stands out for its great biodiversity, agricultural and industrial activities, such as the production of cellulose, dairy and steel (Almeida et al. 2018; Omachi et al. 2018).

With the rupture of the Fundão reservoir (Mariana, MG, Brazil) in 2015, which contained tailings from the extraction of iron ore, more than 39.2 million m<sup>3</sup> of tailings were dumped along the Doce river basin. The degradation of affected areas after dam rupture is a cause for concern, mainly regarding contamination of soils and water by high concentrations of total metals, as Fe, Mn, Zn, Ni, Cr, Cu, Pb, and Co, besides the nutrient deficiency and the physical properties of tailing that can be cause imbalances in the ecosystem (Andrade et al. 2018; Prado et al. 2019; Queiroz et al. 2018; Segura et al. 2016). However, after the accident came a new environment in the rivers banks, which can be called Technosoil.

Among the main physicochemical characteristics of the Technosoil are its high levels of silt and sand, low organic matter content, high pH and high concentration of sodium (Na) (Carmo et al. 2017; Queiroz et al. 2018; Segura et al. 2016), as negative characteristics for the development of plants. Techniques such as the use of soil conditioners such as bonive manure, biochar, elemental sulfur, gypsum, which alter the pH, reduce the availability of metals and increase the organic matter content in the soil can minimize the harmful effect of the characteristics of the Technosoil, since have the purpose of improving the chemical conditions for the development of plants (Araújo et al. 2015; Qin et al. 2017; Qin et al. 2019; Qin et al. 2019; Xu et al. 2018; Zeng et al. 2015; Zhang et al. 2019).

The concept of conditioners involves the application of materials that favorably modify soil characteristics. These materials can be organic or inorganic and even industrialized synthetic (Qin et al. 2017; Qin et al. 2019; Zhang et al. 2019). The application of biochar as a soil conditioner is considered as an excellent alternative to the large-scale environmental remediation process (Zhang et al. 2019), promoting increased carbon stock and metal retention (Xu et al. 2018), water retention (Forján et al. 2017) and improvement in microbial habitat (Moore et al. 2018). Coal, on the other hand, can increase water retention capacity due to its porosity and large specific surface, especially in sandy soils (Glaser et al. 2002), improving the environment for plant and microbial development. Applying gypsum can improve soil structure, provide S and Ca to deeper soil layers, thus reducing toxic  $Al^{3+}$  and contributing to the deepening of the root system, thereby increasing water absorption and nutrients (Melo, Silva, 2013). Elemental sulfur is usually used as a soil corrective, as its main feature is the reduction of pH in alkaline soils through oxidation by microorganisms that are responsible for the formation of sulfuric acid and, subsequently, release of hydrogen ions in the soil solution (Heydarnezhad et al. 2012). In fact, the Technosoil have a high pH and the use of this conditioner may favor the reduction of pH and thus assist in plant growth.

Therefore, the use of chemical soil conditioners can alter these attributes and favor the growth of plants during the rehabilitation process. In this purpose, the objective of this study was to evaluate the application of different soil conditioners in the Technosoil formed by the iron mining tailings with the purpose of promoting the initial growth of *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf.

## **Material and Methods**

The experiment was conducted in a greenhouse, wastes that were deposited on the banks of the Gualaxo do Norte river, in an area located in the sub-district of Bento Rodrigues, municipality of Mariana (MG - Brazil) (20° 16' 21.97" S e 43° 12' 4.32" W). The region presents a "Cwa", with average annual temperature of 20.4 °C and average annual rainfall of 1300 mm.

The Technosoil was collected in the 0-20 cm layer at a site with deposition of > 1 m, which was totally revegetated with predominance of species of the family Fabaceae and Poaceae, featured the species *Cynodon dactylon*, *Cajanus cajan*, *Neonotonia wightii* and *Mimosa sp.*, and, with deposition of tailing exceeding one meter. The Technosoil were collected in the 0-20 cm layer and had the following chemical (all elements in the available fraction), and granulometric characteristics: pH in H<sub>2</sub>O (1 : 2.5): 8.13; Ca<sup>2+</sup>: 1.07 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>2+</sup>: 0.10 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al<sup>3+</sup>: 0.05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> extracted by 1 mol L<sup>-1</sup> KCl (McLean et al. 1958); H+Al: 0.83 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> by SMP extractant (Shoemaker, McLean and Pratt 1961); S: 10.81 mg dm<sup>-3</sup> by monocalcium phosphate in acetic acid extractant (Hoefst et al. 1973); K<sup>+</sup>: 0.17 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Na<sup>2+</sup>: 0.15 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; P: 8.91 mg dm<sup>-3</sup>; Zn<sup>2+</sup>: 0.80 mg dm<sup>-3</sup>; Fe<sup>2+</sup>: 221.08 mg dm<sup>-3</sup>; Mn<sup>2+</sup>: 145.37 mg dm<sup>-3</sup>; Cu<sup>2+</sup>: 0.97 mg dm<sup>-3</sup> extracted by Mehlich-1 solution (Mehlich 1953); B: 0.03 mg dm<sup>-3</sup> extracted in hot water (Raij et al. 2001); organic matter (OM): 6.75 g kg<sup>-1</sup> by oxidation with potassium dichromate in acid medium (Walkley, Black 1934); Clay: 80 g kg<sup>-1</sup>; Silte: 366 g kg<sup>-1</sup>; Sand: 555 g kg<sup>-1</sup> by the Bouyoucos method (Bouyoucos 1951). The Technosoil was air dried and then sieved (2 mm mesh) and packed in 2 kg pots.

The experimental design was completely randomized with seven treatments and five replications, the treatments consisted of one control (only reject) and six different soil conditioners: Biochar, Charcoal, Cattle (manure bovine), Organic compost (coffee husk and chicken manure), Agricultural Plaster and Elemental Sulfur.

The dose of each conditioner was calculated according to the concentration of the elements present in each one (Table S1, the physical and chemical characterization of the

conditioners) and according to the need of the plant. The applied doses of each conditioner, relative to the Technosoil volume used, were: 30 t ha<sup>-1</sup> (30 g plot<sup>-1</sup>) of Biochar e Charcoal; 10 t ha<sup>-1</sup> spraying and composting (10 g pot<sup>-1</sup>); Gypsum was calculated according to the need of plaster and applied 6 t ha<sup>-1</sup> (0.6 g pot<sup>-1</sup>) and Sulfur in function of the neutralizing power 2.1 t ha<sup>-1</sup> (0.21 g pot<sup>-1</sup>). The seeds of *Urochloa brizantha* were sown after 25 days of incubation with the conditioners, and after germination, thinning was carried out, maintaining eight plants per pot. All treatments were fertilized to achieve a balance between the amount of nutrients added, using p.a. reagents as nutrient sources readily available in solution form (Table S4), and irrigated with distilled water.

After 60 days of germination, the plants were collected, washed in distilled water and dried in a forced air circulation oven to determine the aerial part dry mass (SDM), the root dry mass (RDM) and total (TDM). In order to obtain the accumulation of chemical elements in the aerial part, the samples were ground separately and the contents determined Malavolta et al. (1997), and the accumulation of each element in the aerial part of the plants was calculated by the product between the element contents and the SDM of each plant. The contents of the chemical elements (available fraction) determined in the Technosoil were: P, K<sup>+</sup> and metals (Mehlich, 1953); P Remaining (P-rem) (Alvarez, Fonseca, 1990); Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> (McLean et al., 1958); S (Hoeft et al. 1973); B (Raij et al. 2001) and organic matter (OM) (Walkley, Black, 1934).

The results were submitted to the normality test (Shapiro - Wilk) followed by analysis of variance (ANOVA) and the means were compared by the Tukey test ( $p < 0.05$ ) by the statistical program SISVAR (Ferreira 2011). Main component analysis (PCA) was performed in the program R (R Development Core Team 2011).

## **Results and Discussion**

The highest values of shoot dry mass (SDM), root dry mass (RDM) and total dry mass (TDM) were observed in the Control, Gypsum and Sulfur treatments, with the lowest values in the Organic Compost and Charcoal treatments (Table 1). Although the reject was not a limiting factor for the growth of *Urochloa brizantha*, its physico-chemical characteristics may be limiting for the development of other plants, because it contains silt characteristics and high concentrations of elements with high toxicity potential, like the Na, and low availability of nutrients. Andrade et al. (2018) when growing rice (*Oryza sativa*) in the tailing dam of Fundão dam observed the growth of the plants compared to the cultivation in soil without tailings, these responses may be associated with nutrient deficiency, toxicity of some elements such as Na, Fe and Mn, and the physical properties of the tailings that prevented higher root growth, as well as an accumulation of iron in the root tissues associated with low availability of the Ca and K may have caused nutritional imbalance in plants (ANDRADE et al., 2018). In our study, however, there was no nutritional limitation for the cultivation of *Urochloa brizantha*, so we did not observe the hindering effect on the growth of the cultivated plant in the Technosoil formed by the iron mining tailings.

The pH values ranged from 7.60 to 8.98 (Table 2). The highest values of pH were in the Charcoal conditioners followed by Organic Compost, with an increase in pH of 18.16% and 13.42% respectively in relation to the Control, and also in the comparison to the initial conditions of the Technosoil (Table 2). The organic matter (OM) in the Technosoil was generally low among the treatments, ranging from 7.2 to 9.2 g kg<sup>-1</sup>, with the lowest and highest value for Control and Charcoal, respectively, and the application of Bovine manure provided increases in OM relative to Control (Table 2). The values of the available fraction of P, Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Pb did not present significant differences ( $p > 0.05$ ) (Table 2). The contents of the available fraction of K<sup>+</sup> was higher in the Charcoal and Compost; Ca<sup>2+</sup> was higher in the Charcoal and Gypsum; and Mg<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> were higher in the Compost, but Mg<sup>2+</sup> does not

differ from Biochar and  $Mn^{2+}$  does not differ from Charcoal (Table 2).  $Zn^{2+}$  was higher in the Control treatment, although it does not differ from Gypsum and Sulfur (Table 2). The content of Cr showed higher and equal values for Sulfur, Gypsum and Organic Compost treatments and lower and equal values for Control, Biochar and Charcoal (Table 2).  $Ni^{2+}$  was higher in Control and Organic Compost treatments (Table 2).

Remaining phosphorus (P-rem) in the Technosoil was lower in the Charcoal and Organic Compost, while the others did not differ ( $p < 0.05$ ) (Table 2). The P-rem represents a relative measure of the adsorption capacity of phosphorus in the soil (Alvarez and Fonseca, 1990), in the case of the reject, a low retention capacity of this element is observed, which may be associated with the higher pH characteristics and the mineralogical composition of the reject. Almeida et al (2018) showed that the Fundão waste is predominantly composed of kaolinite, goethite, hematite, gibbsite and quartz, classified as a non-hazardous waste, with low cation exchange capacity and adsorption, therefore, its sorption processes occur mainly ion exchange. These characteristics demonstrate that when being managed with fertilization and addition of OM, the Technosoil provide a favorable environment for plant growth, and as shown in Andrade et al (2018) the tailing has low levels of potentially toxic metals and the accumulation of toxic elements (As, Cd, Hg and Pb) by the plant was not relevant. Despite the low levels of bioavailable metals in the Technosoil formed by the iron mining tailings, with levels below Brazilian legislation, Queiroz et al (2018) points out that these metals are associated with Fe oxyhydroxides and their dynamics may be ephemeral, since changes in pH and under redox conditions may favor the reduction of Fe and increase the availability of these metals, which results in a potential risk of contamination. This chemical composition and low organic matter content make Technosoil generally have a high degree of compaction and low total porosity along the profile, which causes severe restrictions on root system development and also limits dynamics. soil water, such as infiltration, storage and redistribution. It is also important to note

that degraded soils show a slow recovery of physical attributes. The use of soil conditioners helps in this rehabilitation process over time, as they stimulate root growth. However, in our work, probably due to the short duration of the experiment, it was not possible to observe differences between the application or not of the conditioners. in the Technosoil.

The accumulation of P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn and Ni in aerial part was higher in Control, Gypsum and Sulfur treatments (Table 3). Cr accumulation was higher in Control (Table 3). As observed in the SDM (Table 1), the accumulation in *Urochloa brizantha* plants was lower in the treatments with Charcoal and Organic Compost, in all the chemical elements studied, and higher in the Bovine manure and Sulfur treatments, which did not differ from the Control except for Cr.

Although the organic conditioners (Biochar, Charcoal, Bovine manure, Organic Compost) presented ideal concentrations of nutrients (Table S1), they were in organic form not available to the plants, dependent on the microbial activities in the mineralization process of these nutrients. In fact, the reject presents low biomass and microbial activity (Batista, 2019 personal communication), which may have affected the results of organic compounds and conditioners that require decomposition and mineralization processes to make nutrients available. In addition, in the Coal and Compound treatments, the Tecnosol presented a pH increase in relation to the Control, and also in relation to the initial pH value in the Technosoil, which was 8.13 and became 8.98 in Coal and 8.62 in Organic Compound, which may have affected the development of *Urochloa brizantha* by decreasing element availability and affecting plant uptake, although data on available elements in Table 2 show no deficiency in element availability.

Soil conditioners significantly alter the chemical and fertility properties of soils, such as the use of organic compost and biochar, reduce the bioavailability and mobility of heavy metals (Zeng et al. 2015), sulfur reduces pH through oxidation by microorganisms (Araújo et al. 2015).

However, in reject these conditioners were not efficient in making these modifications in their physicochemical characteristics. This is due to the mineralogical nature of the tailings rich in quartz and oxides, or due to its silt-type granulometric characteristics, such as the composition rich in quartz and oxides and the silty texture (Carmo et al. 2017; Queiroz et al. 2016), the effect of soil conditioners on the tailings did not allow an increase in the growth of *Urochloa brizantha*.

The main components analysis (PCA) was important to validate, through the various attributes analyzed, a separation between the treatments with the application of the different soil conditioners in the Technosoil formed by the iron mining tailings (Figure 1). It is observed that the component 1 (PC1) explained 57.42%, while the PC2 explained 9.57%, in which they accumulated 66.99% of the variability of the data. The variables TDM, SDM, RDM,  $Zn^{2+}$  and the accumulation of all chemical elements in the aerial part show a significant, high and negative correlation with the a PC1, already pH,  $K^+$  and  $Mn^{2+}$  positive. The P-rem and  $Ca^{2+}$  positively and negatively correlated, respectively, with the PC2 (Table S3). Figure 1 shows a clear separation between treatments, with Control, Sulfur and Gypsum mainly influencing RDM, SDM and TDM, and the dry mass accumulated elements, being grouped together (Figure 1). The treatments Coal and Compound were closely grouped, influenced, mainly, by the values of pH,  $K^+$  and  $Mn^{2+}$ . The Bovine manure treatment was grouped more to the center of the graph, influenced by the P-rem and  $Ni^{2+}$  levels (Figure 1). Biochar was the treatment with greater dispersion of the data and did not present direct relation with any of the variables in the two PCs exposed in the graph (Figure 1).

PCA points out that soil conditioners did not influence *Urochloa brizantha* in the Technosoil (Figure 1). Thus, it confirms that the reject does not prevent the growth of plants, especially when it was fertilized to supplement and provide all the necessary nutrients. The increase in pH observed in the treatments Charcoal and Compost was the attribute that most

influenced the positioning of both treatments in the same quadrant of PCA and indicates, therefore, that this increase may have been one of the main influent factors in the reduction of the dry mass of the plants of *Urochloa brizantha* (Figure 1). The pH in Technosoil is on average 2.5 units higher than the soils in the region. The use of soil conditioners aims to lower the pH, however, it is likely that Charcoal and Compost stimulated higher release of hydroxyls and increased pH of Technosoil rather than lowering, as we expected. . However, as a main observation, it can be affirmed that soil conditioners did not decrease pH for bands close to the ideal for plant growth and were not efficient as waste conditioners, therefore, other forms of modifications should be evaluated of the chemical characteristics of the Technosoil formed by the iron mining tailing.

### **Conclusions**

The conditioners used were not efficient in favoring the growth of *Urochloa brizantha*.

The application of organic compost and charcoal promoted an increase in the pH and availability of manganese that affected the growth of the plant.

## References

- Almeida CA, Oliveira AF, Pacheco AA, Lopes RP, Neves AA, Queiroz MELR. 2018. Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin e Brazil. *Chemosphere*, 209, 411–420. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.071>
- Alvarez V, Fonseca DM. 1990. Definição de doses de fósforo para determinação da capacidade máxima de adsorção de fosfato e ensaios de casa de vegetação. *Rev. Bras. Cienc. Solo* 14, 49–55.
- Andrade GF, Paniz FP, Martins Jr AC, Rocha BA, Lobato AKS, 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? *Chemosphere*, 193, 892–902. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.099>
- Araújo JL, Severo PJS, Lucena FTC, Veriato RG, de Paiva KF. 2015. Enxofre elementar ou sulfato de cálcio para remediação de solos salino-sódicos? *Pesqui Agropecu Trop.* 45, 388–396. Doi:10.1590/1983-40632015v4537090.
- Bouyoucos, G.J., 1951. A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, 434–437.
- Carmo FF, Kamino LHY, Junior RT, Campos IC, Carmo FF, Silvino G, Castro KJSX, Mauro ML, Rodrigues NUA, Miranda MPS, Pinto CEF. 2017. Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. *Perspect. Ecol. Conserv.*, 15, 145–151, Doi: 10.1016/j.pecon.2017.06.002
- Ferreira DF. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc. Agrotec.* 35, 1039–1042.
- Forján R, Rodríguez-Vila A, Cerqueira B, Covelo EF. 2017. Comparison of the effects of compost versus compost and biochar on the recovery of a mine soil by improving the nutrient content. *J. Geochem. Explor.*, 183, 46 – 57. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2017.09.013>

Glaser B, Lehmann J, Zech W. 2002. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal e a review. *Biol. Fert. Soils*, 35, 219–230. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0466-4>

Heydarnezhad F, Shahinroksar P, Vahed HS. 2012. Influence of elemental s ulfur and sulfur oxidizing bact eria on some nutrient deficiency in calcareous soils. *Intl. J. Agri. Crop. Sci.* 4, 735 – 739.

Hoefl RG, Walsh LM, Kenney DR. 1973. Evaluation of various extractants for available soil sulfur. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 37, 401–411.

Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 319p. 1997.

Mclean EO, et al. 1958. Aluminum in soils: I. extraction methods and magnitudes in Ohio clays and soils 1. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 22, 382.

Mehlich A. 1953. *Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH4*. North Carolina Soil Testing Division, Raleigh, pp. 195.

Melo RAA, Silva DG. 2013. Estudo da viabilidade do uso do fosfogesso como matéria-prima na produção de materiais cerâmicos. *E-xacta*, 6, 13 – 31.

Moore F, González M-E, Khan N, Curaqueo G, Sanchez-Monedero M, Rilling J, Morales E, Panichini M, Mutis A, Jorquera M, Mejias J, Hirzel J, Meier S. 2018. Copper immobilization by biochar and microbial community abundance in metalcontaminated soils. *Sci. Total Environ.*, 616–617, 960–969. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitoten.v.2017.10.223>

Omachi CY, Siani SMO, Chagas FM, Mascagni ML, Cordeiro M, Garcia GD, Thompson CC, Siegle E, Thompson FL. 2018. Atlantic Forest loss caused by the world's largest tailing dam collapse (Fund o Dam, Mariana, Brazil). *Remote Sens. Appl. Soc. Environ.* 12, 30 34. Doi: [10.1016/j.rsase.2018.08.003](https://doi.org/10.1016/j.rsase.2018.08.003)

Prado IGO, Silva MCS, Prado DGO, Kimmelmeier K, Pedrosa BG, Silva CC, Kasuya MCM. 2019. Revegetation process increases the diversity of total and arbuscular mycorrhizal fungi in areas affected by the Fundão dam failure in Mariana, Brazil. *Appl. Soil. Ecol.* 141, 84–95. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.05.008>

Qin L, Huang D, Xu P, Zeng G, Lai C, Fu Y, Yi H, Li B, Zhang C, Cheng M, Zhou C, Wen X. 2019. In-situ deposition of gold nanoparticles onto polydopamine-decorated g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> for highly efficient reduction of nitroaromatics in environmental water purification. *J. Colloid Interface Sci.* 534, 357 – 369. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.09.051>

Qin L, Zeng G, Lai C, Huang D, Zhang C, Xu P, Hu T, Liu X, Cheng M, Liu Y, Hu L, Zhou Y. 2017. A visual application of gold nanoparticles: Simple, reliable and sensitive detection of kanamycin based on hydrogen-bonding recognition. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 243, 946 – 954. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.12.086>

Qin L, Zeng L, Zeng G, Lai C, Duan A, Xiao R, Huang D, Fu Y, Yi H, Li B, Liu X, Liu S, Zhang M, Jiang D. 2019. Cooperative catalytic performance of bimetallic Ni-Au nanocatalyst for highly efficient hydrogenation of nitroaromatics and corresponding mechanism insight. *Applied Catalysis B: Environmental*, 259, 118035. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.118035>

Queiroz HM, Nóbrega GN, Ferreira TO, Almeida LS, Romero TB, Santaella ST, Bernardino AF, Otero XL. 2018. The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? *Sci. Total Environ.* 637–638, 498–506. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.370>

R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2011. Available at: <http://www.r-project.org>.

Raij B V. et al. 2001. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, pp. 284.

Segura FR, Nunes EA, Paniz FP, Paulelli ACC, Rodrigues GB, Braga GUL, Pedreira Filho WR, Barbosa JrF, 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. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.005>

Shoemaker HE, Mclean EO, Pratt, P.F., 1961. Buffer methods for determining lime requirement of soils with appreciable amounts of extractable aluminum. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 25, 274–277.

Walkley A, Black IA. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37, 29–38.

Xu Y, Seshadri B, Sarkar B, Wang H, Rumpel C, Sparks D, Farrell M, Hall T, Yang X, Bolan N. 2018. Biochar modulates heavy metal toxicity and improves microbial carbon use efficiency in soil. *Sci. Total Environ.*, 621,148–159.

Zeng G, Wu H, Liang J, Guo S, Huang L, Xu P, Liu Y, Yuan Y, He X, He Y. 2015. Efficiency of biochar and compost (or composting) combined amendments for reducing Cd, Cu, Zn and Pb bioavailability, mobility and ecological risk in wetland soil. *RSC Adv.* 5, 34541–34548. Doi:10.1039/c5ra04834f.

Zhang C, Wang W, Duan A, Zeng G, Huang D, Lai C, Tan X, Cheng M, Wang R, Zhou C, Xiong W, Yang Y. 2019. Adsorption behavior of engineered carbons and carbon nanomaterials for metal endocrine disruptors: Experiments and theoretical calculation. *Chemosphere*, 222, 184 – 194. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.128>

**SUPPLEMENTARY MATERIAL**

**Table 1.** Shoot (SDM), root (RDM) and total (TDM) dry mass of *Urochloa brizantha* after cultivation in iron ore tailings with the addition of different soil conditioners.

Treatments	SDM	RDM	TDM
	----- g -----		
<b>Control</b>	20.89* a	9.68 a	30.57 a
<b>Biochar</b>	11.63 b	5.23 b	16.86 b
<b>Charcoal</b>	4.36 c	2.04 c	6.41 c
<b>Bovine manure</b>	13.50 b	5.71 b	19.22 b
<b>Compost</b>	4.49 c	1.85 c	6.34 c
<b>Gypsum</b>	20.75 a	9.53 a	30.28 a
<b>Sulfur</b>	19.93 a	8.81 a	28.74 a
<b>CV (%)</b>	13.66	12.04	11.94

\*Means followed by the same lowercase letters did not differ significantly by the Tukey test ( $p < 0.05$ ).

**Table 2.** Chemical elements (available fraction), pH, organic matter (OM) and remaining phosphorus (P-rem) after cultivation of *Urochloa brizantha* in iron mining tailings with the addition of different soil conditioners.

Treatments	pH	MO	P-rem	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Cr	Ni	Pb
	H <sub>2</sub> O	g kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	mg dm <sup>-3</sup>		cmolc dm <sup>-3</sup>					mg kg <sup>-1</sup>			
<b>Control</b>	7.60 d*	7.20 b	51.04 ab	47.32 a	0.0 7 b	1.7 0 c	0.13 d	4.29 a	166.2 5 a	131.1 9 b	1.9 5 a	0.61 d	2.30 a	1.8 3 a
<b>Biochar</b>	7.72 d	7.70 ab	55.58 a	44.53 a	0.0 1 b	1.5 8 c	0.23 ab	3.47 cd	136.7 1 a	136.0 6 b	1.7 6 a	0.51 d	1.47 bc	2.0 1 a
<b>Charcoal</b>	8.98 a	8.10 ab	49.08 b	55.33 a	0.3 7 a	2.1 4 a	0.16 cd	3.63 bc	150.4 1 a	159.7 8 ab	2.0 1 a	0.69 cd	0.42 c	2.8 3 a
<b>Bovine manure</b>	7.96 c	9.20 a	55.35 a	50.62 a	0.0 3 b	1.8 9 b	0.19 bc	3.60 bcd	147.1 9 a	133.0 2 b	1.6 4 a	0.88 bc	1.00 bc	2.1 1 a
<b>Compost</b>	8.62 b	7.90 ab	48.94 b	47.94 a	0.3 7 a	1.8 4 b	0.24 a	3.06 d	148.2 5 a	179.2 7 a	1.5 4 a	1.00 ab	1.81 ab	2.8 4 a
<b>Gypsum</b>	7.60 d	8.00 ab	53.88 a	47.26 a	0.0 2 b	2.2 0 a	0.17 cb	3.85 abc	151.3 7 a	133.9 4 b	1.5 8 a	1.03 ab	1.51 bc	2.9 0 a
<b>Sulfur</b>	7.60 d	8.10 ab	50.98 ab	53.12 a	0.0 2 b	1.8 6 b	0.19 bc	4.04 ab	153.0 6 a	140.7 9 b	1.6 2 a	1.17 a	0.76 bc	1.9 9 a
<b>CV (%)</b>	1.13	10.90	4.43	11.09	10.91	3.58	10.95	7.56	18.1	12.49	28.3	15.47	46.49	31.05

\*Means followed by the same lowercase letters did not differ significantly by the Tukey test ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Accumulation of the chemical elements in the shoot dry mass (SDM) of *Urochloa brizantha* after the cultivation in tailings of iron mining with the addition of different soil conditioners.

Treatments	-----mg SDM <sup>-1</sup> -----					-----µg SDM <sup>-1</sup> -----					
	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn	Cr	Ni
<b>Control</b>	27.88 a*	214.7 1 ab	86.98 ab	75.93 a	19.66 a	37.2 6 a	4751.9 0 a	1093. 19 a	136.5 4 a	60.18 a	41.7 2 a
<b>Biochar</b>	19.84 b	188.3 4 b	44.97 d	34.62 b	11.06 b	24.5 7 b	2140.0 0 cd	637.6 0 c	84.45 cd	24.01 bc	22.5 1 b
<b>Charcoal</b>	6.52 c	119.0 0 c	16.49 e	9.15 c	5.74 c	14.9 8 c	750.90 d	294.2 9 d	50.28 e	7.37 e	9.27 c
<b>Bovine manure</b>	17.52 b	194.2 8 b	61.53 c	45.67 b	13.78 b	27.4 6 b	2950.0 0 bc	726.3 7 cd	97.88 bc	23.82 cd	27.4 7 b
<b>Compost</b>	7.78 c	88.97 d	18.37 e	11.21 c	7.30 c	15.2 8 c	710.18 d	317.0 3 d	71.64 de	8.49 de	9.47 c
<b>Gypsum</b>	25.69 a	230.1 6 a	97.35 ab	74.91 a	20.62 a	38.4 4 a	6170.0 0a	1050. 05 a	141.8 4 a	37.93 bc	42.2 6 a
<b>Sulfur</b>	25.64 a	208.7 4 ab	81.83 b	70.56 a	19.79 a	37.7 1 a	4495.0 1 ab	960.8 1 ab	119.7 4 ab	40.48 bc	37.3 5 a
<b>CV (%)</b>	12.50	7.96	11.99	14.97	10.14	12.1 9	27.32	16.78	11.88	28.62	13.9 2

\*Means followed by the same lowercase letters did not differ significantly by the Tukey test (p <0.05).

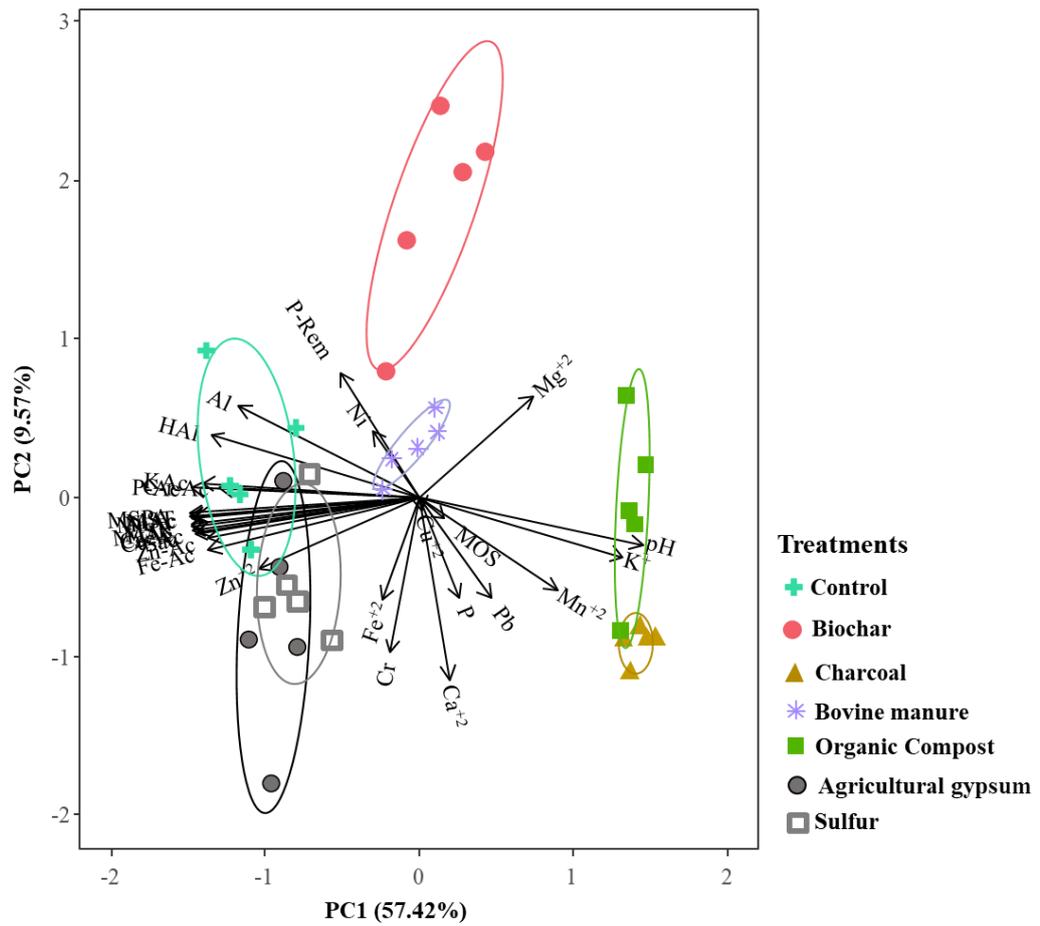


Figure 1 - Principal component analysis (PCA) between chemical attributes of iron mining tailings and chemical plant accumulation after *Urochloa brizantha* cultivation with different soil conditioners. DMA (dry matter area); SOM (soil organic matter); P-Rem (remaining phosphorus); -Ac (accumulation of chemical elements in the shoot).

Source: From the author (2019).



**Table S2.** Chemical element contents in the shoot of *Urochloa brizantha* after cultivation in iron mining tailings with the addition of different soil conditioners.

Treatment	P	K	g kg <sup>-1</sup>				mg kg <sup>-1</sup>				
			Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn	Cr	Ni
<b>Control</b>	1.35 b	10.4 7 d	4.21 ab	3.66 a	0.95 c	1.80 b	230.83 ab	52.99 bc	6.67 c	2.99 a	2.00 ab
<b>Biochar</b>	1.70 a	16.4 0 c	3.84 b	2.91 bc	0.95 c	2.12 b	176.81 b	54.72 bc	7.33 c	2.05 b	1.93 b
<b>Charcoal</b>	1.49 ab	27.2 5 a	3.78 b	2.09 d	1.31 b	3.43 a	172.29 b	67.59 ab	11.54 b	1.68 b	2.12 a
<b>Bovine manure</b>	1.29 b	14.5 0 c	4.55 a	3.37 ab	1.02 c	2.04 b	219.84 ab	54.15 bc	7.28 c	1.76 b	2.04 ab
<b>Compost</b>	1.67 a	19.0 0 b	4.10 ab	2.52 cd	1.64 a	3.43 a	158.12 b	71.50 a	16.02 a	1.88 b	2.11 a
<b>Gypsum</b>	1.23 a	11.1 2 d	4.68 a	3.60 a	0.99 c	1.86 b	296.13 a	50.29 c	6.88 c	1.82 b	2.04 ab
<b>Sulfur</b>	1.29 b	10.5 2 d	4.14 ab	3.55 a	0.99 c	1.90 b	225.78 ab	48.47 c	6.06 c	2.00 ab	1.88 b
<b>CV (%)</b>	.44	.84	.24	.43	.68	.43	2.28	4.02	4.54	5.00	1.06

\*Means followed by the same letter did not differ significantly by the Tukey test ( $p < 0.05$ ).

**Table S3.** Correlations between the chemical attributes of the iron mining tailings and chemical element content in the plant after cultivation of *Urochloa brizantha* with different soil conditioners.

		<b>Importance of components:</b>	
		<b>PC1</b>	<b>PC2</b>
<b>Eigenvalue</b>		17.23	2.18
<b>Proportion Explained</b>		57.42	9.57
<b>Cumulative Proportion</b>		57.42	66.99
		<b>Species scores</b>	
<b>Plant</b>	TDM*	-1.02	-0.08
	SDM	-1.02	-0.07
	RDM	-1.01	-0.12
<b>Elements available</b>	pH	0.95	-0.27
	K <sup>+</sup>	0.90	-0.26
	P	0.18	-0.44
	Ca <sup>2+</sup>	0.14	-0.78
	Mg <sup>2+</sup>	0.50	0.44
	Al <sup>3+</sup>	-0.80	0.39
	H+Al	-0.92	0.26
	MOS	0.11	-0.09
	P-rem	-0.35	0.53
	Fe <sup>2+</sup>	-0.16	-0.44
	Mn <sup>2+</sup>	0.61	-0.40
	Zn <sup>2+</sup>	-0.71	-0.31
	Cu	0.01	-0.06
	Ni	-0.21	0.29
	Cr	-0.13	-0.67
	Pb	0.32	-0.44
<b>Accumulation of elements</b>	P-Ac	-1.01	0.04
	K-Ac	-0.97	0.06
	Ca-Ac	-1.01	-0.14
	Mg-Ac	-1.02	-0.13
	S-Ac	-1.00	-0.16
	Fe-Ac	-0.93	-0.23
	Mn-Ac	-0.99	-0.08
	Zn-Ac	-0.94	-0.18
	Cu-Ac	-0.99	-0.15
	Ni-Ac	-1.01	-0.09
Cr-Ac	-0.89	0.04	

\*TDM (total dry mass); SDM (shoot dry mass); RDM (Root dry mass); OM (organic matter); P-Rem (remaining phosphorus); -Ac (Accumulation of elements).



**SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**

**ARTIGO 2** - Relação entre fungos micorrízicos arbusculares e a atividade microbiana em rejeito de mineração de Ferro

Relação entre fungos micorrízicos arbusculares e a atividade microbiana em rejeito de  
mineração de Ferro

Flávia Romam da Costa Souza<sup>1</sup>, Flávio Araújo Pinto<sup>1</sup>, Jessé Valentim dos Santos<sup>1</sup>, Aline  
Oliveira Silva<sup>1</sup>, Marisângela Viana Bardosa<sup>1</sup>, Marco Aurélio Carbone Carneiro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Setor de Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, Departamento de Ciência  
do Solo, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras - MG, Brasil.

\*Autor correspondente

Endereço de e-mail: [marcocarbone@ufla.br](mailto:marcocarbone@ufla.br)

Número de telefone: +55 35 2142-2051

## RESUMO

A ruptura da barragem de Fundão, em Mariana MG, afetou extensas áreas na Bacia do Rio Doce onde foram lançados aproximadamente 34 milhões de m<sup>3</sup> de rejeito da mineração de ferro. Vários serviços ecossistêmicos promovidos por microrganismos do solo foram afetados e o retorno desses serviços pode contribuir com o processo de reabilitação das áreas afetadas pela deposição do rejeito. Dentre esses microrganismos, os fungos micorrízicos arbusculares podem auxiliar no reestabelecimento de comunidades microbianas nativas e, assim, acelerar os processos ecossistêmicos no solo, o que favorece o estabelecimento de espécies de plantas nativas. Portanto, o objetivo foi avaliar o efeito da inoculação dos FMAs na ativação da microbiota do solo em rejeito e no crescimento de *Urochloa brizantha*. O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação e constou de um fatorial 5x2, sendo 5 diluições para extinção de microrganismos do solo (0, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-6</sup> e 10<sup>-9</sup>) com e sem inoculação com FMAs e 4 repetições. Foi avaliado a quantificação da colonização micorrízica, atividade da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), a determinação do carbono da biomassa microbiana, a extração de esporos, a glomalina facilmente extraível (PSRG-FE) e a determinação do comprimento de micélio total (CMT). Os fungos micorrízicos arbusculares favoreceram o aumento da biomassa microbiana do solo, mas não foram capazes de promover aumento do crescimento da *Urochloa brizantha*.

**Palavras-chave:** Interação entre microrganismo. Biomassa microbiana. Micélio. *Urochloa brizantha*

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os registros de desastres socioambiental ocorridos no Brasil, a ruptura da barragem de Fundão em Mariana-MG e, mais recentemente, de Brumadinho-MG foram os que mais degradaram o ambiente, e no caso de Mariana, afetou grande área da bacia do Rio Doce. A bacia do Rio Doce, inserida entre os biomas Mata Atlântica e Cerrado, é uma área de grande importância socioambiental, contém 228 municípios e uma população estimada em 3,5 milhões de pessoas além de uma elevada biodiversidade (ALMEIDA et al., 2018; OMACHI et al., 2018).

Ao romper a barragem, foram lançados na bacia do Rio Doce, aproximadamente, 34 milhões de m<sup>3</sup> de rejeito da mineração de ferro e afetou mais de 1500 ha nas margens dos rios (IBAMA, 2015). O rejeito além de destruir vilarejos, como Bento Rodrigues e Paracatu de Baixo, percorreu os rios Gualaxo do Norte, Carmo e Doce além de outros cursos d'água até atingir o Oceano Atlântico. Nas margens dos rios, principalmente, Gualaxo do Norte foram depositados grandes volumes de rejeitos que afetou a vegetação, a fauna, a microbiota do solo dos ecossistemas (ALMEIDA et al., 2018; QUEIROZ et al., 2018). Mesmo revegetado, as principais atividades microbianas e enzimáticas ainda não foram reestabelecidas (dados preliminares e não publicados).

Diferentes grupos de microrganismos são responsáveis por vários processos ecossistêmicos essenciais para a resiliência no solo como, a decomposição da matéria orgânica, mineralização de nutrientes, transformações químicas de elementos (amonificação, nitrificação, entre outros), agregação do solo e simbioses radiculares (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A degradação do solo afeta diretamente as atividades dos microrganismos, sua densidade e diversidade no solo. As metodologias de reabilitação que visam à restauração ecológica, como o aumento no número de microrganismos no solo são as alternativas mais viáveis para serem empregadas em ambientes degradados (AHIRWAL et al., 2018; AHIRWAL; MAITI, 2018; THAVAMANI et al., 2017). A inoculação de solo com microrganismos de mata nativa pode acelerar o reestabelecimento de comunidades microbianas nativas do rejeito e iniciar a reabilitação de processos ecossistêmicos no solo, o que favorece o estabelecimento de espécies de plantas nativas, além de favorecer as melhorias nas condições físico-químicas (DENG et al., 2009; LI et al., 2015), sendo as áreas nativas não degradadas uma fonte de inóculo muito importante nesse processo (GUMIERE et al., 2019; PRADO et al., 2019)

Entre os microrganismos destacam-se os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) que auxiliam no processo de restauração ecológica como simbioses mutualísticas das plantas vasculares (PRADO et al., 2019; VERBRUGGEN et al., 2016). Plantas micorrizadas tendem a maiores valores de fitomassa e maior tolerância ao estresse biótico e abiótico. A região ao redor das hifas extrarradiculares dos fungos micorrízicos é chamada de micorrizosfera. Nessa região, são liberados vários compostos orgânicos, como glicoproteínas e outros compostos que estimulam outros microrganismos do solo, como as bactérias e outros fungos (BAREA et al., 2002; GUMIERE et al., 2019). A compreensão das interações microbianas do solo, especialmente aquelas entre comunidades heterotróficas e micorrízicas, são consideradas essenciais para o desenvolvimento das plantas (GUMIERE et al 2019) e pode auxiliar na tomada de decisão do uso de inoculantes para, não somente auxiliar na revegetação, mas promover a reabilitação dos processos ecossistêmicos importantes nesses novos ambientes formados pela deposição de rejeito. Como o rejeito apresenta baixa concentração de matéria orgânica, os compostos orgânicos liberados na rizosfera e micorrizosfera podem ser a única fonte de energia para a manutenção da biomassa microbiana ativa no solo para o estabelecimento dos processos ecossistêmicos desse tecnossolo.

Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito dos FMAs na ativação da microbiota do solo e no crescimento de *Urochloa brizantha* em rejeito de mineração de ferro.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Amostragem do rejeito**

O rejeito da extração de minério de ferro, oriundo do rompimento da barragem de Fundão, foi coletado em maio de 2017, dois anos após o rompimento, no subdistrito de Bento Rodrigues, às margens do rio Gualaxo do Norte, no município de Mariana-MG (20° 16' 21.97" S e 43° 12' 4.32" W). A região apresenta clima do tipo "Cwa" com temperatura média anual de 20,4 °C e pluviosidade média anual de 1300 mm.

O local da coleta já se apresentava revegetado por meio da aplicação emergencial de um mix de sementes com predomínio de espécies da família Fabaceae e Poaceae, em destaque, *Cajanus cajan*, *Neonotonia wightii*, *Mimosa* sp. e *Cynodon dactylon*. O rejeito foi coletado na camada de 0 a 20 cm às margens do rio Gualaxo do Norte onde havia deposição de rejeito superior a um metro e apresentou as seguintes características químicas e granulométricas: pH

em H<sub>2</sub>O: 8,13; P: 8,91 mg dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup>: 1,07 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup>: 0,10 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K<sup>+</sup>: 0,17 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Na<sup>+</sup>: 0,15 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al<sup>+3</sup>: 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H<sup>+</sup>+Al<sup>+3</sup>: 0,83 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB: 1,48 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; t: 1,53 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; T: 2,31 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V: 64,18%; m: 2,81%; matéria orgânica: 6,75 g kg<sup>-1</sup>; P-Rem: 39,20 mg L<sup>-1</sup>; Zn: 0,80 mg dm<sup>-3</sup>; Fe: 221,08 mg dm<sup>-3</sup>; Mn: 145,37 mg dm<sup>-3</sup>; Cu: 0,97 mg dm<sup>-3</sup>; B: 0,03 mg dm<sup>-3</sup>; S: 10,81 mg dm<sup>-3</sup>; Argila: 80 g kg<sup>-1</sup>; Silte: 366 g kg<sup>-1</sup>; Areia: 555 g kg<sup>-1</sup>. Após a coleta, o rejeito foi seco ao ar e, posteriormente, peneirado em malha de 2 mm e acondicionado em câmara fria até a montagem do experimento.

## 2.2 Amostragem do solo para o gradiente de densidade de microrganismos

A comunidade microbiana do solo utilizado para geração do gradiente de diversidade microbiano foi coletada na profundidade de 0 a 20 cm de uma mata com sub-bosque bem formado e elevada serapilheira (FIGURA S1) localizada na Universidade Federal de Lavras-UFLA, foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico. O solo foi submetido à suspensão seriadas de suas células em solução salina (0,85%) em concentrações 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-9</sup> (FIGURA S2) pelo método de diluição para extinção (MALLON et al., 2015; VAN ELSAS et al., 2012; WERTZ et al., 2006, 2007).

## 2.3 Montagem do experimento

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação e constou de um fatorial 5x2, sendo cinco diluições para extinção de microrganismos do solo (0, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-6</sup> e 10<sup>-9</sup>) com e sem inoculação com FMAs e quatro repetições. O rejeito foi submetido a esterilização realizada em autoclave com elevada temperatura e pressão, 120°C e 1 atm, respectivamente, por duas horas, por duas vezes em intervalo de 24 horas e, posteriormente, mantido em repouso por 15 dias.

Após esse repouso, o rejeito foi acondicionado em vasos com capacidade para dois kg. Os vasos receberam nutrientes antes do plantio com fontes solúveis de acordo com a necessidade da cultura via solução nutritiva 25,0 mg kg<sup>-1</sup> de N; 55,3 mg kg<sup>-1</sup> de P; 5,5 mg kg<sup>-1</sup> de K; 33,8 mg kg<sup>-1</sup> de S; 1,0 mg kg<sup>-1</sup> de B; 0,10 mg kg<sup>-1</sup> de Co; 5,0 mg kg<sup>-1</sup> de Cl; 0,50 mg kg<sup>-1</sup> de Cu; 0,10 mg kg<sup>-1</sup> de Mo; 1,0 mg kg<sup>-1</sup> de Zn e 25,0 mg kg<sup>-1</sup> de Mg.

No momento do plantio, as sementes de *Urochloa brizantha* foram desinfestadas e quebrada a dormência com ácido sulfúrico puro por cinco minutos e depois lavadas com água

destilada esterilizada. Após a germinação das sementes foi realizado o desbaste a fim de manter oito plantas por vaso.

Cada tratamento com rejeito estéril recebeu 100 ml das respectivas diluições ( $0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-9}$ ) das suspensões celulares oriundas do solo de mata. Nos tratamentos com inoculação de FMAs foram aplicados 150 esporos de FMAs compostos pelas espécies *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus mosseae* e *Rhizophagus clarus* em iguais proporções.

O experimento foi mantido em casa de vegetação por 60 dias após a inoculação com esporos de FMAs a 70% da capacidade de campo e a adubação de cobertura com fontes solúveis de N e K foi realizada após 30 dias da germinação sendo aplicado via solução nutritiva com  $300 \text{ mg kg}^{-1}$  de N e  $300 \text{ mg kg}^{-1}$  de K.

Após esse período, foram coletadas as partes aéreas e as raízes que foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar a  $65^{\circ}\text{C}$  até peso constante para a determinação da massa seca.

#### **2.4 Quantificação da colonização micorrízica em amostra de raízes**

Para a determinação da colonização micorrízica, um grama de raízes finas foi separado, lavada em água corrente e colocada em frascos plásticos de 50ml com etanol 70% já devidamente identificados para o armazenamento. As raízes foram clarificadas com solução de KOH 10% em banho-maria a  $90^{\circ}\text{C}$  durante 60 minutos, esse processo foi repetido por três vezes. Em seguida, foram lavadas em água corrente para retirada do excesso de reagente (PHILLIPS; HAYMA, 1970).

A pigmentação das estruturas fúngicas das raízes clarificadas foi realizada com solução de tinta de caneta Parker diluída (25 ml de tinta de caneta e 84 ml de HCl para completar um litro de água) por 15 minutos fora do banho-maria, e depois por mais 15 minutos em banho maria a  $70^{\circ}\text{C}$ . As raízes após a coloração foi armazenada em água até o momento da visualização e quantificação da colonização micorrízica.

A colonização micorrízica foram determinadas em lupa (estereoscópio com aumento mínimo de 40x) pelo método de intercessão das linhas cruzadas ou '*grid line method*'. Esse método é baseado pela mensuração dos fragmentos de raízes colonizadas e não colonizadas sobre as linhas de placa quadriculada (GIOVANETTI; MOSSE, 1980). A partir dessa mensuração, pode-se calcular a colonização micorrízica (CM) em porcentagem pela fórmula:

$$CM\% = \frac{Rc}{It} \times 100$$

Onde:

CM = Colonização micorrízica em %;

Rc = Raízes colonizadas sobre as linhas de interseção;

It = Interseção total, todas as raízes sobrepostas nas linhas, colonizadas ou não.

## 2.5 Atividade da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA)

A Atividade da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) foi estimada de acordo com Dick et al. (1996), sendo quantificada por espectrofotometria com comprimento de onda de 490 nm. Para isso, utilizaram-se alíquotas de dois gramas de rejeito em triplicata e os resultados expressos em  $\mu\text{g}$  fluoresceína  $\text{g}^{-1}$  de rejeito seco.

## 2.6 Determinação do Carbono da biomassa microbiana (C-BM) das amostras de rejeito

A determinação do Carbono da biomassa microbiana (C-BM) foi realizada pelo método de fumigação-extração (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987). Esse método constitui-se pelo princípio básico da extração do carbono microbiano em que ocorre ataque do clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) que provoca a morte dos microrganismos pelo rompimento da parede celular e, como consequência, liberação dos constituintes celulares que são recuperados por um extrator fraco como o  $\text{K}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  em uma relação de 1:4 (extrator-solo). A determinação do C foi feita pela dicromatometria por meio da oxidação do dicromato ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ )  $0,0667 \text{ mol L}^{-1}$  e titulado com sulfato ferroso amoniacal ( $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )  $0,0333 \text{ mol L}^{-1}$  do seu excesso. O C extraído do solo é calculado pela fórmula:

$$C = (Vb - Va) \times N \times 0,003 \times 50 \times (8 \times Ps)^{-1} \times 10^6$$

Onde:

C ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) = carbono extraído do solo;

Vb (ml) = volume do sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da solução controle (branco);

Va (ml) = volume gasto na titulação da amostra;

N = normalidade exata do  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;

Ps (g) = massa de solo seco.

O cálculo do C-BM é dado pela fórmula:

$$C - BM = FC \times kc^{-1}$$

Onde:

C-BM ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) = biomassa de carbono microbiano do solo em mg de C por kg de terra (ou  $\mu\text{g g}^{-1}$ );

FC = fluxo obtido da diferença entre a quantidade de C ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) recuperada no extrato da amostra fumigada e a recuperada na amostra não fumigada;

kc = fator de correção. O fator de correção (kc) em situações que exijam maior exatidão deverá ser calculado para cada tipo de solo. Como para os solos do Brasil o fator ainda não foi determinado, se pode utilizar o valor 0,33 preconizado por Sparling e West (1988).

## **2.7 Extração de esporos das amostras de rejeito para estimar a densidade**

Os esporos foram extraídos de 50g de rejeito de cada tratamento por peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963) e centrifugados em gradiente de densidade, utilizando-se água e sacarose 50% (JENKINS, 1964). Posteriormente, os esporos foram transferidos na água para uma placa de Petri para quantificação de esporos em microscópio estereoscópico (lupa).

## **2.8 Glomalina facilmente extraível (PSRG-FE)**

A extração da proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG-FE) foi realizada pela metodologia proposta por Wright e Updahlvava (1998) e quantificada pelo método Bradford (1976). A glomalina foi retirada das hifas e dos solos por meio da solução de citrato de sódio  $20 \text{ mmol L}^{-1}$  pH 7,4 em temperaturas elevadas  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  por 30 minutos em autoclave. Logo após, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 15 min e, a partir do sobrenadante, foi feito a quantificação utilizando soro-albumina bovina como padrão. As concentrações da PSRG-FE foram corrigidas para  $\text{mg g}^{-1}$  de rejeito, para isso considerou-se o volume total do sobrenadante e a massa seca do rejeito.

## **2.9 Determinação do comprimento de micélio total (CMT)**

A quantificação do comprimento de micélio no rejeito foi feita de acordo com o método proposto por Melloni e Cardoso (1999). O método consiste na pesagem (10g) de duas subamostras, sendo uma para a extração do micélio e a outra para a determinação da umidade.

O rejeito foi suspenso em 1,5 L de água, e o sobrenadante passado em peneiras sobrepostas. O filtrado coletado foi submetido à agitação em liquidificador durante 30 segundos na menor velocidade. A amostra foi deixada em repouso por dois minutos e após esse tempo, foi separada uma alíquota de 500 mL de sobrenadante que foi filtrada novamente em peneira de 45 µm. Uma alíquota do material retido na peneira foi coletada em becker e completado com água destilada até 22 mL. Em 5 mL dessa alíquota, foi adicionado 1 mL HCl 1 % por 5 minutos e, após, a amostra foi corada por 10 minutos com 2 mL de Azul de Tripán 0,05 % aquecido por 15 segundos em estufa. Após a alíquota ter sido corada, essa foi submetida à filtração a vácuo em membrana de triacetato de celulose, com diâmetro de 4,7 cm e porosidade de 0,45 µm e foi feita a avaliação em microscópio de 64 campos de cada membrana, determinando-se o número de interseções de hifas com as linhas horizontais de *grid* (8x8).

$$C = \frac{(0,23562 \times N)}{(10 - U)}$$

Onde:

C= Comprimento de micélio no rejeito (m g<sup>-1</sup>);

N= soma do número de interseções entre as hifas e as linhas do *grid*;

U= umidade da amostra de rejeito (g de água).

## 2.10 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de normalidade (Shapiro - Wilk). Atendidas a essas premissas da estatística paramétrica, aplicou-se a análise de variância (ANAVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p < 0,05) pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011). Para os dados de MSPA, MSR, MST, glomalina facilmente extraível e micélio total, cuja médias não apresentaram normalidade, utilizou-se o princípio da transformação dos dados log (x) +1.

## 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou efeito significativo dos fatores diluição e inoculação com FMAs para as variáveis carbono da biomassa microbiana (C-BM) e colonização micorrízica (CM%) (TABELA S1).

A biomassa microbiana (C-BM) foi influenciada positivamente ( $p < 0,05$ ) pela inoculação com FMAs, sendo observado maior C-BM em plantas inoculadas com FMAs, exceto na diluição  $10^{-6}$  que não foi verificado efeito da inoculação (TABELA 1). O maior valor de C-BM foi encontrado na diluição  $10^{-9}$ , quando inoculados com FMAs, e não houve diferenças estatísticas na ausência da inoculação com FMAs (TABELA 1). Os incrementos de C-BM com a inoculação de FMAs variaram de 38% ( $10^{-1}$ ) a 197% ( $10^{-9}$ ) em relação aos tratamentos não inoculados.

A biomassa microbiana é considerada a parte viva da matéria orgânica do solo, representada, principalmente, por fungos e bactérias do solo, além de protozoários e pequenos insetos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Apesar de pequena fração, a biomassa microbiana exerce funções importantes para o processo de reabilitação em áreas degradadas (CARNEIRO et al., 2008; SILVA et al., 2018). A ativação da biomassa ocorre com a entrada de substrato por meio da necromassa, ou seja, a fitomassa morta, como por exemplo, raízes, rizodeposições das raízes e na micorrizosfera, contribui, assim, com a entrada de C no solo. Podendo ser utilizada como um atributo para avaliar as condições do solo, pois em função da quantidade de energia que entra e que sai do sistema, pode ser fonte ou dreno de nutrientes. Em áreas de reabilitação após a mineração de ferro Kujur e Patel (2012), Pasayat e Patel (2016) e Silva et al. (2018) observaram a sensibilidade da biomassa microbiana em descrever as mudanças que ocorrem no solo com a revegetação, em que mostra o efeito positivo da entrada de carbono no solo pelos exsudados e serapilheira, assim favorece o reestabelecimento de uma comunidade microbiana ativa e de importantes processos ecossistêmicos, como a ciclagem de nutrientes.

A colonização micorrízica (CM%) variou em função da inoculação com FMAs e das diluições estudadas. As diluições  $10^{-1}$  e  $10^{-3}$  apresentaram maiores valores e a  $10^{-9}$  menor valor quando inoculadas com FMAs (TABELA 1). Quando não inoculado com FMAs, o maior valor de CM% foi na diluição  $10^{-6}$  e os menores em  $10^{-9}$  e 0 (TABELA 1). Observa-se que em todas as diluições houve uma maior colonização micorrízica quando inoculada com FMAs, variou de 11% (Controle) até 24% ( $10^{-1}$ ), exceto para a diluição  $10^{-9}$  (TABELA 1). A colonização micorrízica foi menor quando não inoculado com FMAs (TABELA 1).

No presente estudo, a maior colonização micorrízica e a maior concentração de carbono na biomassa microbiana indicam que os FMAs contribuem para a reabilitação do rejeito, que nas áreas que passaram a compor um novo ambiente chamado de tecnossolo. Segundo Echevarria e Morel (2015), os solos em processo de recuperação após as transformações causadas pelas atividades de mineração podem ser chamados de tecnossolos. Esse termo pode ser empregado para as áreas que foram atingidas após o rompimento da barragem de Fundão, uma vez que a pedogênese e as propriedades desse solo são dominadas pela origem técnica desses novos materiais, com total influência humana na sua constituição, refletindo em sua alta heterogeneidade e diversidade. Mas, para que esse tecnossolo venha a desempenhar funções ecossistêmicas semelhantes aos solos referência (não atingidos pelo rejeito), é necessário que haja um intenso processo de remediação que vai além de apenas cobrir o solo com plantas de rápido crescimento, é necessário que haja um retorno dos processos e simbioses microbianas.

Ao avaliar a composição da comunidade de fungos micorrízicos nos tecnossolos após o rompimento da barragem de Fundão, Prado et al. (2019) observaram que a diversidade nesses ambientes já estava semelhante àquela encontrada nas áreas referências, assim mostra que essas são fonte de inóculo para aquele tecnossolo, além de ser possível ver a capacidade de adaptação desses microrganismos às condições adversas que esse material possa ter. Já Marques et al. (2017) ao fazer bioensaios laboratoriais avaliando um rejeito da mina Serra Azul, em São Joaquim das Bicas, Minas Gerais, Brasil, observaram que o rejeito de mineração de ferro apresenta condições mineralógicas propícias para o crescimento microbiano, e que a presença de cianobactérias, algas, actinobactérias e bactérias indicam o alto potencial que esses organismos têm nos processos de sucessão ecológica para recuperação de ecossistemas após a mineração. Ambos os trabalhos corroboram com os resultados encontrados em nosso trabalho, em que o rejeito não foi um empecilho para os FMAs, assim como para os outros organismos inoculados. No entanto, é um material que necessita de incremento de matéria orgânica e nutrientes disponíveis para ter uma microbiota ativa.

A densidade de esporos e a glomalina total não apresentaram nenhum efeito significativo em relação aos fatores estudados (TABELA 2). Já o micélio total apresentou diferença significativa apenas para o efeito inoculação FMAs (TABELA 2). Os tratamentos que não receberam esporos de fungos micorrízicos apresentaram maior valor de micélio extrarradicular (TABELA 2). Dentre as estruturas do fungo micorrízico arbuscular na planta hospedeira, o micélio extrarradicular é o que apresenta a maior extensão e biomassa em comparação com as demais estruturas (esporos, vesículas ou arbúsculos). Portanto, devido sua

importância na eficiência da associação, pode-se inferir que a sua quantificação é altamente desejável para se obter um conhecimento mais completo de todo o sistema simbiótico. O maior valor para micélios no tratamento sem inoculação pode ser devido à contagem de outros fungos. A ausência de efeito na densidade de esporo e na glomalina podem ser em resposta ao tempo curto de estudo, 60 dias, fato já discutido em estudo sobre esse assunto (BARBOSA et al., 2019).

A atividade hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) não foi influenciada pela inoculação com FMAs ( $p > 0,05$ ). Porém foi afetada pela inoculação e apresentou maior média nos tratamentos que não receberam a suspensão celular microbiana, sendo as menores médias no tratamento com maior carga celular microbiana, ou seja, no tratamento ( $10^{-1}$ ) (TABELA 2). A FDA é uma forma de estimar a atividade total das enzimas hidrolíticas do solo, desse modo pode ser utilizada como um método sensível de observação às mudanças aplicadas ao manejo do solo, mesmo em tecnossolos reabilitados após a mineração de ferro (SILVA et al., 2018). Muitos estudos indicam que a persistência de enzimas no solo varia de poucos dias a vários anos, varia em função da profundidade do solo, temperatura, acidez, distribuição granulométrica e matéria orgânica (BASTIDA et al., 2006; LIANG et al., 2014) além da disponibilidade de nutrientes, pois controlam a produção enzimática dos microrganismos (CHROST, 1991). No rejeito ainda é insuficiente o número de informações que possa caracterizar quais são os atributos que mais podem afetar as atividades enzimáticas. Nesse trabalho mostra que onde houve maior C-BM e a maior matéria seca total houve as maiores atividades da FDA, o que pode indicar que o aumento na microbiota e a exsudação das raízes pelo crescimento da planta estimulou as atividades hidrolíticas no solo. Como as atividades de FDA são fortemente dependentes do conteúdo de matéria orgânica e da quantidade de exsudados das raízes (CIARKOWSKA et al., 2014) o maior valor no tratamento (0) (TABELA 2) pode ser explicado pelo aumento da massa seca da raiz (TABELA 3).

Os maiores valores de massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e a massa seca total (MST) foram observados no tratamento (0), ou seja, nos tratamentos que não receberam nenhum valor de diluição de células microbianas, já os demais tratamentos apresentaram médias inferiores semelhantes entre si ( $p < 0,05$ ) (TABELA 3). Observa-se que o fator inoculação com FMAs não foi significativo para essas variáveis, portanto a massa seca não foi influenciada pela inoculação (TABELA 3).

A adubação com fontes prontamente disponíveis pode ter favorecido o desenvolvimento da planta, principalmente, nos tratamentos que não receberam inoculação com células

microbianas, ou seja, o tratamento (0) como na (Tabela 3), visto que o rejeito não retém nutrientes devido às suas características, como os elevados teores de silte e areia, o baixo teor de matéria orgânica, o pH elevado e a alta concentração total de metais pesado e sódio (CARMO et al., 2017; QUEIROZ et al., 2018; SEGURA et al., 2016).. Desse modo, com aumento de massa de raízes, conseqüentemente, maior produção de exsudatos que favoreceu o desenvolvimento da microbiota na rizosfera e gerou maiores valores de C-BM (TABELA 1). Mesmo em rejeito estéril pode haver uma carga microbiana resistente e até mesmo juntamente com os esporos de FMAs inoculados. Nos demais tratamentos, em que houve inoculação com células microbianas, observou-se menores valores de massa seca. Esse fato pode ser explicado pelo processo de imobilização microbiana. O rejeito apresenta-se com baixos teores de nutrientes disponíveis e baixos teores de matéria orgânica, portanto baixo fornecimento energético para os microrganismos.

Considerando os resultados do presente estudo que demonstram o efeito da inoculação no aumento da biomassa microbiana, principalmente, na diluição ( $10^{-9}$ ), no entanto esse efeito ainda não refletiu na produção de matéria seca da parte aérea e de raízes. Andrade et al. (2017) mostraram que apesar do rejeito de mineração de ferro não impossibilitar o crescimento das plantas, em comparação ao solo, esse tecnossolo não foi promissor para desenvolvimento de arroz, o que corroboram com com os presentes resultados em *Urochloa brizantha*. Mas, além das melhorias no crescimento vegetal, esses tecnossolos devem apresentar características que favoreçam a sucessão ecológica para recuperação dos ecossistemas e dos serviços por eles prestados, principalmente, pelo crescimento de um microbioma adequado e diverso.

#### **4 CONCLUSÕES**

Os fungos micorrízicos arbusculares favoreceram o aumento da biomassa microbiana do solo e a colonização micorrízica, mas não foram capazes de promover aumento do crescimento da *Urochloa brizantha*.



## REFERÊNCIAS

- AHIRWAL, J. et al. Reclamation of coal mine spoil and its effect on Technosol quality and carbon sequestration: a case study from India. **Environmental Science and Pollution Research**, 2018.
- AHIRWAL, J.; MAITE, S. K., Assensment of soil carbono poll, carbono sequestration and soil CO<sub>2</sub>, flux in unreclaimed and reclaimed coal mine spoils. **Environmental Earth Sciences**, v. 9, p. 77, 2018.
- ALMEIDA, C. A. et al. Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin e Brazil. **Chemosphere**, v. 209, p. 411–420, 2018.
- ANDRADE, G.F. et al. Agricultural use of Samarco's spilled mud assessed by rice cultivation: A promising residue use? **Chemosphere**, v. 193, p. 892–902, 2018.
- BARBOSA, M. V. et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and *Urochloa brizantha*: symbiosis and spore multiplication. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, Aug, 2019.
- BAREA, J. M.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 81, p. 343–351, 2002.
- BASTIDA, F. et al. Microbiological activity in a soil 15 years alter its devegetation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 2503–2507, 2006a.
- BRADFORD, M. M. A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 2, p. 248-254, 1976.
- CARMO, F. F. et al. Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. **Perspective in Ecolody and Conservation.**, v. 15, p. 145–151, 2017.
- CARNEIRO, L. F. et al. Fontes, doses e modos de aplicação de fósforo na interação fósforo-zinco em milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1133-1141, Aug., 2008.
- CHROST, R.J. Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzyme. In: Chrost, R.J. (Ed.), *Microbial Enzyme in Aquatic Environment*. **Springer-Verlog**, New York, p. 29–53, 1991.
- CIARKOWSKA, K.; SOŁEK-PODWIKA, K.; WIECZOREK, J. Enzyme activity as an indicator of soil-rehabilitation processes at a zinc and lead ore mining and processing área. **Journal of Environmental Management**, v. 132, p. 250-256, 2014.
- DENG, H. et al. Resistance and resilience of Cu-polluted soil after Cu perturbation, tested by a wide range of soil microbial parameters. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 70, p. 293–304, 2009.

DICK, R.P.; BREAKWELL, D.P.; TURCO, R.F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J.W., JONES, A.J. (Eds.), *Methods for Assessing Soil Quality*. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, p. 247–272, 1996.

ECHEVARRIA, G.; MOREL, J.L. Technosols of mining areas, *Tópicos em Ciência do Solo*, v. 9, p. 1-20, 2015.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 1039–1042, 2011.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, Manchester, v. 46, p. 235-246, 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Hoboken, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.

GUMIERE, T. et al. Phosphorus source driving the soil microbial interactions and improving sugarcane development. **Scientific Reports**, Cham, Springer, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Laudo técnico preliminar. Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais**, novembro, 2015.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

KUJUR, M., PATEL, A. Comparative assessment of microbial biomass and soil enzyme activities as potential indicators of soil quality in different mine spoil. **Journal Environ**, Odisha, v. 1, p. 67–74, 2012.

LIANG, Q. et al. Effects of 15 years of manure and mineral fertilizers on enzyme activities in particle-size fractions in a north China plain soil. **European Journal of Soil Biology**, v. 60, p. 112–119, 2014.

LI, X. et al. Establishing microbial diversity and functions in weathered and neutral Cu–Pb–Zn tailings with native soil addition. **Geoderma**, p. 247–248, 2015.

MALLON, C.A. et al. Resource pulses can alleviate the biodiversity-invasion relationship in soil microbial communities. **Ecology**, New York, v. 96, p. 915-926, 2015.

MARQUES, A. R. Biological re-colonization of sub-aerial boundaries of an ‘artificial construction-niche’ contaminated by iron mine tailings: laboratory bioassays. **Environmental Earth Sciences**, v. 76 n. 480, p. 1-14, 2017.

MELLONI, R.; CARDOSO, E.J.B.N. Quantificação de micélio extraradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas e endófitos. I. Método empregado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 53-8, 1999.

MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia Bioquímica do Solo**. 2. Ed. Lavras: Ed. UFLA, 2006.

OMACHI, C.Y. et al. Atlantic Forest loss caused by the world's largest tailing dam collapse (Fundão Dam, Mariana, Brazil). **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, v. 12, p. 30-34, 2018.

PASAYAT, M.; PATEL, A.K. Microbial population dynamics influence basal soil respiration and it's impact on mine spoil genesis in chronosequence iron mine overburden spoil. **JIPBS**, v. 3, p. 123–140, 2016.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesiculararbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.

PRADO, I. G. O. et al. Revegetation process increases the diversity of total and arbuscular mycorrhizal fungi in areas affected by the Fundão dam failure in Mariana, Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 141, p. 84–95, 2019.

QUEIROZ, H. M. et al. The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? **Science of the Total Environment**, p. 637–638, 2018.

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

SILVA, A. O. et al. Soil microbiological attributes indicate recovery of an iron mining area and of the biological quality of adjacent phytophysionomies. **Ecological Indicator**, v. 93, p. 142–151, 2018.

SPARLING, G.P.; WEST, A.W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: Calibration in situ using microbial respiration and <sup>14</sup>C labeled cells. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 20, p. 337-343, 1988.

THAVAMANI, P. et al. Microbes from mined sites: Harnessing their potential for reclamation of derelict mine sites. **Environmental Pollution**, v. 230, p. 495–505, 2017.

VANCE, E. D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method formeasuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, p. 03–707, 1987.

VAN ELSAS, J.D. et al. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 109, p. 1159–1164, 2012.

VERBRUGGEN, E. et al. Do arbuscularmycorrhizal fungi stabilize litter-derived carbon in soil?. **Journal of Ecology**, v. 104, p. 261–269, 2016.

WERTZ, S. et al. Decline of soil microbial diversity does not influence the resistance and resilience of key soil microbial functional groups following a model disturbance. **Environmental Microbiology**, Hoboken, v. 9, p. 2211–2219, 2007.

WERTZ, S. et al. Maintenance of soil functioning following erosion of microbial diversity. **Environmental Microbiology, Hoboken**, v. 8, p. 2162–2169, 2006.

WOLLUM, A.G. Cultural methods for soil microorganisms. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (ed) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. **Soil Science Society of America**, 2 ed, USA: 1982, p.781-802.

WRIGHT, S.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 198, n. 1, p. 97-107, 1998.

### LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Carbono da biomassa microbiana (C-BM) de amostras de rejeito e colonização micorrízica (CM%) de raízes de *Urochloa brizantha* após seu cultivo em rejeito de mineração de ferro com a presença e ausência de inoculação de FMAs em diferentes gradientes de concentração de células microbianas.

Diluição	C-BM $\mu\text{g g}^{-1}$		Colonização Micorrízica %	
	----- Inoculação com FMAs -----			
	Com	Sem	Com	Sem
$10^{-1}$	127,46 A bc	91,86 A a	24,25 A a	9,0 B ab
$10^{-3}$	109,47 A bc	51,47 A a	20,75 A a	6,92 B bc
$10^{-6}$	66,33 A c	93,20 A a	19,25 A b	9,32 B a
$10^{-9}$	280,38 A a	94,50 B a	6,17 A d	5,35 A c
0	185,87 A b	111,58 B a	10,52 A c	6,42 B c
CV%	35,04		8,61	

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha e minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2 - Densidade de esporos, atividade hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), glomalina facilmente extraível e micélio extrarradicular total após o cultivo de *Urochloa brizantha* em rejeito de mineração de ferro com a presença e ausência de inoculação de FMAs em diferentes gradientes de concentração de células microbianas.

Diluição	D. esporos Nº 50ml <sup>-1</sup>	FDA µg fluoresceína g <sup>-1</sup>	Glomalina mg g <sup>-1</sup>	Micélio m g <sup>-1</sup>
10 <sup>-1</sup>	36,00 a	10,39 b	0,95 a	10,03 a
10 <sup>-3</sup>	32,86 a	14,91 ab	0,99 a	8,41 a
10 <sup>-6</sup>	29,38 a	12,88 ab	1,0 a	9,25 a
10 <sup>-9</sup>	35,00 a	15,35 ab	0,91 a	8,59 a
0	28,13 a	17,17 a	0,85 a	12,91 a
Com	34,05 a	14,31 a	0,91 a	7,44 b
Sem	30,50 a	13,97 a	0,97 a	12,22 a
CV%	33,98	26,41	11,37	9,29

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Tabela 3 - Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) de *Urochloa brizantha* após seu cultivo em rejeito de mineração de ferro com a presença e ausência de inoculação de FMAs em diferentes gradientes de concentração de células microbianas.

Diluição	MSPA g	MSR g	MST g
10 <sup>-1</sup>	3,46 b	1,45 b	4,91 b
10 <sup>-3</sup>	3,63 b	1,43 b	5,06 b
10 <sup>-6</sup>	3,28 b	1,31 b	4,59 b
10 <sup>-9</sup>	3,70 b	1,48 b	5,18 b
0	6,0 a	2,76 a	8,75 a
Com	3,87 a	1,70 a	5,58 a
Sem	4,14 a	1,66 a	5,80 a
CV%	8,26	18,17	8,49

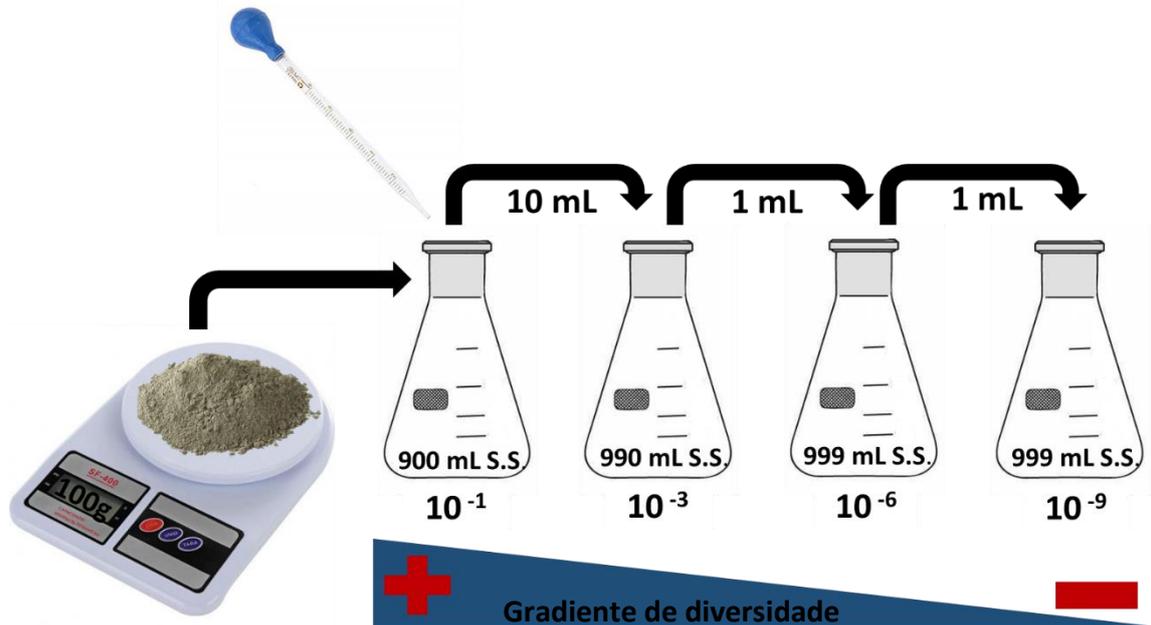
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

**MATERIAL SUPLEMENTAR**

Figura S1 - Foto do local de retirada do solo utilizado para geração do gradiente de densidade e diversidade microbiana



Figura S2 - Esquema do método de diluição para extinção para esse experimento.



S.S.: Solução salina 0,85%

Tabela S1 - Valores do quadrado médio da ANOVA para as variáveis densidade de esporos, atividade hidrolítica do diacetato de fluoresceína (FDA), glomalina facilmente extraível, massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), micélio extrarradicular total, carbono da biomassa microbiana (C-BM) e colonização micorrízica (CM%) avaliadas sob dois fatores: diluições e inoculação com FMAs após o cultivo de *Urochloa brizantha* em rejeito de mineração de ferro.

Causas de Variação (FV)	Quadrado Médio (QM)								
	CM	D. esporos	Glomalina	Micélio	C-BM	FDA	MSPA	MSR	MST
Diluição (D)	172,55 *	94,58	0,00	26,81	17309,9 8*	53,85 *	0,10*	0,17 *	0,12 *
Inoc. FMAs (I)	843,34 *	126,0 2	0,01	229,10 *	42747,3 4*	1,13	0,20	0,14	0,01
D x I	88,65*	128,0 9	0,01	19,55	12026,6 8*	18,59	0,00	0,05	0,01
Erro	1,06	120,2 4	0,01	11,26	1803,54	13,95	0,02	0,04	0,02
Coefficiente de Variação (CV%)	8,61	33,98	11,37	34,12	35,04	26,41	8,59	18,0 8	8,70

\*Significativo a 5% ( $p < 0,05$ ).

Tabela S2 - Contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de bactérias “totais” cultivadas em meio de cultura GNA (WOLLUM, 1982) após a filtração das suspensões em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ .

Diluições	Média do número de colônias	Total UFC $\text{g}^{-1}$
$10^{-1}$	> 300	$3,0 \times 10^3$
$10^{-3}$	> 300	$3,0 \times 10^1$
$10^{-6}$	12	$1,2 \times 10^{-03}$
$10^{-9}$	0	0

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os atributos químicos e físicos do rejeito, desde que adubados, não foram impedimento para o desenvolvimento de planta *Urochloa brizantha*. No entanto, é um material que necessita de incremento de matéria orgânica, nutrientes disponíveis e de uma microbiota ativa.

Os condicionadores utilizados não foram eficientes em favorecer o crescimento de *Urochloa brizantha* e a aplicação de composto orgânico e carvão promoveram aumento no pH e na disponibilidade de manganês que podem ter afetado o crescimento da planta.

Os fungos micorrízicos arbusculares favoreceram o aumento da biomassa microbiana do solo e a colonização micorrízica, mas não foram capazes de promover aumento do crescimento da *Urochloa brizantha*.

O aumento na atividade biológica no solo e da alta diversidade de grupos funcionais associados a diversidade de plantas, principalmente, as nativas são importantes fatores que contribuirão com a formação de um novo ecossistema com equilíbrio ecológico e que seja capaz de reestabelecer os principais serviços ecossistêmicos nesse tecnossolo.

Com isso, mais pesquisas devem ser realizadas em com rejeito de mineração de ferro, principalmente, por meio de aplicação de processos de revegetação com vegetações que possam ser capazes de incorporar carbono no sistema e, também, inoculadas com microrganismos que auxiliem no crescimento vegetal com o intuito de avaliar a sobrevivência das plantas e a qualidade do tecnossolo após esse processo.

## **AGRADECIMENTO**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro para execução desse projeto.