UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

RAMON NEGRÃO SANTOS JUNIOR

FISIOLOGIA DE ACESSOS DE *Jatropha curcas* L. CULTIVADOS EM SOLO CONTENDO LAMA DO RIO DOCE

VITÓRIA/ES
2018

RAMON NEGRÃO SANTOS JUNIOR

FISIOLOGIA DE ACESSOS DE *Jatropha curcas* L. CULTIVADOS EM SOLO CONTENDO LAMA DO RIO DOCE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof[a]. Dr[a]. Diolina Moura Silva

VITÓRIA/ES

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Santos Junior, Ramon Negrão, 1991-
S237f Fisiologia de acessos de Jatropha curcas L. cultivados em solo contendo lama do Rio Doce / Ramon Negrão Santos Junior. – 2018.
65 f. : il.

Orientador: Diolina Moura Silva.
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Fitorremediação. 2. Fotossíntese. 3. Clorofila. 4. Análise de fluorescência. 5. Antioxidantes. 6. Pinhão-manso. I. Silva, Diolina Moura. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

Elaborado por Saulo de Jesus Peres – CRB-6 ES-676/O

Ramon Negrão Santos Junior

"Fisiologia de acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solo contendo lama do Rio Doce"

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Aprovada em 31 de julho de 2018.

Comissão Examinadora:

Prof[a]. Dr[a]. Diolina Moura Silva (UFES)
Orientadora e Presidente da Comissão

Prof[a]. Dr[a]. Diolina Moura Silva
Por Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto (UFES)
Examinador Interno

Prof[a]. Dr[a]. Maria Tereza Weitzel Dias Carneiro Lima (UFES)
Examinador Externo

Prof. Dr. Sávio da Silva Berilli (IFES)
Examinador Externo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema da cadeia transportadora de elétrons (CTE), localizada na membrana do tilacoide, mostrando os três principais componentes do complexo fotossintético (FSII, Cb_6f e FSI). (Fonte: Govindjee et al., 2017). 20

Figura 2 - Experimento desenvolvido na área experimental da Botânica na UFES, Vitória, ES. 23

Figura 3 – Esquema da disposição dos tratamentos em nível de solo, impostos aos cinco acessos de *Jatropha curcas* L. 24

Figura 4 – Temperatura máxima ($T_{máx}$), temperatura mínima (T_{min}) e precipitação dos meses de setembro de 2017 a março de 2018. Fonte: Dados do INMET adaptados. 24

Figura 5 - Teores de Clorofila (índice SPAD) de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1).. 33

Figura 6 - Correlação entre clorofila *a* (a), clorofila *b* (b), carotenóides totais (c) e clorofila *a+b* (d) em mg g MS^{-1} com o índice SPAD, n = 35 amostras de 5 diferentes acessos de *Jatropha curcas* L. O coeficiente de correlação (r) seguido por ** é significativo em nível de 1% pela distribuição t de Student. 36

Figura 7 - Análise de componentes principais (PCA) de 11 parâmetros do teste-JIP de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce, aos 50 DAT. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). 39

Figura 8 – Densidade de centros de reação fotossintéticamente ativos do FSII (RC/ABS) e eficiência das reações fotoquímicas do FSII (φP_0/1- φP_0) de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5). 41

Figura 9 – Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores de elétrons do intersistema (φE_0) e probabilidade (t=0) que um éxciton capturado tem em mover um elétron na CTE após Q_A^- (ψE_0) de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo

três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5). 42
Figura 10 – Eficiência das reações fotoquímicas após a redução da Q_A^- [$\psi_{E0}/(1-\psi_{E0})$] e desempenho das reações de oxi-redução do FSI [$\delta_{R0}/(1-\delta_{R0})$] de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5). 43
Figura 11 – Índice de desempenho potencial do FSII (PI_{abs}) e índice de desempenho fotoquímico total (PI_{total}) de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1).. 44
Figura 12- Parâmetros da fluorescência da clorofila a obtidos pela técnica de pulso de amplitude modulada (PAM).. 45
Figura 13 – Parâmetros da fluorescência da clorofila a. $Y_{(II)}$: rendimento quântico do FSII , $Y_{(NPQ)}$: rendimento quântico de dissipação de energia regulada e qN: coeficiente de extinção não fotoquímica. Parâmetros determinados utilizando folhas de *Jatropha curcas* L.. 46
Figura 14 – Taxa de fotossíntese líquida (A), eficiência intrínseca no uso da água (A/g_s), taxa de transpiração (E) e eficiência no uso da água (A/E) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. aos 50 DAT..... 47
Figura 15 – Taxa de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E) e eficiência no uso d'água (A/E) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. aos 80 DAT... 48
Figura 16 - Taxa de fotossíntese líquida (A), taxa de transpiração (E), eficiência intrínseca no uso da água (A/gs) e eficiência no uso da água (A/E) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. sob três concentrações de lama do Rio Doce.. 49
Figura 17 - Taxa de fotossíntese líquida (A), taxa de transpiração (E), eficiência intrínseca no uso da água (A/g_s) e eficiência no uso da água (A/E) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L.. 50
Figura 18 – Atividade das enzimas peroxidase do ascorbato – APX (a) e Catalase – CAT (b) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. submetidos a três concentrações de lama do Rio Doce. 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Acessos de *Jatropha curcas* L. utilizados neste trabalho. 22
Tabela 2 - Condições ambientais nos dias da coleta de dados do experimento.. 25
Tabela 3 - Resultado das análises químicas das condições de solos impostas neste experimento (T_0, T_1 e T_2) e também da lama pura coletada ao fundo do Rio Doce ($T_{100\%}$). 25
Tabela 4 – Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila a calculados pelo teste-JIP. ... 28
Tabela 5 –Parâmetros da fluorescência modulada obtidos pelo Imaging-PAM. 29
Tabela 6 –Teores de macro e micronutrientes em folhas de *Jatropha curcas* L. de cinco acessos diferentes, aos 170 DAT. 32
Tabela 7 - Teores de As, Cd e Pb em folhas de *Jatropha curcas* L. de cinco acessos diferentes, aos 170 DAT. 32
Tabela 8 - Matriz de correlação entre pigmentos extraídos (mg g MS^{-1}) e o teor de clorofila (u.r. SPAD). Onde: Chl *a* = clorofila *a*, Chl *b* = clorofila *b*, Chl *a*+*b* = clorofilas totais e (*x*+*c*) = carotenoides totais. 34
Tabela 9 – Concentrações de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofilas totais (Chl *a*+*b*), carotenoides (*x*+*c*) em mg g MS^{-1} e as razões entre clorofila *a* e *b* (Chl *a/b*) e clorofilas totais e carotenoides (Chl *a*+*b*/(*x*+*c*)) de plantas cinco acessos de *Jatropha curcas* L. sob três diferentes concentrações de lama do Rio Doce, avaliados aos 50 DAT. 35
Tabela 10 - Concentrações de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofilas totais (Chl *a*+*b*), carotenoides (*x*+*c*) em mg g MS^{-1} e as razões entre clorofila a e b (Chl *a/b*) e clorofilas totais e carotenoides (Chl *a*+*b*/(*x*+*c*)) de plantas cinco acessos de *Jatropha curcas* L. sob três diferentes concentrações de solos contaminados com resíduos de mineração, avaliados aos 170 DAT. . 37
Tabela 11 – Efeito das alterações nos índices de rendimento e desempenho fotoquímicos em função das três diferentes concentrações de lama do Rio Doce aos 50 DAT em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. 39
Tabela 12 - Anova das variáveis de pigmentos extraídos em Novembro de 2017. 63
Tabela 13 - Anova das variáveis de trocas gasosas por período experimental. 64
Tabela 14 - Anova das variáveis de fluorescência modulada ao fim do período experimental. 65

LISTA DE ABREVIATURAS

A – Taxa de fotossíntese líquida

A/E – Eficiência no uso da água

A/g_s – Eficiência intrínseca no uso da água

APX – Peroxidase do ascorbato

CAT – Catalase

C_i – Carbono interno

Chl *a* – Clorofila *a*

Chl *b* – Clorofila *b*

Chl (*a*+*b*) – Clorofilas totais

CTE – Cadeia transportadora de elétrons

DAT – Dias após início do tratamento

DMSO – Dimetilsulfóxido

ERO – Espécies reativas de oxigênio

FSI – Fotossistema 1

FSII – Fotossistema 2

g_s – Condutância estomática

MS – Massa seca

PCA – Análise de componentes principais

Q_A^- - Quinona *a* reduzida

T = 0 – Tempo no instante zero.

T_0 – Substrato constituído de terra e areia na razão 2:1 (controle)

T_1 – Substrato contendo 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1)

T_2 – Substrato contendo 30% de lama do Rio Doce e 70% de terra e areia (2:1)

v/v – Concentração em volume/volume

(x+c) – xantofilas e carotenoides

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo, avaliar os efeitos de diferentes concentrações de lama do Rio Doce, sobre a fluorescência da clorofila *a*, as trocas gasosas, os teores de pigmentos e a atividade de enzimas antioxidantes, de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. Os dados foram submetidos ao delineamento fatorial 5x3, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott em nível de 5%. A lama foi coletada 15 meses após o rompimento da barragem de Fundão/MG, e, em seguida, os acessos NEF 04, NEF 05, NEF 09, NEF 12 e NEF 17, foram submetidos a três diferentes concentrações da lama (0, 10 e 30% v/v). As medidas de fluorescência transiente da clorofila *a*, trocas gasosas e teores de pigmentos foram realizadas mensalmente entre novembro de 2017 e março de 2018. Neste último mês, foram realizadas as medidas de fluorescência modulada, atividade das enzimas antioxidantes e dos teores de macro e micronutrientes e As, Cd e Pb de folhas. Os parâmetros fotoquímicos que melhor evidenciaram os efeitos da lama do Rio Doce durante o desenvolvimento das plantas foram o rendimento quântico do transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores de elétrons do intersistema (φE_0), a probabilidade (em t=0) que um éxciton capturado tem em mover um elétron na cadeia transportadora de elétrons após a quinona *a* (ψE_0), a densidade de centros de reação fotossintéticamente ativos do fotossistema II (RC/ABS), o índice de desempenho potencial do fotossistema II (PI_{abs}) e o índice de desempenho fotoquímico total (PI_{total}). Os PI_{abs} e PI_{total} apresentaram um aumento inicial quando condicionados a 30% de lama do Rio Doce nas plantas do NEF 05, NEF 09 e NEF 12, porém essa diferença tornou-se inexistente ao final do experimento. Não foram observadas diferenças entre o controle (0%) e 30% da lama do Rio Doce na fluorescência modulada, teores de clorofila, taxa de fotossíntese líquida (A) e transpiração (E). Contudo, houveram alterações na atividade da catalase em função das diferentes concentrações de lama nas plantas dos acessos NEF 04 e NEF 05. Não foram encontrados teores significativos de As, Cd e Pb nas folhas de *Jatropha curcas* L. em nenhum dos acessos avaliados. Entretanto nos indivíduos condicionados a 30% de lama do Rio Doce, foram encontrados valores de ferro (Fe) acima do recomendado, especialmente em NEF 12. Estes resultados demonstram que *Jatropha curcas* L. possui mecanismos que permitem a bioacumulação de Fe, e, proporcionam a tolerância em meios contendo a lama do Rio Doce, pós rompimento da barragem

Palavras-chave: Fitorremediação, Fotossíntese, Fluorescência da clorofila *a*, Sistema antioxidante.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of different concentrations of mud from the Doce River on Chlorophyll *a* fluorescence, gas exchange, pigment content and antioxidant enzyme activity, from five accessions of *Jatropha curcas* L. The mud was collected 15 months after the dam of Fundão/MG, and then the accesses NEF 04, NEF 05, NEF 09, NEF 12 and NEF 17, were submitted to three different concentrations of mud (0, 10 and 30 %). The measurements of Chlorophyll *a* fluorescence transient, gas exchange and pigment contents were performed monthly between November 2017 and March 2018. In this last month, measurements were made of modulated fluorescence, activity of antioxidant enzymes and of macro and micronutrient contents and As, Cd and Pb from leaves. The photochemical parameters that best evidenced the effects of the Doce River mud during plant development were the quantum yield of the electron transport of Q_A^- to the electron acceptors of the intersystem (φE_0), the probability (at t = 0) that an exciton captured has to move an electron in the electron carrier chain after the quinone a (ψE_0), the photosynthetic active reaction center density of photosystem II (RC/ABS), the performance index of photosystem II (PI_{abs}) and the index of total performance (PI_{total}). The PI_{abs} and PI_{total} presented an initial increase when conditioned to 30% of Doce River mud in the NEF 05, NEF 09 and NEF 12 plants, but this difference did not exist at the end of the experiment. No differences were observed between the control (0%) and 30% of the Doce River mud in modulated fluorescence, Chlorophyll content, liquid photosynthesis rate (A) and transpiration (E). However, there were alterations in catalase activity as a function of the different concentrations of mud in the plants of the NEF 04 and NEF 05 accessions. No significant levels of As, Cd and Pb were found in the leaves of *Jatropha curcas* L. in any of the evaluated accessions. However, in the individuals conditioned to 30% of Doce River mud, values of Fe above recommended levels were found, especially in NEF 12. These results demonstrate that *Jatropha curcas* L. have mechanisms that allow the bioaccumulation of Fe, and, they provide the tolerance in media containing the mud of the Doce River, after dam rupture.

Keywords: Phytoremediation, Photosynthesis, Chlorophyll *a* fluorescence, Antioxidant system.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16
2.1 PINHÃO-MANSO (*Jatropha curcas* L.) 16
2.2 ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO/MG: O DERRAME DA LAMA DA SAMARCO SOBRE A BACIA DO RIO DOCE 17
2.3 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* 18
3. OBJETIVOS 21
3.1 OBJETIVO GERAL 21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 21
4. MATERIAL E MÉTODOS 22
4.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTIVO 22
4.2 ANÁLISES QUÍMICAS DO SOLO E DAS FOLHAS 25
4.3 ÍNDICES DE CLOROFILA 26
4.4 MEDIDAS DE FOTOSSÍNTESE 27
4.4.1 Fluorescência transiente da clorofila *a* 27
4.4.2 Fluorescência Modulada por Imagem 28
4.4. 3 Trocas Gasosas 29
4.5 ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES 29
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA 30
5. RESULTADOS 31
5.1 ANÁLISE DOS MACRO E MICRONUTRIENTES E CONTEÚDO DE As, Cd e Pb EM FOLHAS DE *Jatropha curcas* L. 31
5.2 ÍNDICES DE CLOROFILA 33
5.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS E SELEÇÃO DOS PARÂMETROS DE MAIOR REPRESENTATIVIDADE DA FLUORESCÊNCIA TRANSIENTE 38
5.4 FOTOSSÍNTESE 39
5.4.1 Fluorescência Transiente da Clorofila *a* 39
5.4.2. Fluorescência Modulada 45
5.4.3 Trocas Gasosas 46
5.4 ENZIMAS ANTIOXIDANTES 50
6. DISCUSSÃO 51
7. CONCLUSÃO 56

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 57
9. APÊNDICE 63

1. INTRODUÇÃO

Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae), é um arbusto perene, conhecido popularmente como pinhão manso. Nativo do México e América Central (HELLER, 1996; PECINA-QUINTERO et al., 2014) é cultivado em regiões tropicais e subtropicais. Suas sementes contêm entre 27 e 40% de óleo, com alto potencial para a produção de biodiesel (GAO et al., 2010, GHAVRI; SINGH, 2010). Tem sido amplamente utilizado para recuperação de áreas degradadas e, mais recentemente, pesquisas demonstraram a facilidade de transferência dos metais pesados absorvidos desde as raízes até as partes aéreas (Cd, Ni e Zn) ou facilidade de bioacumulação nas células das raízes (Cu, Cr e Pb) demonstrando o valor prático substancial de fitorremediação (WU et al., 2011; CHANG et al. 2014; CHAVES; SOUZA, 2015; MARRGCO-NEGRETE et al., 2015; PANDEY et al., 2016).

As plantas, quando se desenvolvem sob solos contendo rejeitos de mineração, aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). O excesso de EROs pode perturbar o equilíbrio intracelular promovendo estresse oxidativo principalmente nas cadeias de transporte de elétrons, na mitocôndria e no cloroplasto (SHAHID et al., 2014). As alterações provocadas pelas EROs no cloroplasto, podem ser facilmente detectadas usando-se a técnica da fluorescência da clorofila (MAXWELL; JOHNSON, 2000; KALAJI et al., 2016). Isto porque, o aparato fotossintético, sobretudo o fotossistema II (FSII), é bastante sensível as condições ambientais (TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2008). Também é possível comprovar essas alterações usando-se a análise da atividade das enzimas que constituem o sistema de defesa antioxidante (GAO et al., 2008) como as catalases (CAT) e peroxidases do ascorbato (APX) (JIANG; ZHANG, 2002).

Em novembro de 2015, o rompimento da barragem de Fundão, no município de Mariana/MG, provocou o maior desastre ambiental do Brasil no setor de mineração, despejando cerca de 34 milhões de metros cúbicos de rejeitos de mineração na bacia do Rio Doce (IBAMA, 2016). Ademais, os rejeitos gerados por atividades como escavação e mineração estão entre os principais poluentes do solo (NAWAB et al., 2016). A onda de sedimentos, constituído por partículas finas, provenientes da extração de ferro (Fe), ocasionou danos a vegetação, às propriedades rurais e toda biota localizada às margens do Rio Doce (VIANA; COSTA, 2016, MINAS GERAIS, 2016).

Em consequência dos danos provocados pelo rompimento da barragem a toda biota, bem como as áreas de produção às margens do rio Doce, ficou evidente a necessidade de um

plano de recuperação para as áreas afetadas e a escolha das espécies a serem utilizadas neste processo de revegetação é imprescindível (SCHAEFER et al., 2016).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PINHÃO-MANSO (*Jatropha curcas* L.)

Jatropha curcas L. espécie conhecida no Brasil como pinhão-manso (Euphorbiaceae), é originária do México e da América Central, sendo cultivada em diversos países da África, Ásia e América latina, por, inicialmente, ter se destacado na produção de bicombustíveis (HELLER, 1996). Além da qualidade e do alto teor de óleo nas sementes, características como a perenidade, produção e por se tratar de uma espécie não alimentar, torna-a uma excelente matéria prima para estes fins (SATURNINO et al., 2005).

O pinhão-manso é um arbusto que pode atingir até cinco metros de altura, caducifólio, possui folhas simples, glabras, filotaxia alterna, com cinco a sete lobos por folha e nervuras esbranquiçadas. As folhas jovens apresentam coloração avermelhada podendo ficar arroxeada, cobertas por lanugem branca. O caule é liso, de lenho mole e com diâmetro aproximado de 20 cm. Possui raízes curtas e pouco ramificadas. As inflorescências são formadas na parte terminal dos ramos e apresentam flores femininas e masculinas, esta última em maior proporção. Os frutos são cápsulas, de formato elíptico, triloculares com uma semente por cavidade. É inicialmente verde, passando por amarelado até o estádio de maturação, o qual possui coloração negra (HELLER, 1996; SATURNINO et al., 2005; ROCHA, 2011).

É considerada uma planta rústica por ser altamente adaptável a ambientes adversos, possuindo grande aptidão para áreas degradadas com déficits hídricos ou sem irrigação (ROCHA, 2011). Por não requerer grandes tratos culturais, torna-se uma boa alternativa para agricultura familiar (MARTINS et al., 2010). Nos últimos anos, pesquisas tem revelado a alta capacidade do pinhão-manso em tolerar e se desenvolver em solos de baixa fertilidade e altamente poluídos seja por cobre (Cu), zinco (Zn), mercúrio (Hg), cádmio (Cd), níquel (Ni), cromo (Cr) e chumbo (Pb) (GAO et al., 2008; CHAVES et al., 2010; WU et al., 2011, CHANG et al., 2014; MARRUGO-NEGRETE et al., 2015). Sendo assim, *Jatropha curcas* L. tem mostrado grande capacidade em recuperar áreas contaminadas e degradadas, e, alguns estudos apontam que essa capacidade de se estabelecer sob condições adversas está relacionada ao mecanismo de defesa antioxidante da espécie, que promove a adaptação ao meio com esses metais (GAO et al., 2008). Esse mecanismo de defesa permite ao pinhão-manso grande capacidade de bioacumular e consequentemente de fitorremediar estes solos contaminados, tornando-o uma espécie importante para estratégias de recuperação de áreas contaminadas. Outro fator importante é que por não se tratar de uma cultura alimentar, os metais pesados

extraídos e armazenados na planta não seriam transferidos para a cadeia alimentar humana, podendo ser explorados para uso comercial (MARQUES; DO NASCIMENTO, 2013; HIRAKI, 2016). E, por fim, as plantas de pinhão-manso são capazes de acumular os metais pesados em suas partes aéreas (CHAVES et al., GHAVRI; SINGH, 2010), característica desejável em espécies fitorremediadoras (HIKARI, 2016), e por ora, têm se mostrado uma boa opção para solos contaminados por resíduos de mineração (MARRUGO-NEGRETE et al., 2015).

Apesar do aumento de importância no cenário agronômico, *Jatropha curcas* L. ainda se encontra em processo de domesticação (SATURNINO et al., 2005). No Brasil, as matrizes utilizadas são geneticamente desconhecidas, e não existem cultivares e nem sistemas de cultivos melhorados. O que se têm no momento, são bancos com germoplasma de indivíduos acessados, isto é, adquiridos de diversas partes de mundo. Há algum tempo percebeu-se a existência de diferenças significativas no desenvolvimento vegetativo do pinhão-manso em decorrência das diferentes procedências da planta. Isso porque a interação genótipo-ambiente exerce uma influência específica em plantas de certa procedência. Diante disso, caracterização dos acessos mais promissores é importante para subsidiar a seleção de genitores, que garantam combinações gênicas superiores. Entretanto, os programas de melhoramento de pinhão-manso no Brasil o no mundo ainda se encontram em fase inicial, e pouco se conhece entre a interação genótipo-ambiente da espécie (HELLER, 1996; LAVIOLA et al., 2011; LAVIOLA et al., 2014).

2.2 ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO/MG: O DERRAME DA LAMA DA SAMARCO SOBRE A BACIA DO RIO DOCE

A mineração está entre as principais atividades antrópicas responsáveis pela poluição das bacias hidrográficas ao redor do mundo, levando diversas implicações destes danos ao meio ambiente até a saúde humana. Dentre os principais problemas associados a esta atividade, destacam-se a drenagem das minas e os rejeitos oriundos desta atividade, que contribuem de forma acidental ou não para contaminação das bacias hidrográficas (HATJE et al., 2017).

Em novembro de 2015 ocorreu o maior desastre ambiental do Brasil no setor de mineração, provocado pelo rompimento da barragem de Fundão no município de Mariana, Minas Gerais, que lançou 34 milhões de metros cúbicos de rejeitos compostos principalmente de óxido de ferro e sílica ao longo do Rio Doce (IBAMA, 2016). Esta tragédia, atingiu todo o curso do rio até o mar, removendo a vegetação da margem ciliar e provocando sedimentação do material sobre as margens ao leito do rio (VIANA; DA COSTA, 2016).

Em 2016, análises químicas do Laboratório de Fitoplâncton da Universidade Federal do Espírito Santo (LabFito – UFES) realizadas junto as margens na foz do Rio Doce apontaram um aumento de cinco elementos após o rompimento da barragem de Fundão, sendo eles: ferro (Fe), alumínio (Al), chumbo (Pb), cromo (Cr) e manganês (Mn). Entretanto, apesar do aumento tanto de Pb quanto de Al não foram observados níveis críticos de toxicidade para esses elementos quando comparados a outros locais bastantes poluídos, ao passo que o excesso de Fe observado, foi 117 vezes maior que o normal (UFES, 2017). Essas análises corroboram com estudos realizados nas barragens de Germano e Santarém, adjacentes a de Fundão, onde também é extraído minério de ferro, que revelaram que a lama do rejeito é constituída basicamente de goethita ($FeO(OH)$), hematita (Fe_2O_3), quartzo (SiO_2) e caulinita ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$). (SCHAEFER et al., 2016).

Outras adversidades provocadas pelo avanço da lama como a devastação da comunidade vegetal, principalmente arbóreos, e o soterramento do banco de sementes comprometeram severamente a sucessão vegetal ao longo do rio (SCHAEFER et al., 2016). Além disso, foi constatado que a superfície formada pelos rejeitos despejados terá efeitos significativos no endurecimento e encrostamento superficial, em função da grande presença de Fe. Desta forma, haverá impedimento do crescimento radicular e consequentemente atrasará a capacidade de reflorestamento e reaproveitamento das áreas afetadas para a agricultura (MINAS GERAIS, 2016).

2.3 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a*

Em 1931 Kautsky e Hirsh descobriram que o tecido fotossintético, após um período de adaptação ao escuro apresenta modificações nas características de fluorescência da clorofila *a* quando expostas a luz. Estas mudanças na indução da fluorescência da clorofila *a* passou a ser conhecida como efeito Kautsky, e a fluorescência da clorofila *a* ficou conhecida como a assinatura da fotossíntese (STIBERT et al., 2014). A conexão entre a fluorescência da clorofila *a* e a fotossíntese, provém da teoria de Duysens e Sweers (1963), citado por Stibert e Goovindjee (2011), que dizem que o FSII é responsável pela fluorescência variável da clorofila *a*, e a taxa de conversão fotoquímica do FSII é limitada pelo lado aceptor de elétrons, isto é, o aumento da fluorescência é um reflexo da concentração de Q_A^-. Ademais, Tsimilli-Michael e Strasser (2008) afirmam que o aparato fotossintético, sobretudo o FSII, é muito sensível e necessita sofrer constantes mudanças de estado para manter sua função ótima diante de um ambiente sob constantes mudanças.

O fenômeno da fotossíntese tem início com a absorção de luz pelos complexos coletores de luz (LHCs), também conhecidos como antenas, formados por clorofilas e carotenoides (Figura 1). A energia de excitação é transferida de forma rápida e eficiente dentro destes complexos até atingir os centros de reação no interior dos FSII e FSI. Uma pequena parte da energia de excitação que não é utilizada na etapa fotoquímica é dissipada como calor ou emitida como fluorescência (STIRBET et al., 2014).

Strasser e Strasser (1995) sugerem que as técnicas de fluorescência transiente são bastantes úteis para monitorar a mudança de estado *in vivo* das plantas e que através da cinética da fluorescência da clorofila *a*, é possível avaliar as propriedades fotossintéticas funcionais de uma planta (STRASSER et al., 2000; STRASSER et al., 2010). Esses dados podem ser obtidos por meio de instrumentos comerciais denominados fluorômetros, como o Handy-PEA (Hansatech Instruments®), e analisados com as equações do teste-JIP (STRASSER et al. 2000), que são baseados na teoria do fluxo de energia entre biomembranas.

Além desta primeira, também existem processos baseados em pulsos de iluminação saturante, conhecidos como fluorescência modulada. Com essa técnica é possível obter informações sobre a cadeia transportadora de elétrons e também sobre os processos que reduzem o rendimento da fluorescência da clorofila, que são denominados *quenching*. A técnica se baseia no conceito de que em qualquer estado de iluminação a Q_A pode ser totalmente reduzida por um pulso de saturação de luz, desta forma o *quenching* fotoquímico é completamente extinguido (GUIDI; DEGL'INNOCENTI, 2011). T

Todavia, a técnica de fluorescência modulada é mais adequada para analisar os *quenchins* e a técnica de fluorescência transiente é mais efetiva para estudar a cinética da curva OJIP. Desta forma, é aconselhável a utilização de ambas para se obter um panorama completo (KALAJI et al., 2014).

A avaliação da fluorescência da clorofila *a* tem sido utilizada para detectar estresses causados por metais pesados, em razão da planta sob estresse, utilizar menos energia nos processos fotossintéticos e aumentar a dissipação de energia luminosa para diminuir os efeitos da fotooxidação, isto é, aumentando a fluorescência da clorofila *a*. Diante disso, já foi demonstrado que os muitos metais pesados, como Cd e Pb, podem provocar efeitos fitotóxicos, ocasionando alterações na fluorescência da clorofila *a*, mesmo nas concentrações mais baixas, induzindo distúrbios no aparato fotossintético e diminuindo as atividades do FSII e FSI. (MARQUES et al., 2013; YEMETS et al., 2015; PAUNOV et al., 2018).

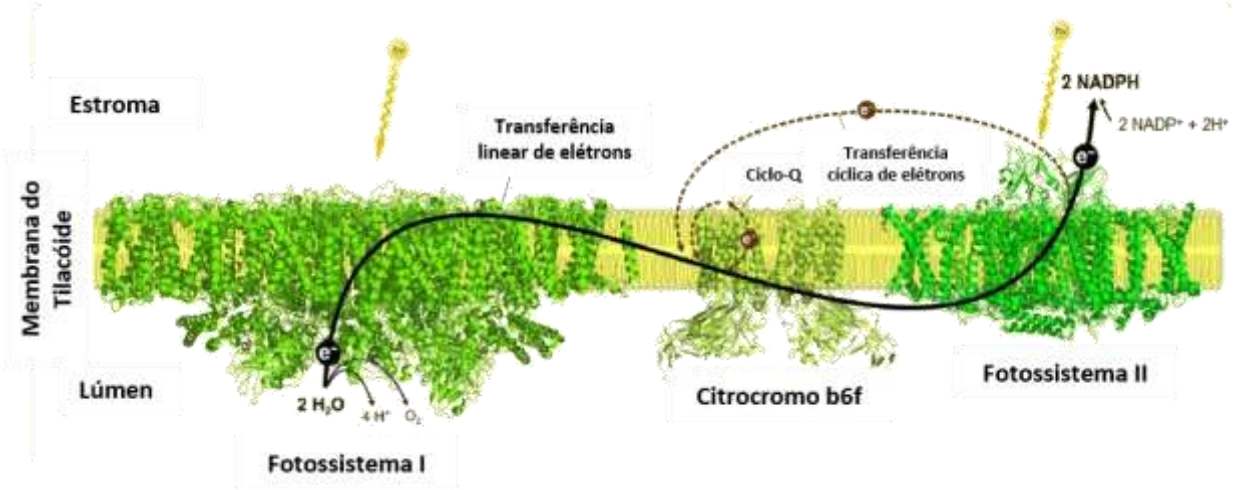

Figura 1 – Esquema da cadeia transportadora de elétrons (CTE), localizada na membrana do tilacoide, mostrando os três principais componentes do complexo fotossintético (FSII, Cb_6f e FSI). (Fonte: Govindjee et al., 2017).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar aspectos da fisiologia de acessos de *Jatropha curcas* L. cultivadas em solo contendo lama do Rio Doce após o derrame de resíduos de mineração.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a acumulação de macro e micronutrientes e As, Cd e Pb em folhas de *Jatropha curcas* L.

Avaliar parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* em cinco acessos de *Jatropha curcas* L., cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce;

Avaliar parâmetros das trocas gasosas em cinco acessos de *Jatropha curcas* L., cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce;

Avaliar os teores de pigmentos fotossintéticos em cinco acessos de *Jatropha curcas* L., cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce;

Analisar as alterações provocadas por três diferentes concentrações de lama do Rio Doce, ao fim do período experimental, utilizando a técnica de fluorescência modulada por imagem;

Determinar a atividade das enzimas antioxidantes peroxidase do ascorbato (APX) e catalase (CAT) em resposta a três diferentes concentrações de lama do Rio Doce no solo de cultivo;

Determinar a correlação entre o índice SPAD e os pigmentos extraíveis, em folhas de *Jatropha curcas* L;

Sugerir o(s) acesso(s) mais tolerante(s) ao cultivo em solo contendo resíduos de mineração semelhante à lama do Rio Doce.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTIVO

O experimento foi conduzido na área experimental da Botânica na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), campus de Goiabeiras, localizado sob as coordenadas geográficas 20° 18'S e 40° 19'O, de setembro de 2017 a março de 2018. Foram utilizados cinco acessos de *Jatropha curcas* L. adquiridos do banco de germoplasma do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), campus de Itapina, instituído sob as coordenadas geográficas 19° 31'S e 40° 37'O (Tabela 1).

Tabela 1 – Acessos de *Jatropha curcas* L. utilizados neste trabalho.

Código de Origem	Código do Acesso	Instituição	Origem
NOV-01	NEF 04	NòvaBra	ES
PRT	NEF 05	Instituto Fazenda Tamanduá	PB
INC-03	NEF 09	Incaper	ES
IFT-02	NEF 12	Instituto Fazenda Tamanduá	PB
IFT-07	NEF 17	Instituto Fazenda Tamanduá	PB

Os clones foram obtidos por estacas, de matrizes com oito anos de idade, e postas para rebrotar em vasos plásticos de 8L com substrato constituído de terra e areia (2:1 v/v). Após a rebrota foram selecionadas as estacas mais vigorosas e transplantadas para vasos plásticos de 14 litros com o mesmo substrato anterior, porém acrescentando após o transplantio 50 mL de solução nutritiva ½ força de Hoagland e Arnon (1950). As plantas foram hidratadas intercalando um dia com irrigação até a capacidade de campo, seguido por um dia sem hidratação. A Figura 2 apresenta uma visão geral do experimento desenvolvido.

Figura 2 - Experimento desenvolvido na área experimental da Botânica na UFES, Vitória, ES.

A lama foi coletada em fevereiro de 2017, cerca de 15 meses após o rompimento da barragem de Fundão/MG. Foram retiradas porções de cerca de um metro ao fundo do rio Doce, coordenadas geográficas 19° 41'S e 40° 07'O, no município de Linhares/ES. Depois da coleta, a lama foi levada para área experimental da Botânica na UFES, Vitória, e posta para secar em condições naturais, durante 20 dias.

Após a coleta e secagem da lama do Rio Doce designou-se três condições, em nível de solo, para impor aos cinco diferentes acessos de *Jatropha curcas* L.:

T_0 = Controle – plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1);

T_1 = 10% de lama – plantas cultivadas em substrato contendo 10% da lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1);

T_2 = 30% de lama – plantas cultivadas em substrato contendo 30% da lama do Rio Doce e 70% de terra e areia (2:1).

A lama foi aplicada sobre o substrato (Figura 3), na proporção de v/v, em setembro de 2017.

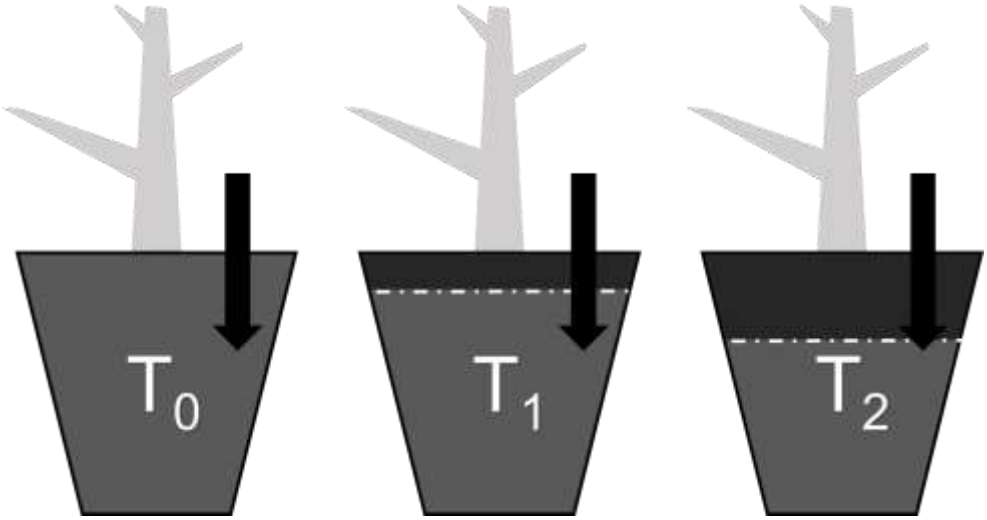

Figura 3 – Esquema da disposição dos tratamentos em nível de solo, impostos aos cinco acessos de *Jatropha curcas* L.

Os dados de temperatura e pluviosidade do ambiente durante o período experimental foram retirados do banco de dados da estação meteorológica OMM: 86830, do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizada no município de Vitória/ES (40° 30'S e 20° 27'O), apresentados na Figura 4.

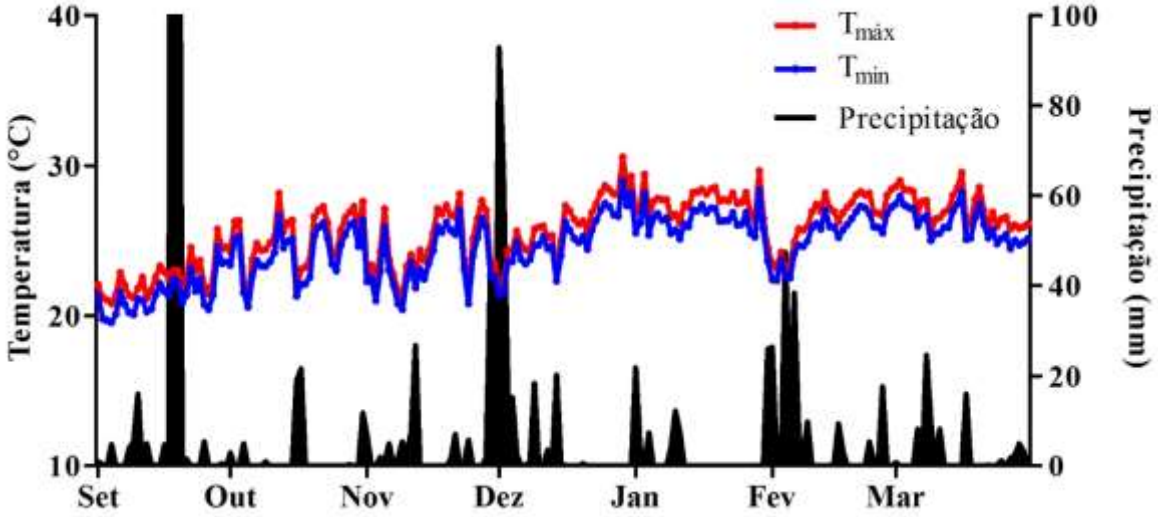

Figura 4 – Temperatura máxima ($T_{máx}$), temperatura mínima (T_{min}) e precipitação dos meses de setembro de 2017 a março de 2018. Os meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março correspondem respectivamente aos 50, 80, 110, 140 e 170 DAT. Fonte: Dados do INMET adaptados.

Durante cada período experimental foram aferidos a irradiância (radiação fotossintéticamente ativa – PAR), temperatura e umidade usando sensores LI-190SA (Li-Cor, Lincoln, NE) e sonda modelo HMP-155 da Vaisala® registrados em datalogger, LI-1400 AS, Li-Cor, USA, (Tabela 2).

Tabela 2 - Condições ambientais nos dias da coleta de dados do experimento, entre 7:30 e 9:00 am. DAT = dias após tratamento e PAR = radiação fotossintéticamente ativa.

Condições Ambientais do Experimento			
DAT	Umidade Relativa (% ± DP)	Temperatura (°C ± DP)	PAR (μmol m^{-2} s^{-1} ± DP)
50	55.5 ± 16.7	31.5 ± 4.0	875.3 ± 453.1
80	57.4 ± 6.2	29.2 ± 1.8	944.6 ± 372.7
110	45.3 ± 4.8	32.2 ± 1.9	1204.9 ± 336.4
140	55.7 ± 7.7	31.4 ± 2.2	971.23 ± 413.7
170	52.1 ± 8.2	31.2 ± 2.2	907.9 ± 329.1

*Os valores estão representados pela média ± desvio padrão (DP).
**Os meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março, correspondem respectivamente a 50, 80, 110, 140 e 170 DAT.

4.2 ANÁLISES QUÍMICAS DO SOLO E DAS FOLHAS

Amostras de solo foram enviadas para laboratório especializado onde se realizaram as análises químicas das diferentes condições de solos impostas neste experimento e também da lama com os resíduos de mineração originalmente retirada do fundo do Rio Doce (Tabela 3). Todas as condições de solo (T_0, T_1 e T_2) foram classificadas como franco arenoso de acordo com a Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Já para as análises de macro e micronutrientes, foram coletadas cinco folhas de cada tratamento, e encaminhadas ao mesmo laboratório.

Tabela 3 - Resultado das análises químicas das condições de solos impostas neste experimento (T_0, T_1 e T_2) e também da lama pura coletada ao fundo do Rio Doce ($T_{100\%}$).

Elementos	T_0	T_1	T_2	$T_{100\%}$
Fósforo-Mehlich[1]	009.33^b	025.00^a	008.67^b	005.00^b
Potássio (K)[1]	014.33^b	012.33^b	016.67^b	042.33^a
Enxofre (S)[1]	007.00^a	004.33^a	006.33^a	009.00^a
Ferro (Fe)[1]	124.67^d	220.33^c	419.67^b	677.00^a
Zinco (Zn)[1]	001.23^b	001.43^b	001.47^b	003.33^a
Cobre (Cu)[1]	000.33^b	000.53^b	000.73^b	001.57^a
Manganês (Mn)[1]	011.00^c	026.67^c	053.33^b	139.00^a
Boro (B)[1]	000.46^a	000.49^a	000.49^a	000.51^a
Sódio (Na)[1]	005.00^b	005.33^b	006.00^b	008.67^a
Cálcio (Ca)[2]	002.23^b	002.13^b	002.53^a	002.87^a
Magnésio (Mg)[2]	000.17^b	000.20^b	000.20^b	000.47^a
Matéria Orgânica (MO)[3]	001.10^a	001.10^a	001.07^a	000.90^a

Os valores são as médias de três amostras. Quando seguidos da mesma letra, nas linhas, não diferem estatisticamente em nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.
[1]mg/dm³
[2]$cmol_c/dm^3$
[3]dag/cm³

Para a análises de arsênio (As), Cd e Pb, as amostras de folhas foram coletadas ao fim do período experimental e postas para secar em estufa a 60 °C por 72 horas. Após secagem as folhas foram trituradas em graal e pistilo de vidro, previamente descontaminado. Foi utilizado cerca de 0,1 g, da amostra de folha pulverizada para a decomposição com 5,0 mL de HNO_3 concentrado destilado e 1,0 mL de H_2O. As amostras foram deixadas em repouso por 10 minutos para uma pré-digestão e em seguida levadas ao MICROWAVE GO para a decomposição. O programa de decomposição possui uma rampa de aquecimento de 5 minutos até alcançar 180º C, permanecendo nesta temperatura final por 20 minutos. Após resfriamento, o volume foi aferido com água ultrapura para 15,0 mL. As amostras já decompostas e avolumadas foram diluídas 2, 4, 10 e 50 vezes e analisadas por ICP-MS (espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado).

4.3 ÍNDICES DE CLOROFILA

Os índices de clorofila foram determinados com um clorofilômetro portátil modelo SPAD-502 – Soil Plant Analysis Development (Konica Minolta Optics Inc., Osaka, Japão). As medidas foram feitas em folhas jovens completamente expandidas (quarta ou quinta folha a partir do ápice. Os índices foram obtidos a partir de cinco amostragens por tratamento sendo cada amostragem composta por cinco replicatas.

Os teores de pigmentos fotossintéticos foram determinados usando-se a metodologia de Wellburn (1994) com adaptações. Para isso, discos foliares de 0,5 cm² foram emergidos em tubos de ensaio contendo 7 mL de dimetilsulfúxido (DMSO), e mantidos no escuro por 24 horas para que houvesse a total despigmentação dos mesmos. O extrato obtido foi transferido para cubeta de vidro e lida em espectrofotômetro (modelo: Genesis 10S UV-Vis da Thermo Scientific®) nas faixas de 470, 645 e 663 nm. A partir das absorbâncias obtidas calculou-se os teores de clorofilas e carotenoides utilizando as equações de Arnon (1949) e Lichtenthaler (1987):

- Clorofila *a* = $[(12.7_x A_{663}) - (2.69_x A_{645})]_x V/(1000/MS)$;
- Clorofila *b* = $[(22.9_x A_{645}) - (4.68_x A_{663})]_x V/(1000/MS)$;
- Clorofilas totais = $[(20.2_x A_{663}) - (2.69_x A_{645})]_x V/(1000/MS)$;
- Carotenóides = $[(1000_x A_{470}) - (1.82_x \text{Chl } a - 85.02_x \text{Chl } b)]_x V/(198_x 1000/MS)$.

Onde:

A_{470} = absorbância a 470 nm;

A_{645} = absorbância a 645 nm;

A_{663} = absorbância a 663 nm;

V = volume da amostra (mL);

MS = massa seca da amostra (g).

Para a obtenção da massa seca (MS), os discos foliares foram, após a extração dos pigmentos, postos para secar em estufa a ± 70ºC, até obtenção de massa constante.

4.4 MEDIDAS DE FOTOSSÍNTESE

4.4.1 Fluorescência transiente da clorofila *a*

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi quantificada utilizando um fluorômetro portátil modelo Handy-PEA (Photosynthetic Efficiency Analyser) da Hansatech Instruments®, King's Lynn, Norfolk, UK. As medições ocorreram entre 7:00 e 8:00 horas da manhã em folhas jovens completamente expandidas (quarta ou quinta folha a partir do ápice), previamente adaptadas a 40 minutos de escuro por meio de clipes foliares (Hansatech, UK). Essa adaptação é necessária para que todos os centros de reação dos fotossistemas estejam completamente oxidados, tornando o sistema coletor de luz totalmente receptivo. Após essa adaptação foi emitido um pulso de luz vermelha (650 nm) saturante (3.000 μmol m^{-2} s^{-1}) numa área de 4 mm de diâmetro da folha avaliada. Os resultados obtidos foram, posteriormente, tabulados em planilha eletrônica utilizando-se o *software* PEA Plus v1.11.

A intensidade de fluorescência foi aferida entre 10μs e 1s, sendo a fluorescência inicial (F_0) a fluorescência obtida aos 20μs e a fluorescência máxima (F_M) obtida em cerca de 300ms. A partir destes dados, foram calculados os parâmetros biofísicos que quantificam o fluxo de energia através da cadeia transportadora de elétrons por meio do teste-JIP, desenvolvido por Strasser e Strasser (1995). Os parâmetros foram obtidos a partir de cinco amostragens por tratamento. Os significados dos parâmetros avaliados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* calculados pelo teste-JIP descritos por Strasser et al. (2010).

Parâmetros	Equações	Significados
F_0 (=$F_{20\mu s}$)		Fluorescência inicial aos 20 µs, (quando todos os centros de reações do FSII estão oxidados)
F_M (=F_P)		Fluorescência máxima (quando todos os centros de reações do FSII estão reduzidos)
$\gamma RC/(1-\gamma RC)$	RC/ABS	Densidade de centros de reação fotossintéticamente ativos do FSII
φE_0	ET_0/ABS	Rendimento quântico do transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores de elétrons do intersistema
ψE_0	ET_0/TR_0	Probabilidade (em t=0) que um éxciton capturado tem em mover um elétron na CTE após Q_A^-
δR_0	RE_0/ET_0	Eficiência que os elétrons se movem dos receptores do intersistema até os receptores finais do FSI.
$\varphi P_0/(1-\varphi P_0)$		Eficiência das reações fotoquímicas do FSII
$\psi E_0/(1-\psi E_0)$		Eficiência das reações fotoquímicas após a redução da Q_A^-
PI_{abs}	$[\gamma RC/(1-\gamma RC)]$ x $[\varphi P_0/(1-\varphi P_0)]$ x $[\psi E_0/(1-\psi E_0)]$	Índice de desempenho potencial do FSII
$\delta R_0/(1-\delta R_0)$		Desempenho das reações de oxi-redução do FSI
PI_{total}	PI_{abs} x $\delta R_0/(1-\delta R_0)$	Índice de desempenho fotoquímico total

4.4.2 Fluorescência Modulada por Imagem

A fluorescência modulada foi determinada ao final do período experimental (aos 170 DAT) em folhas jovens completamente expandidas (quarta ou quinta folha a partir do ápice) previamente adaptadas a 40 minutos de escuro, para a completa oxidação dos fotossistemas. Foi utilizado um fluorômetro Imaging-PAM, modelo MINI-Head IMAG-MIN/B e o *software* Imaging Win (Heinz Walz®, Effeltrich, Germany). Foram aferidas três repetições por tratamento.

Para obter a fluorescência por imagem, as folhas de *Jatropha curcas* L. foram submetidas a um pulso modulado fraco (0.5 µmol m^{-2} s^{-1}), estimando a F_0, seguido de um pulso saturante de luz branca (2400 µmol m^{-2} s^{-1}) estimando a F_M, e fornecendo a razão F_0/F_M (base para o cálculo dos parâmetros de adaptação ao escuro). Já os parâmetros de adaptação a luz foram aferidos com ajuda do pulso de saturação, aplicado após dois minutos de iluminação actínia na intensidade de 81 µmol m^{-2} s^{-1}. Os significados dos parâmetros avaliados estão presentes na Tabela 5.

Tabela 5 –Parâmetros da fluorescência modulada obtidos pelo Imaging-PAM.

Parâmetros	Equações	Significados
Y(II)	(Fm'-F)/Fm'	Rendimento quântico do FSII
Y(NPQ)	1 - Y(II) - 1/(NPQ+1+qL(Fm/Fo-1))	Rendimento quântico de dissipação de energia regulada
qN	(Fm-Fm')/(Fm-Fo')	Coeficiente de extinção não fotoquímica

4.4. 3 Trocas Gasosas

Para quantificação das trocas gasosas, foi utilizado um analisador portátil de gás por infravermelho (*Infrared Gás Analyser – IRGA*) modelo LCpro-SD da ADC BioScientfic®. As medidas ocorreram entre 7:30 e 9:00 da manhã nas mesmas folhas onde foi aferida a fluorescência da clorofila *a*. As medidas foram realizadas utilizando como base o CO_2 ambiente (≈ 380 Pa), PAR controlada de 1300 µmol m^{-2} s^{-1} (determinada a partir de curva de luz) e temperatura controlada na câmara foliar de 25°C.

Os parâmetros fisiológicos calculados pelo IRGA foram: a taxa de fotossíntese líquida (A, µmol m^{-2} s^{-1}), a taxa de transpiração (E, µmol H_2O m^{-2} s^{-1}), a condutância estomática (g_s, µmol H_2O m^{-2} s^{-1}) e a concentração interna de CO_2 (C_i, Pa). A partir destes parâmetros inicialmente obtidos, calculou-se as suas razões como a eficiência instantânea do uso da água (A/E), a eficiência intrínseca do uso da água (A/gs) e a eficiência de carboxilação (A/C_i).

Para obtenção de cada um destes parâmetros foram realizadas três amostragens por tratamento sendo cada amostragem compostas por três replicatas.

4.5 ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES

O extrato geral para extração das enzimas antioxidantes foi preparado utilizando 0,4 gramas de tecido foliar, homogeneizados em tampão fosfato de potássio 100mM (pH 6,8), EDTA 0,1 mM, ácido ascórbico 20 mM e uma pitada de polivinilpolipirrolidona (PVPP). A homogeneização destes compostos foi realizada em almofariz e pistilo, com nitrogênio líquido. O extrato resultante foi posto em eppendorf de 2 mL e centrifugado a 13000g durante 12 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi utilizado para determinar as atividades da catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX).

A atividade da CAT foi determinada pelas metodologias de Aeby (1984) e Ibrahim e Srou (2015), onde 100 µL do extrato foi misturado a 200 µL de H_2O_2 e 1700 µL de tampão fosfato de sódio (50 mM, pH 7.0). As leituras foram realizadas em cubetas de quartzo a 240 nm

a 25 °C e a atividade enzimática calculada utilizando o coeficiente de extinção molar de 36 mM^{-1} cm^{-1} (Nakano e Asada, 1981) e expressa em µmol de H_2O_2 min^{-1} g^{-1} MF.

Já atividade da APX foi determinada pelas metodologias de Nakano e Asada (1981) e Ibrahin e Srou (2015), onde 100 µL do extrato foi misturado a 1900 µL do meio de reação formado por tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,0), EDTA a 0,1 mM, ácido ascórbico a 0,5 mM e H_2O_2 a 0,1 mM. As leituras foram realizadas em cubetas de quartzo a 290 nm a 25 °C e a atividade enzimática calculada utilizando o coeficiente de extinção molar de 2,8 mM^{-1} cm^{-1} e expressa em µmol de ascorbato min^{-1} g^{-1} MF.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimental foi analisado em esquema fatorial 5 x 3, com cinco unidades experimentais por tratamento (n=5). Os acessos de *Jatropha curcas* L. (fator 1) dispõem de cinco níveis (NEF 04, NEF 05, NEF 09, NEF 12 e NEF 17) ao passo que as concentrações de lama do Rio Doce dispõem de três níveis (T_0, T_1 e T_2). A interação entre ambos também foi avaliada. As médias dos dados para cada variável foram submetidas a ANOVA e quando significativos ao teste F, comparadas pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade. Os dados de fluorescência transiente da clorofila *a* foram submetidos a análise de componentes principais (PCA), possibilitando a distinção das variáveis e apontando as mais significativas para o presente trabalho.

O *software* utilizado para ANOVA, teste de médias e PCA foi o InfoStat/Free versão estudantil 2017d e para a elaboração dos gráficos o *software* GraphPad Prism versão 5.03.

5. RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DOS MACRO E MICRONUTRIENTES E CONTEÚDO DE As, Cd e Pb EM FOLHAS DE *Jatropha curcas* L.

Os teores de nutrientes encontrados no tecido foliar dos cinco acessos de *Jatropha curcas* L. submetidos a três concentrações de lama do Rio Doce ao final de 170 DAT, apresentaram a seguinte ordem: N > Ca > K > Mg > P > S > Fe > Mn > B > Zn > Cu (Tabela 6).

O resultado mais relevante observado nesta análise foi quanto ao teor de Fe absorvido pelas plantas de *Jatropha curcas* L. Isso porque, apesar do solo mesmo na condição de controle (T_0) apresentar teores considerados ótimos de Fe (Tabela 2) as folhas de pinhão-manso absorveram uma quantidade maior que o valor encontrado, em situações consideradas ótimas, para espécie (LAVIOLA; DIAS, 2008). Outro resultado notável, foi a grande capacidade de absorção de Fe pelas folhas de NEF 12, na condição T_2. Que apresentaram absorção até 91% maior do valor encontrado no controle do referido acesso.

Já os teores de As, Cd e Pb encontrados em folhas de *Jatropha curcas* L. ao fim do período experimental (Tabela 7), ocorreram em baixas concentrações.

Tabela 6 –Teores de macro e micronutrientes em folhas de *Jatropha curcas* L. de cinco acessos diferentes, aos 170 DAT.

	NEF 04			NEF 05			NEF 09			NEF 12			NEF 17		
	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2
Nitrogênio (N)[1]	040.5	036.7	042.4	028.5	029.7	031.4	043.7	033.8	041.0	026.6	030.6	034.1	035.6	030.7	039.3
Fósforo (P)[1]	001.9	001.8	002.0	002.4	001.9	002.0	001.5	001.3	002.0	001.9	002.2	001.9	001.8	004.8	001.9
Potássio (K)[1]	010.0	008.8	010.0	014.4	013.8	011.9	009.4	008.1	009.4	011.2	009.4	009.4	008.7	009.4	010.0
Cálcio (Ca)[1]	015.6	012.3	013.1	016.5	012.5	013.9	018.6	010.0	020.3	007.8	009.4	018.8	013.3	009.3	022.5
Magnésio (Mg)[1]	004.4	006.1	008.5	003.8	003.9	006.2	004.4	006.1	011.1	009.0	004.5	006.9	004.7	004.7	004.6
Enxofre (S)[1]	001.5	001.2	001.5	001.2	001.4	001.5	001.4	001.2	001.8	001.2	001.5	001.1	001.5	002.2	001.0
Ferro (Fe)[2]	279.0	279.0	312.0	271.0	294.0	292.0	285.0	271.0	283.0	245.0	240.0	468.0	262.0	265.0	279.0
Zinco (Zn)[2]	011.0	013.0	015.0	014.0	013.0	013.0	014.0	013.0	014.0	014.0	016.0	013.0	013.0	047.0	020.0
Cobre (Cu)[2]	005.0	005.0	005.0	005.0	006.0	006.0	005.0	005.0	005.0	005.0	005.0	005.0	005.0	005.0	005.0
Manganês (Mn)[2]	047.0	064.0	139.0	067.0	071.0	154.0	061.0	072.0	162.0	057.0	052.0	128.0	040.0	053.0	112.0
Boro (B)[2]	064.0	059.0	041.0	063.0	071.0	055.0	059.0	061.0	044.0	057.0	063.0	070.0	055.0	044.0	037.0

[1]g Kg^{-1}
[2]mg Kg^{-1}

Tabela 7 - Teores de As, Cd e Pb em folhas de *Jatropha curcas* L. de cinco acessos diferentes, aos 170 DAT.

	NEF 04			NEF 05			NEF 09			NEF 12			NEF 17		
	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2
Arsênio (As)[2]	0.068	0.097	0.097	0.089	0.079	0.086	0.079	0.078	0.088	0.074	0.089	0.061	0.074	0.054	0.054
Cádmio (Cd)[2]	0.004	0.009	0.006	0.005	0.006	0.005	0.004	0.005	0.007	0.003	0.009	0.011	0.007	0.009	0.008
Chumbo (Pb)[2]	0.331	0.308	0.380	0.433	0.511	0.392	0.328	0.338	0.418	0.335	0.314	0.340	0.350	0.300	0.304

[2]mg Kg^{-1}

5.2 ÍNDICES DE CLOROFILA

De forma geral o teor de clorofila dos cinco acessos aferidos pelo SPAD-502 mantiveram padrões semelhantes, com os maiores teores aos 50 DAT passsando por reduções significativas até os 110 DAT e em seguida aumentando novamente até os 170 DAT. Entretanto, nem todos os acessos tiveram diferenças significativas nas primeiras medidas como o NEF 05, NEF 09 e NEF 12, onde o T_2 apresentou um maior teor de clorofila e consequentemente folhas mais esverdeadas. Aos 170 DAT os acessos NEF 05, NEF 12 e NEF 17, não apresentaram diferenças significativas quanto ao teor de clorofila em função dos tratamentos com a lama do Rio Doce, evidenciando que a diferença existente, no início, para estes acessos, desapareceu ao longo do período experimental (Figura 5).

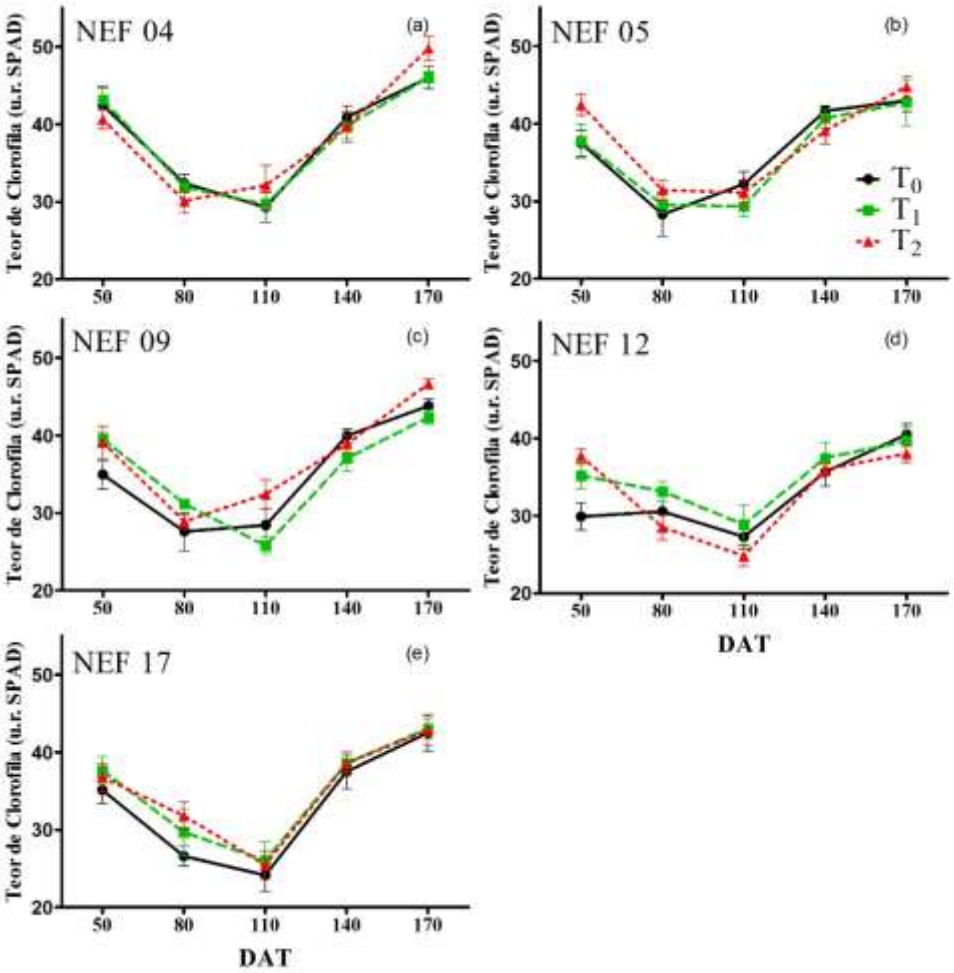

Figura 5 - Teores de Clorofila (índice SPAD) de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5).

Os teores de pigmentos fotossintéticos aos 50 DAT apresentam diferenças significativas para os diferentes acessos e concentrações de lama do Rio Doce, entretanto não foi observado para nenhuma variável a interação entre "acesso x concentração" (APÊNDICE – Tabela 12). Além disso, foi possível observar que NEF 04 e NEF 12 apresentam maiores teores de Chl *a*, Chl *a*+*b* e *x*+*c* que NEF 05, NEF 09 e NEF 17. Ao mesmo tempo, também ficou evidente que o T_2 foi o tratamento que apresentou maiores teores de Chl *a*, Chl *a*+*b* e *x*+*c*. Os teores de Chl *b* e as razões Chl *a*/*b* e Chl (*a*+*b*)/(*x*+*c*) não mostraram diferenças significativas durante o período avaliado (Tabela 9).

A correlação entre o conteúdo extraído de Chl *a* e Chl *a*+*b* (mg g MS^{-1}) com índice SPAD apresentaram coeficientes de correlação (r) fortemente positivos ($r \geq 0,80$), evidenciando a grande ligação entre os dados. Além disso, como o valor de t-calculado (t_{calc}) foi superior ao valor crítico (t_{tab}) foi possível afirmar que o teor de clorofila (u.r. SPAD) está estreitamente correlacionado, em nível de 1%, pela distribuição t de Student, ao conteúdo extraído de Chl *a* e Chl *a*+*b*. Sendo assim, quanto maior o índice nas leituras utilizando SPAD-502 maior será o conteúdo de clorofilas extraídas.

O conteúdo extraído de Chl *b* e *x*+*c* foram, do mesmo modo, significantes em nível de 1% pela distribuição t de Student, contudo a correlação entre essas duas variáveis e o índice SPAD apresentaram coeficientes de correlação moderadamente positivos de 0,62, mostrando que apesar de significativos apontam uma correlação menor que as duas variáveis anteriores (Tabela 8).

Tabela 8 - Matriz de correlação entre pigmentos extraídos (mg g MS^{-1}) e o teor de clorofila (u.r. SPAD). Onde: Chl *a* = clorofila *a*, Chl *b* = clorofila *b*, Chl *a*+*b* = clorofilas totais e (x+*c*) = carotenoides totais.

	Chl *a*	Chl *b*	Chl *a*+*b*	(*x*+*c*)	SPAD
Chl *a*	1				
Chl *b*	0.90**	1			
Chl *a*+*b*	1.00**	0.91**	1		
(*x*+*c*)	0.89**	0.96**	0.89**	1	
SPAD	0.80**	0.62**	0.80**	0.62**	1

* Os coeficientes de correlação (r) seguidos por ** são significativos ao nível de 1% pela distribuição t de Student.

Tabela 9 – Concentrações de clorofila *a* (Chl*a*), clorofila *b* (Chl*b*), clorofilas totais (Chl*a*+*b*), carotenoides (*x*+*c*) em mg g MS^{-1} e as razões entre clorofila *a* e *b* (Chl*a*/*b*) e clorofilas totais e carotenoides (Chl*a*+*b*/(*x*+*c*)) de plantas cinco acessos de *Jatropha curcas* sob três diferentes concentrações de lama do Rio Doce, avaliados aos 50 DAT.

Variáveis	NEF 04			NEF 05			NEF 09			NEF 12			NEF 17		
	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2
Chl*a*	7.63^{Ab}	7.12^{Ab}	9.14^{Aa}	4.89^{Bb}	5.53^{Bb}	8.60^{Ba}	5.38^{Bb}	5.41^{Bb}	8.61^{Ba}	6.15^{Ab}	9.73^{Ab}	9.26^{Aa}	5.49^{Bb}	6.66^{Bb}	8.11^{Ba}
Chl*b*	2.70^{ns}	1.12^{ns}	1.68^{ns}	0.90^{ns}	0.91^{ns}	1.44^{ns}	1.02^{ns}	1.03^{ns}	1.50^{ns}	1.03^{ns}	1.79^{ns}	1.69^{ns}	1.07^{ns}	3.01^{ns}	1.49^{ns}
Chl*a*+*b*	12.54^{Ab}	11.59^{Ab}	14.90^{Aa}	7.98^{Bb}	9.02^{Bb}	14.01^{Ba}	8.78^{Bb}	8.82^{Bb}	14.04^{Ba}	10.02^{Ab}	15.87^{Ab}	15.10^{Aa}	8.96^{Bb}	11.00^{Bb}	13.22^{Ba}
(*x*+*c*)	3.04^{Ab}	3.36^{Ab}	4.54^{Aa}	2.41^{Bb}	2.56^{Bb}	4.00^{Ba}	2.69^{Bb}	2.94^{Bb}	4.13^{Ba}	3.04^{Ab}	5.07^{Ab}	4.48^{Aa}	2.93^{Bb}	3.95^{Bb}	4.04^{Ba}
Chl*a*/*b*	5.91^{ns}	6.41^{ns}	5.52^{ns}	5.70^{ns}	6.06^{ns}	5.99^{ns}	5.32^{ns}	5.15^{ns}	5.72^{ns}	5.91^{ns}	5.47^{ns}	5.47^{ns}	5.15^{ns}	3.90^{ns}	5.43^{ns}
Chl *a*+*b*/(*x*+*c*)	2.81^{ns}	3.45^{ns}	3.29^{ns}	3.30^{ns}	3.52^{ns}	3.50^{ns}	3.29^{ns}	2.97^{ns}	3.39^{ns}	3.27^{ns}	3.16^{ns}	3.36^{ns}	3.08^{ns}	2.93^{ns}	3.29^{ns}

*Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0.05$). Letras maiúsculas comparam os acessos em função das concentrações de lama do Rio Doce, e as letras minúsculas as diferentes concentrações dentro do mesmo acesso.

**Valores seguidos por ns dentro da mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo Scott-Knott ($p<0.05$)..

A Figura 6 apresenta as correlação seguidas pelas equações obtidas pelo modelo linear, bem como os coeficientes de correlação (r) e determinação (R^2). A regressão linear foi a que melhor explicou a forma como essas variáveis estão relacionadas. A Chl *a* e Chl *a+b* apresentaram os maiores R^2 em relação ao índice SPAD que a Chl *b* e *x+c*.

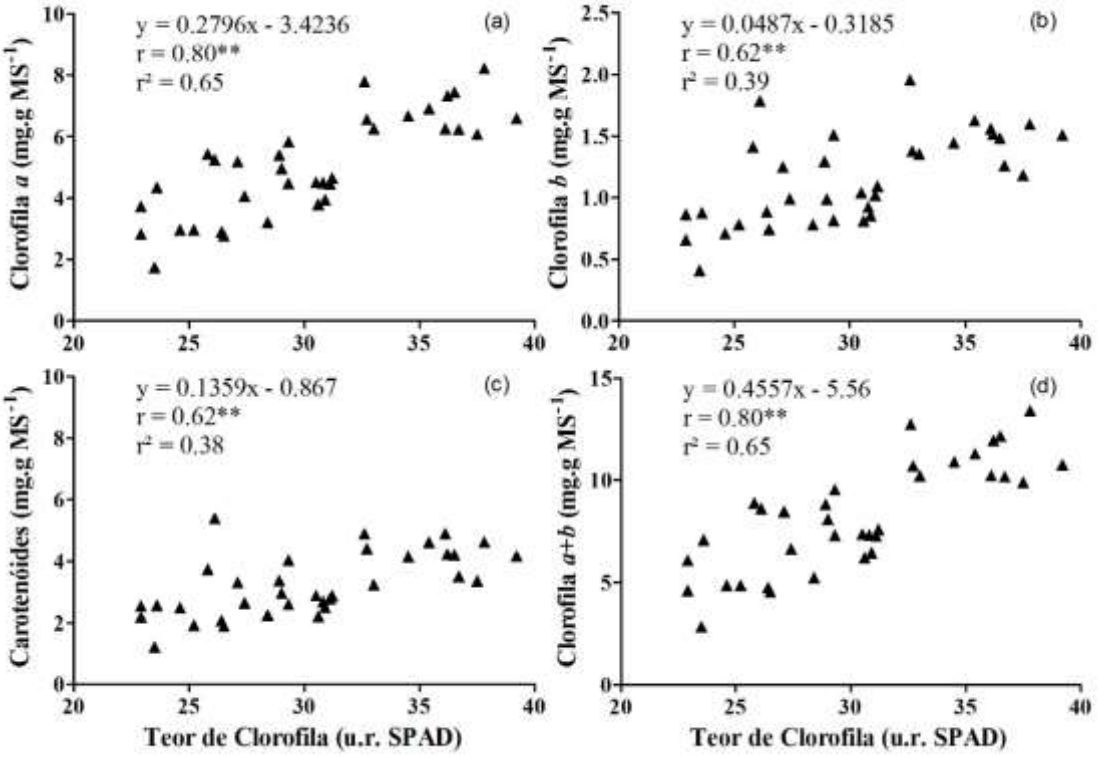

Figura 6 - Correlação entre clorofila *a* (a), clorofila *b* (b), carotenóides totais (c) e clorofila *a+b* (d) em mg g MS^{-1} com o índice SPAD, n = 35 amostras de 5 diferentes acessos de *Jatropha curcas* L. O coeficiente de correlação (r) seguido por ** é significativo em nível de 1% pela distribuição t de Student. As equações foram obtidas pelo modelo linear, onde y = concentração de clorofila/carotenóides e x = valor em u.r. SPAD.

Utilizando as equações obtidas, calculou-se o conteúdo de clorofilas e carotenoides para o último período de avaliação do experimento aos 170 DAT (Tabela 10). De posse dos valores obtidos foi possível perceber que mais uma vez não houve a interação entre os fatores propostos, provavelmente porque o fator concentração não foi significativo ($p_{valor}>0.05$) em nenhum caso, entretanto, o fator acesso mostrou-se altamente significativo ($p_{valor}<0.0001$).

As plantas do acesso NEF 04 apresentaram o maior conteúdo de Chl *a*, *b*, *a+b*, *x+c*, razão Chl *a*/*b* e Chl *a+b*/*(x+c)* em relação aos demais acessos, enquanto que as plantas do acesso NEF 12 apresentaram os menores valores médios para estas variáveis. Os demais acessos, NEF 05, NEF 09 e NEF 17, exibiram valores intermediários e não foram diferentes estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 5%.

Tabela 10 - Concentrações de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofilas totais (Chl *a*+*b*), carotenoides (*x*+*c*) em mg g MS^{-1} e as razões entre clorofila *a* e *b* (Chl *a*/*b*) e clorofilas totais e carotenoides (Chl *a*+*b*/(*x*+*c*)) de plantas cinco acessos de *Jatropha curcas* L. sob três diferentes concentrações de solos contaminados com resíduos de mineração, avaliados aos 170 DAT.

Variáveis	NEF 04			NEF 05			NEF 09			NEF 12			NEF 17		
	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2	T_0	T_1	T_2
Chl *a*	9.29^{Aa}	9.67^{Aa}	10.49^{Aa}	8.59^{Ba}	8.52^{Ba}	9.09^{Ba}	8.82^{Ba}	8.41^{Ba}	9.62^{Ba}	7.89^{Ca}	7.65^{Ca}	7.21^{Ca}	8.46^{Ba}	8.61^{Ba}	8.55^{Ba}
Chl *b*	1.89^{Aa}	1.96^{Aa}	2.10^{Aa}	1.77^{Ba}	1.76^{Ba}	1.86^{Ba}	1.81^{Ba}	1.74^{Ba}	1.95^{Ba}	1.65^{Ca}	1.61^{Ca}	1.53^{Ca}	1.75^{Ba}	1.78^{Ba}	1.76^{Ba}
Chl *a*+*b*	15.17^{Aa}	15.79^{Aa}	17.12^{Aa}	14.02^{Ba}	13.90^{Ba}	14.83^{Ba}	14.40^{Ba}	13.72^{Ba}	15.71^{Ba}	12.88^{Ca}	12.49^{Ca}	11.76^{Ca}	13.80^{Ba}	14.06^{Ba}	13.96^{Ba}
(*x*+*c*)	5.32^{Aa}	5.50^{Aa}	5.89^{Aa}	4.97^{Ba}	4.93^{Ba}	5.21^{Ba}	5.08^{Ba}	4.88^{Ba}	5.47^{Ba}	4.63^{Ca}	4.51^{Ca}	4.29^{Ca}	4.90^{Ba}	4.98^{Ba}	4.95^{Ba}
Chl *a/b*	4.89^{Aa}	4.92^{Aa}	4.98^{Aa}	4.83^{Ba}	4.81^{Ba}	4.88^{Ba}	4.86^{Ba}	4.82^{Ba}	4.92^{Ba}	4.76^{Ca}	4.74^{Ca}	4.69^{Ca}	4.81^{Ba}	4.84^{Ba}	4.82^{Ba}
Chl *a*+*b*/(*x*+*c*)	2.85^{Aa}	2.87^{Aa}	2.90^{Aa}	2.82^{Ba}	2.80^{Ba}	2.84^{Ba}	2.83^{Ba}	2.81^{Ba}	2.86^{Ba}	2.77^{Ca}	2.76^{Ca}	2.73^{Ca}	2.80^{Ba}	2.82^{Ba}	2.81^{Ba}

*Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0.05$). Letras maiúsculas comparam os todos os acessos em função das concentrações de lama do rio Doce, e as letras minúsculas as diferentes concentrações dentro do mesmo acesso.

5.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS E SELEÇÃO DOS PARÂMETROS DE MAIOR REPRESENTATIVIDADE DA FLUORESCÊNCIA TRANSIENTE

A análise de componentes principais (PCA) foi conduzida sob os cinco índices de rendimento (ΦP_0, ψE_0, ΦE_0, δR_0 e ΦR_0) e seis de desempenho (RC/ABS, ΦP_0/1- ΦP_0, ψE_0/1- ψE_0, PI_{abs}, δR_0/1- δR_0 e PI_{total}) fornecidos pelo Handy-PEA, totalizando 11 conjuntos de dados.

O primeiro componente principal (PC1) mostra a presença de um gradiente independente, marcado pela correlação positiva entre ΦP_0, ψE_0, ΦE_0, RC/ABS, ΦP_0/1- ΦP_0, ψE_0/1- ψE_0, PI_{abs} e PI_{total}. Isso indica que os tratamentos com esta combinação estão alinhados mais à direita da PCA, como ocorre com o tratamento com 30% da lama do Rio Doce (T_2) (Figura 7). Também fica evidente que os tratamentos com maiores valores nas funcionalidades do FSII e do intersistema (ΦP_0, ψE_0, ΦE_0, RC/ABS, ΦP_0/1- ΦP_0 e ψE_0/1- ψE_0) tendem a ter maiores índices de desempenhos, seja do FSII (PI_{abs}) ou total (PI_{total}). Ao mesmo tempo, o segundo componente principal (PC2) evidencia a presença de um outro gradiente independente, caracterizado pela forte correlação positiva entre a eficiência com que os elétrons se movem dos receptores do intersistema até os receptores finais do FSI (δR_0) e o desempenho das reações de oxi-redução do FSI (δR_0/1- δR_0). Estes dois componentes principais juntos representam 87,8% da variação total nestes 11 parâmetros, sendo o PC1 responsável por 63% e o PC2 por 24,3%.

A PCA também foi utilizada como ferramenta para determinar quais os parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* foram mais representativos aos 50 DAT. Esta definição foi estabelecida com base na escolha dos vetores de maior valor para o componente que mais explicou a variação dos dados (Tabela 6), isto é, PC1. Seguindo este critério, foram selecionados os parâmetros ΦE_0, ψE_0, PI_{abs} e PI_{total}, e os parâmetros que compõe estes dois últimos (Tabela 4). O acompanhamento dos parâmetros selecionados ocorreu mensalmente e os valores de PC1 e PC2 para cada vetor aos 50 DAT está presente na Tabela 11.

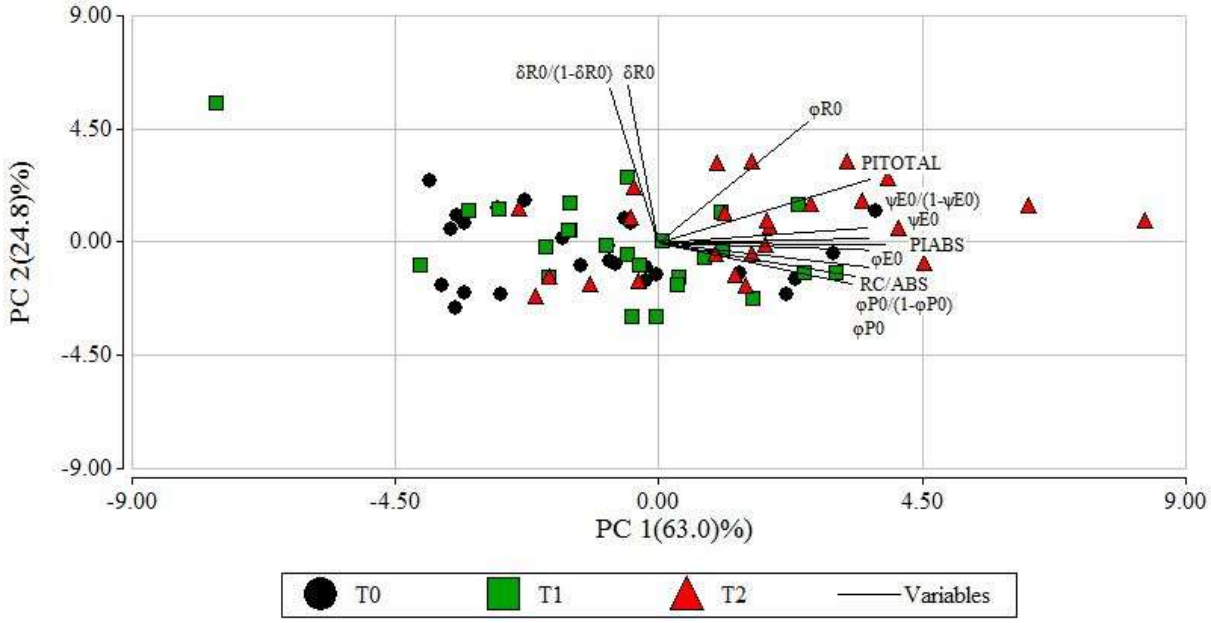

Figura 7 - Análise de componentes principais (PCA) de 11 parâmetros do teste-JIP de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce, aos 50 DAT. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5). Os significados dos parâmetros apresentados estão presentes na Tabela 4.

Tabela 11 – Efeito das alterações nos índices de rendimento e desempenho fotoquímicos em função das três diferentes concentrações de lama do Rio Doce aos 50 DAT em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. Os componentes principais 1 (PC1) e 2 (PC2) explicam, respectivamente 63 e 24,8 % das variações ocorridas nos dados analisados.

Variáveis	PC1	PC2
φE_0	0.37	-0.03
PI_{abs}	0.37	-0.01
ψE_0	0.34	0.02
RC/ABS	0.34	-0.1
$\psi E_0/(1-\psi E_0)$	0.34	0.05
PI_{total}	0.34	0.24
$\varphi P_0/(1-\varphi P_0)$	0.32	-0.13
φP_0	0.31	-0.16
φR_0	0.24	0.45
δR_0	-0.05	0.59
$\delta R_0/(1-\delta R_0)$	-0.08	0.58

5.4 FOTOSSÍNTESE

5.4.1 Fluorescência Transiente da Clorofila *a*

Analisando a densidade de centros de reação fotossintéticamente ativos do FSII (RC/ABS), nota-se que aos 50 DAT o acesso NEF 09 apresentou, na condição de 30% de lama do Rio Doce (T_2), um acréscimo de RC/ABS em relação a condição de 0% de lama (T_0). Fato

semelhante só foi observado em NEF 05 e NEF 17 aos 80 DAT, e, em NEF 04 aos 170 DAT. Enquanto isso, NEF 12 manteve o RC/ABS sem diferença significativa perante as concentrações de lama do Rio Doce (Figura 8 a-e).

Aos 50 DAT também se percebeu que os acessos NEF 09, NEF 12 e NEF 17 apresentaram um aumento na eficiência das reações fotoquímicas do FSII (φP_0/1- φP_0), quando expostas ao T_2. Apesar disso, ao fim do período experimental (170 DAT) todos os acessos, a exceção de NEF 04, não apresentavam mais a diferença entre φP_0/1-φP_0 em função das diferentes concentrações de lama do Rio Doce (Figura 8 f-j).

Quanto ao rendimento quântico do transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores de elétrons do intersistema (φE_0), os acessos NEF 09, NEF 12 e NEF 17 apresentam respostas as diferentes concentrações de lama já no primeiro período experimental (50 DAT), isto é, os indivíduos sob o T_2 apresentam maiores índices de φE_0 (Figura 9 a-e). Ao mesmo tempo, a probabilidade (em t=0) que um éxciton capturado tem em mover um elétron na cadeia transportadora de elétrons após Q_A^- (ψE_0) apresentou o mesmo padrão comportamental de φE_0 (Figura 9 f-j).

Dentre os três parâmetros que compõe o índice de desempenho potencial do FSII (PI_{abs}), a eficiência nas reações fotoquímicas após a redução da Q_A^- (ψE_0/1- ψE_0), foi o que apresentou menor variação ao longo do experimento, não diferindo entre T_0 e T_2 aos 170 DAT para nenhum acesso (Figura 10 a-e). O desempenho das reações de oxi-redução do FSI (δR_0/1- δR_0) também sofreram pouca influência da lama do Rio Doce, sendo NEF 09 o único a apresentar um aumento destas funções, na condição de T_2 aos 170 DAT (Figura 10 f-j).

Quanto ao índice de desempenho potencial do FSII (PI_{abs}), nota-se que NEF 05, NEF 09 e NEF 12 aos 50 DAT, submetidas ao T_2, apresentaram um aumento em relação a T_0. Contudo, ao fim dos 170 DAT apenas NEF 04 apresentou diferenças entre o PI_{abs} dos tratamentos. Sendo que o controle obteve o menor desempenho (Figura 11 a-e). Ademais, o índice de desempenho total (PI_{total}) apresentou o mesmo padrão de comportamento que PI_{abs}, onde NEF 05, NEF 09 e NEF 12 quando condicionados a 30% da lama do Rio Doce, aos 50 DAT, apresentaram maiores valores de PI_{total}. Porém, como a maioria dos parâmetros na maioria dos acessos essa diferença mostrou-se inexistente ao fim do período experimental (Figura 11 f-j). Apenas NEF 04 ainda manteve diferença entre T_0 e T_2, com este último apresentando maior PI_{total}.

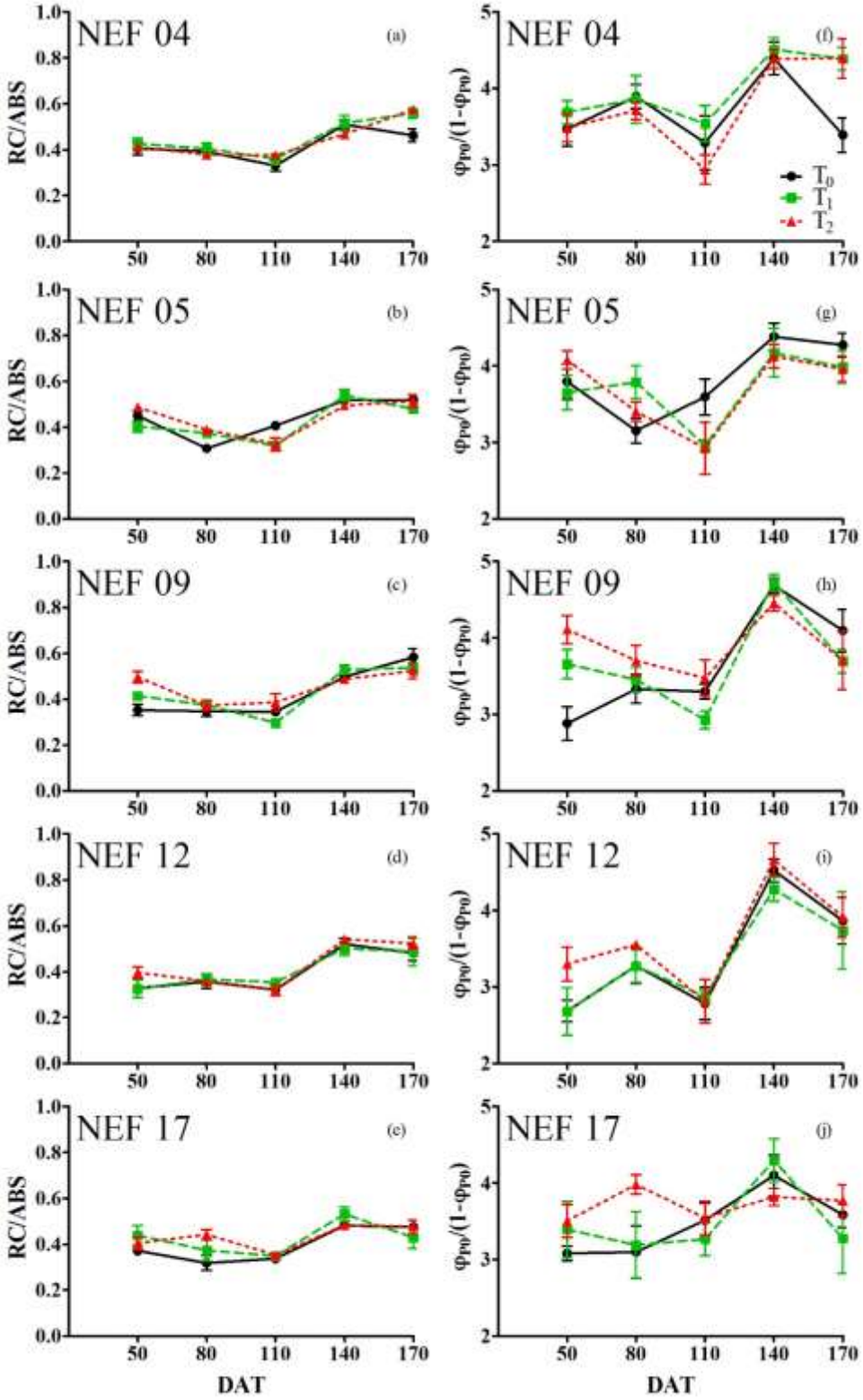

Figura 8 – Densidade de centros de reação fotossintéticamente ativos do FSII (RC/ABS) e eficiência das reações fotoquímicas do FSII (φP_0/1- φP_0) de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5).

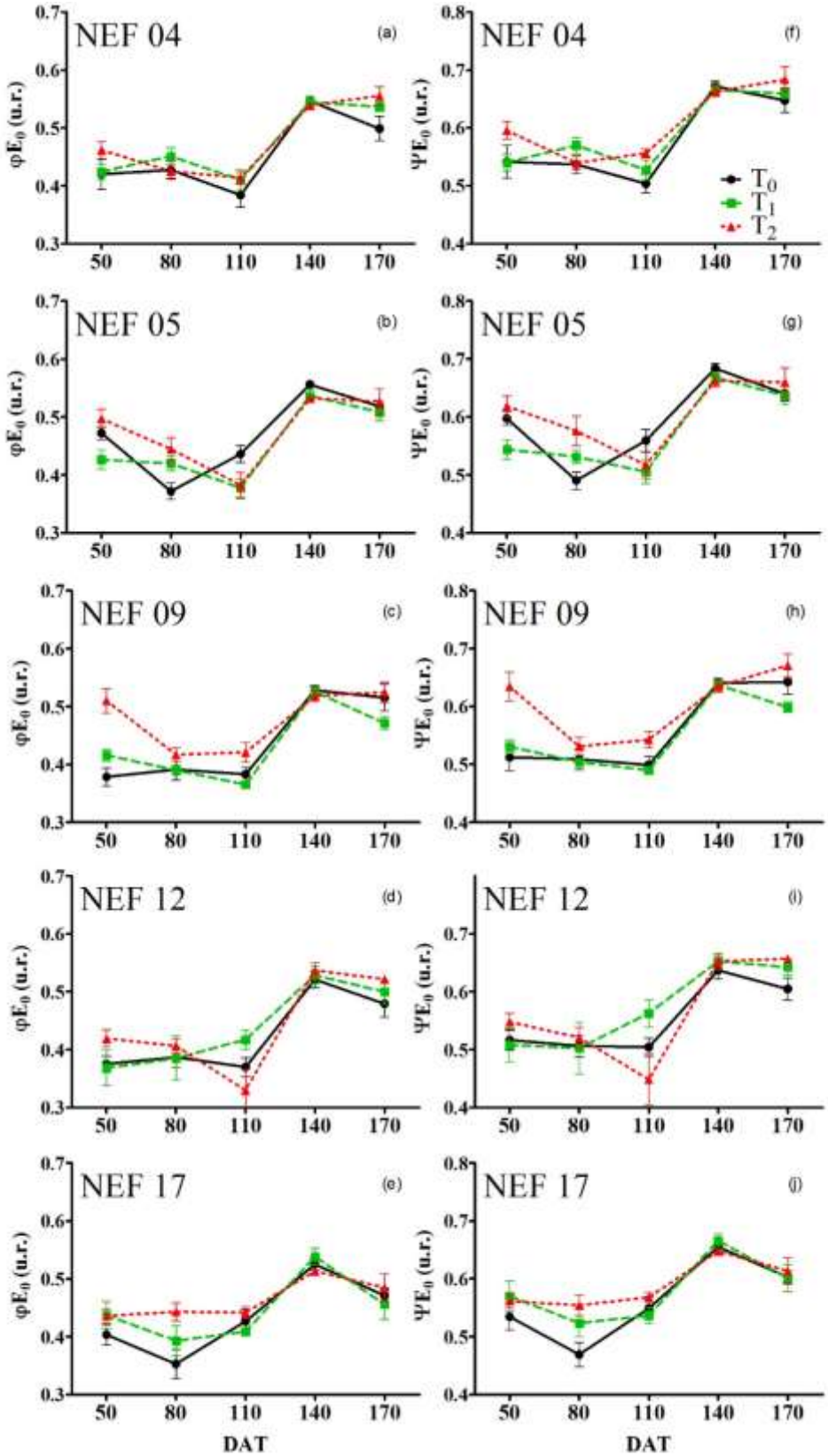

Figura 9 – Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores de elétrons do intersistema (φE_0) e probabilidade (t=0) que um éxciton capturado tem em mover um elétron na CTE após Q_A^- (ψE_0) de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5).

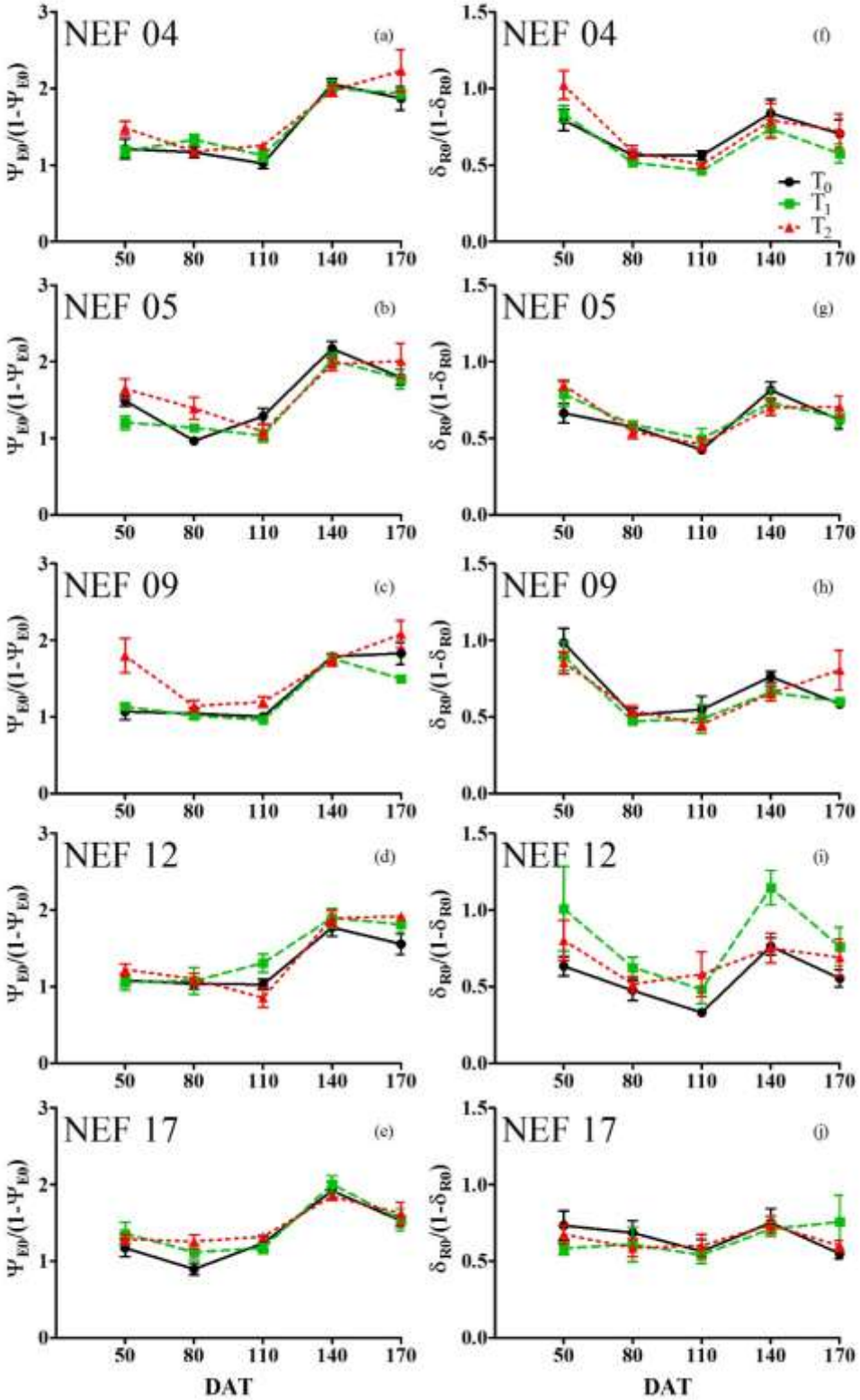

Figura 10 – Eficiência das reações fotoquímicas após a redução da Q_A^- [$\psi_{E0}/(1-\psi_{E0})$] e desempenho das reações de oxi-redução do FSI [$\delta_{R0}/(1-\delta_{R0})$] de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5).

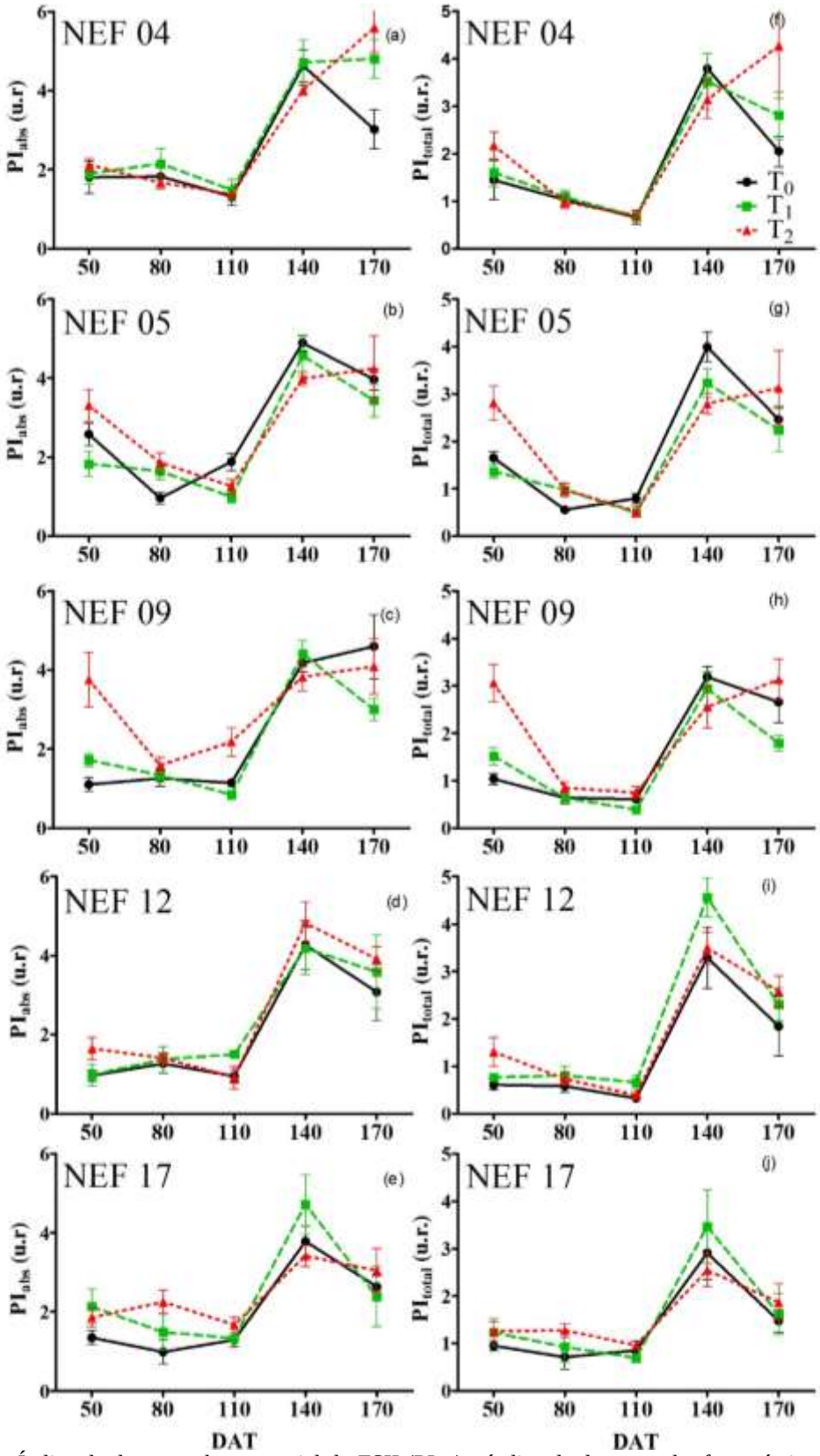

Figura 11 – Índice de desempenho potencial do FSII (PI_{abs}) e índice de desempenho fotoquímico total (PI_{total}) de cinco acessos de *Jatropha curcas* L. cultivados em solos contendo três diferentes concentrações de lama do Rio Doce. T_0 = Controle = plantas cultivadas em substrato constituído de terra e areia (2:1); T_1 = 10% de lama do Rio Doce e 90% de terra e areia (2:1); T_2 = 30% de lama e 70% de terra e areia (2:1). Os dados apresentados são a média ± erro padrão. (n=5).

5.4.2. Fluorescência Modulada

A anova realizada com os dados da fluorescência modulada por imagem (APÊNDICE – Tabela 14) revelou a existência de diferença estatística, pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, somente para os acessos, isto é, fator 1. Logo, a significância das concentrações de lama do Rio Doce (fator 2) e a interação entre o fator 1 e 2 foi inexistente. Os parâmetros que apresentaram diferenças estatísticas para o fator 1 na anova foram: $Y_{(II)}$, $Y_{(NPQ)}$ e qN.

Dentre as diferenças observadas destaca-se NEF 05, que teve comportamento isoladamente diferente dos demais acessos de *Jatropha curcas* L., obtendo um menor $Y_{(II)}$ e maiores valores médios de $Y_{(NPQ)}$ e qN. Essas diferenças estatísticas foram ilustradas pelo *software* Imaging-PAM com a representação por escala de cores (Figura 13), onde o $Y_{(II)}$ de NEF 05 apresenta valores próximos a 0,65, enquanto os outros acessos têm valores médios próximos a 0,71. O mesmo ocorre com $Y_{(NPQ)}$ nos acessos NEF 04, NEF 09, NEF 12 e NEF 17 apresentam valores médios próximos a 0,09, ao passo que NEF 05 têm valores médios próximos a 0,12. Por fim para o qN, NEF 05 é o único a apresentar valores médios próximos a 0,42. A representação gráfica e estatística deste conjunto de dados está presente na Figura 12.

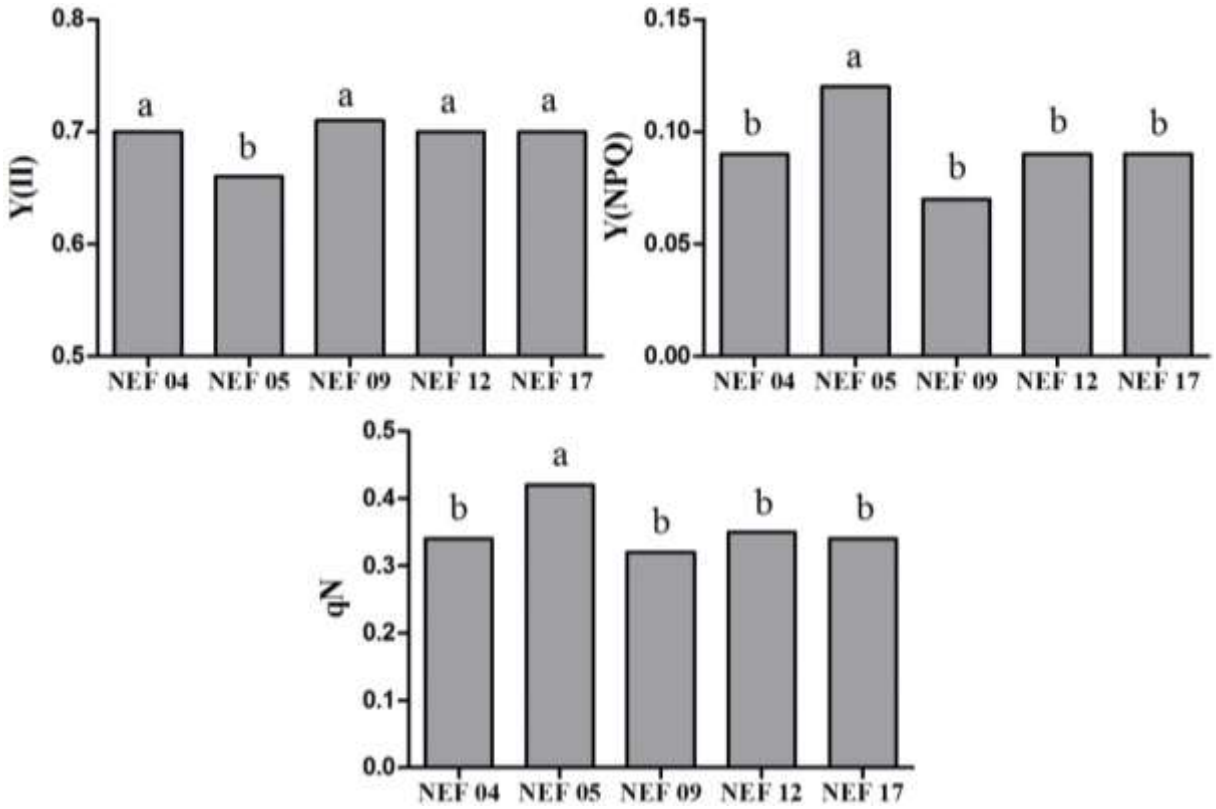

Figura 12- Parâmetros da fluorescência da clorofila *a* obtidos pela técnica de pulso de amplitude modulada (PAM) $Y_{(II)}$: rendimento quântico do FSII , $Y_{(NPQ)}$: rendimento quântico de dissipação de energia regulada e qN: coeficiente de extinção não fotoquímica. Parâmetros determinados utilizando folhas de *Jatropha curcas* L, n = 9.

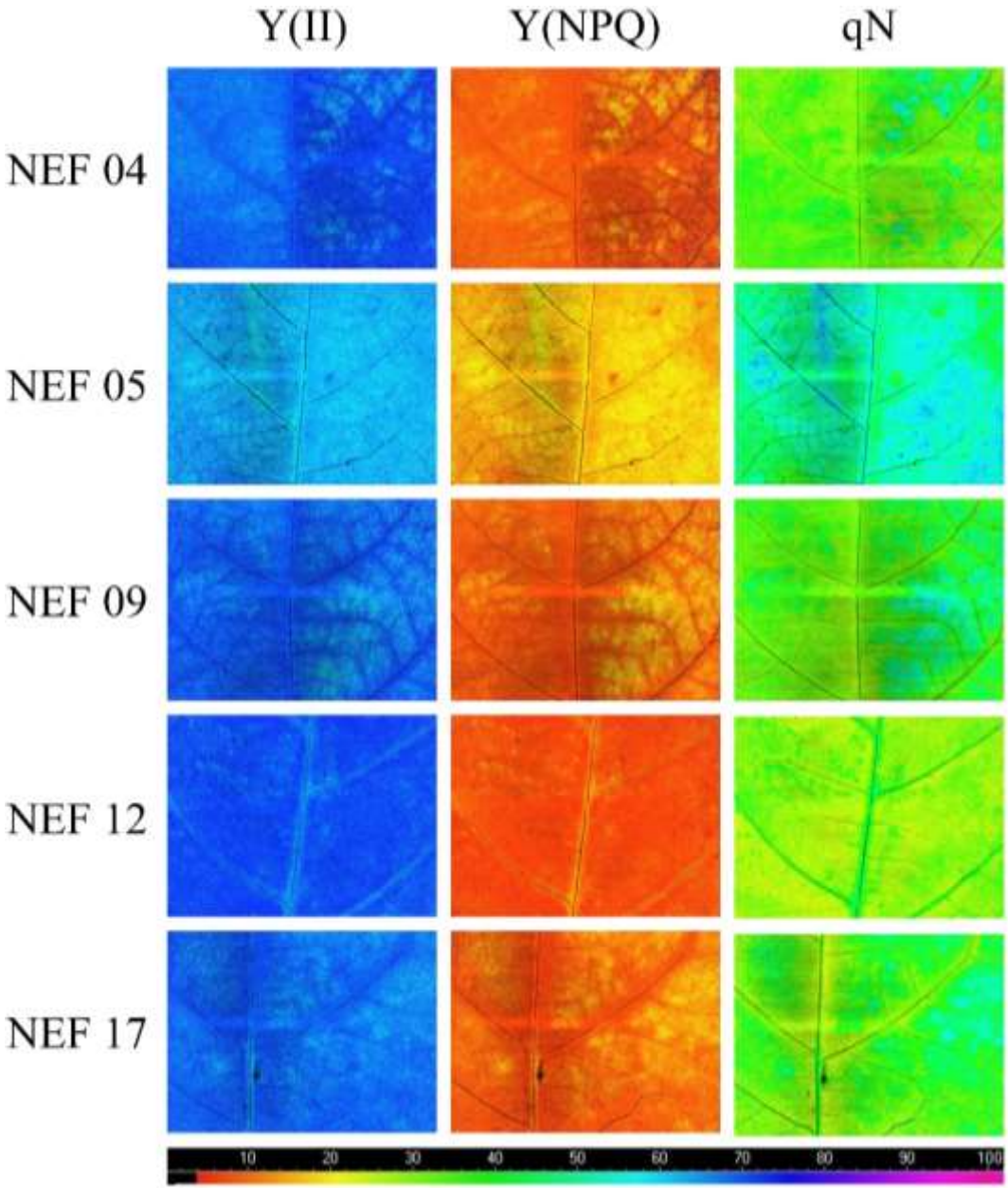

Figura 13 – Parâmetros da fluorescência da clorofila *a*. $Y_{(II)}$: rendimento quântico do FSII , $Y_{(NPQ)}$: rendimento quântico de dissipação de energia regulada e qN: coeficiente de extinção não fotoquímica. Parâmetros determinados utilizando folhas de *Jatropha curcas* L., n = 9. Cada imagem na mesma linha representa a mesma folha e a escala de cores ao final da figura indica os valores que vão do 0 a 100.

5.4.3 Trocas Gasosas

Na primeira medida de trocas gasosas aos 50 DAT os acessos (fator 1) foram significativos em nível de 5% pelo teste de Scott-Knott enquanto que as concentrações de lama do Rio Doce (fator 2) não. Como consequência, não houve significância na interação entre estes fatores. Esse comportamento também ocorreu aos 80 e 170 DAT. Os acessos e as concentrações de lama do Rio Doce só apresentaram significância e consequentemente a interação aos 140 DAT. Já aos 110 DAT nenhum dos fatores apresentou significância (APÊNDICE – Tabela 13).

Observando a Figura 14 nota-se que as plantas do acesso NEF 04 foram as que apresentaram a maior taxa de transpiração e NEF 12 as menores taxas. Os demais acessos (NEF 05, NEF 09 e NEF 17) apresentaram médias intermediárias entre os dois acessos citados anteriormente. Quanto a eficiência no uso da água (A/E), os acessos NEF 05, NEF 12 e NEF 17 não diferiram estatisticamente entre si apresentando as maiores médias quando comparadas aos outros dois acessos.

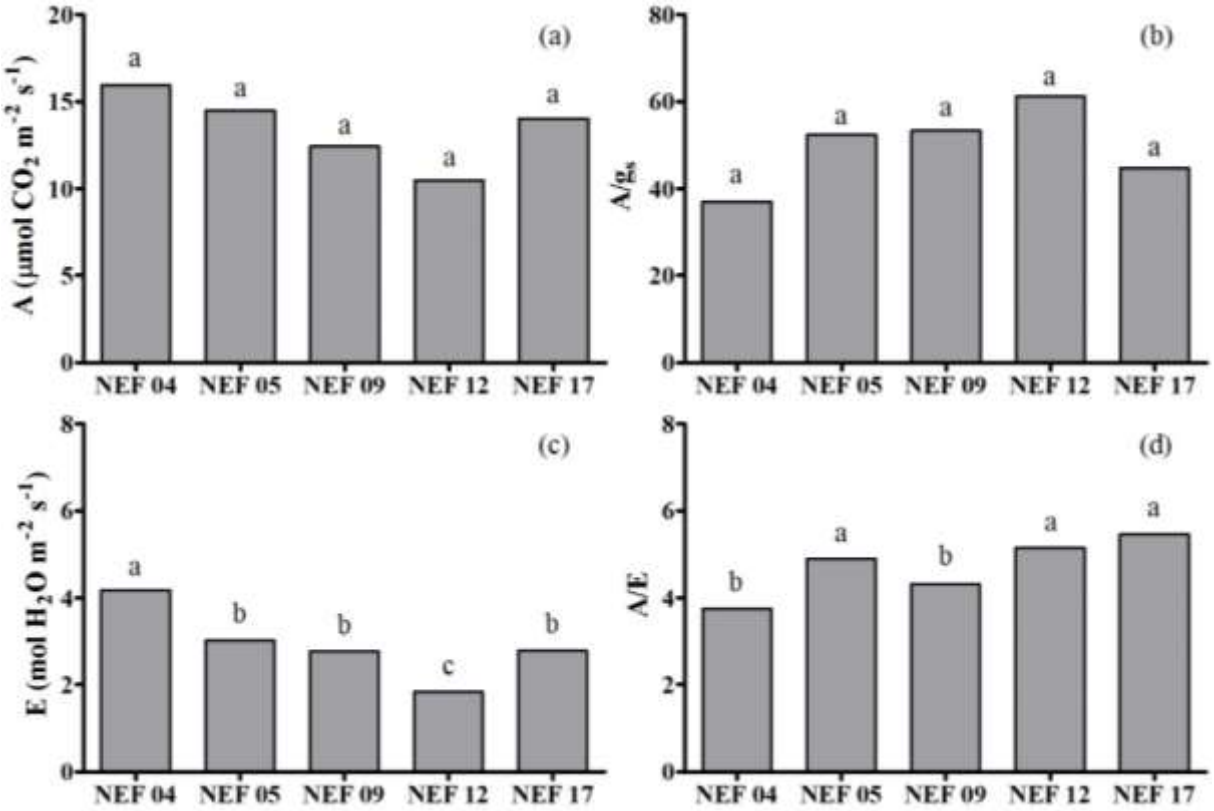

Figura 14 – Taxa de fotossíntese líquida (A), eficiência intrínseca no uso da água (A/g_s), taxa de transpiração (E) e eficiência no uso da água (A/E) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. aos 50 DAT. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de significância (n=9).

Aos 80 DAT (Figura 15) a variável que apresentou diferença estatística foi a condutância estomática (g_s). Os acessos NEF 12 e NEF 17 não foram estatisticamente diferentes entre si e mostraram uma maior condutância estomática perante os demais acessos. Em relação a A, E e A/E, todos os acessos apresentaram valores estatisticamente semelhantes.

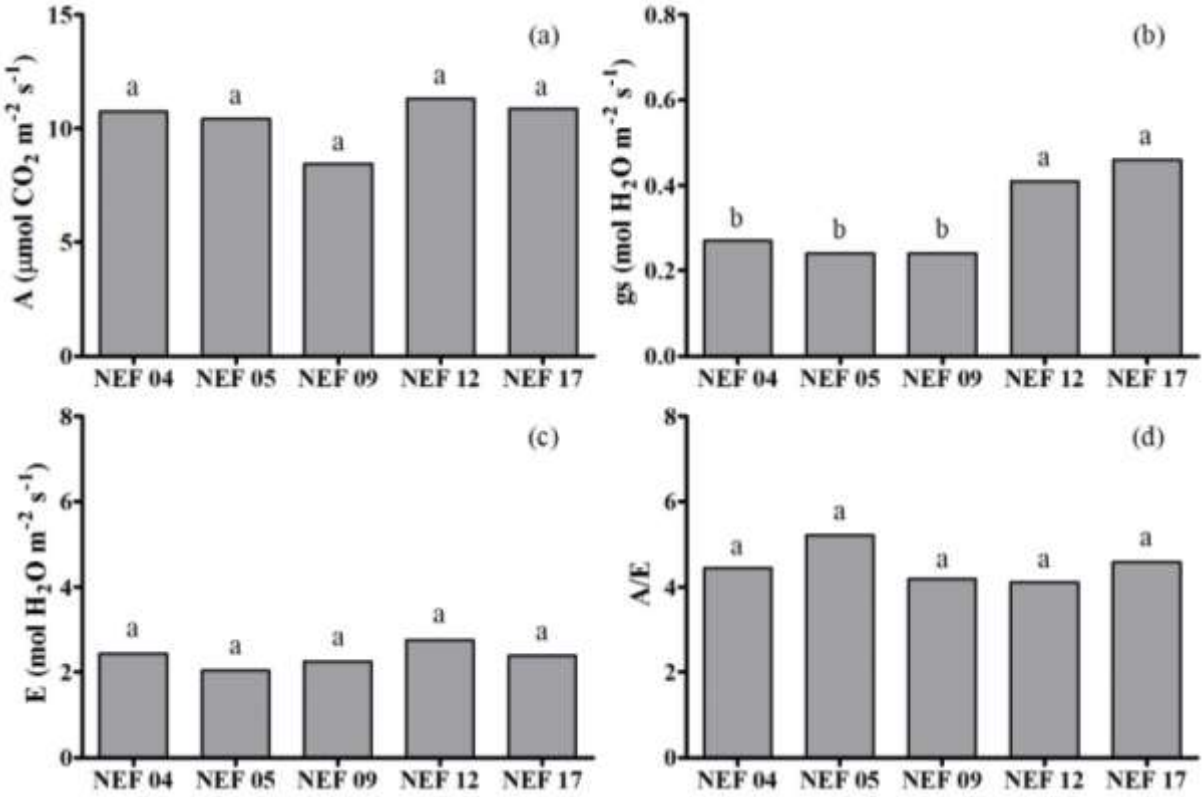

Figura 15 – Taxa de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E) e eficiência no uso d'água (A/E) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. aos 80 DAT. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de significância (n=9).

O único período experimental em que a interação entre os acessos (fator 1) e as diferentes concentrações de lama do Rio Doce (fator 2) ocorreu foi aos 140 DAT. Nesse período as variáveis que apresentaram significância foram a taxa líquida de fotossíntese (A), taxa de transpiração (E), eficiência intrínseca no uso da água (A/g_s) e eficiência no uso da água (A/E).

Observando a Figura 16 é possível perceber que os diferentes acessos reagem de forma distintas perante as condições impostas no experimento. Nota-se que enquanto os acessos NEF 04 e NEF 09 apresentam uma queda na taxa de fotossíntese líquida só na condição com T_2 (30% da lama do Rio Doce), NEF 17 já apresentou esta queda na condição de T_1 (10% da lama do Rio Doce). Este comportamento diferenciado também foi visto na taxa de transpiração, destacando NEF 12 e NEF 17. Este primeiro apresentou as maiores e o segundo as menores taxas de transpiração independente das concentrações de lama no solo.

Para os acessos NEF 04, NEF 09 e NEF 17 sob o T_2 (com 30% de lama do Rio Doce no substrato) ocorreu um aumento na eficiência intrínseca no uso da água, enquanto que para NEF 05 a A/g_s decresceu já na condição T_1. Porém quando se observa a A/E, as contrações de lama só exerceram influência nos acessos NEF 05 e NEF 17 que diminuíram a eficiência no uso da água perante estas condições.

Os acessos NEF 09 e NEF 12, independentemente das diferentes concentrações de lama do Rio Doce, apresentaram as menores médias para eficiência no uso da água. Além disso, NEF 12 manteve-se inalterado tanto A/g_s quanto para A/E sob as diferentes concentrações de lama do Rio Doce.

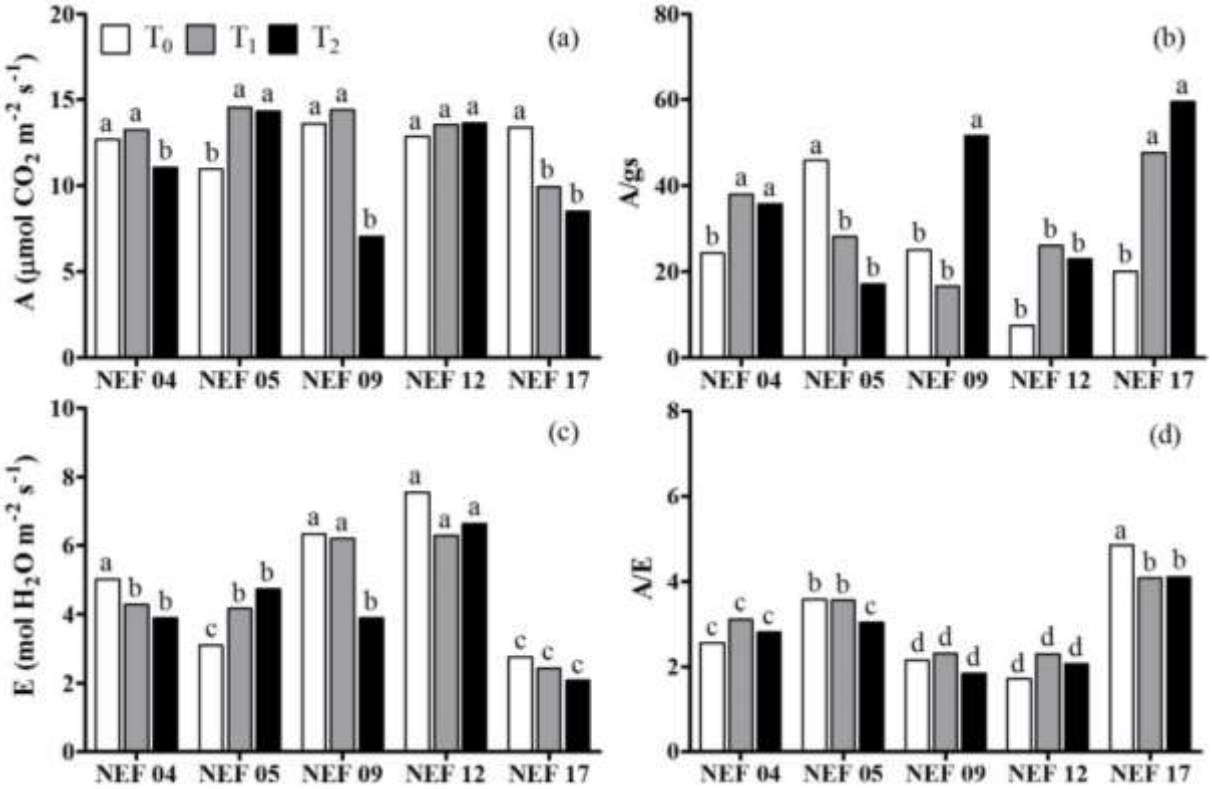

Figura 16 - Taxa de fotossíntese líquida (A), taxa de transpiração (E), eficiência intrínseca no uso da água (A/gs) e eficiência no uso da água (A/E) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. sob três concentrações de lama do Rio Doce. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de significância (n=3).

Aos 170 DAT, último período experimental, a significância das concentrações de lama do Rio Doce (fator 2) e consequentemente da interação desapareceu, sendo observada somente diferenças significantes entre os acessos de *Jatropha curcas* L. (Figura 17).

Neste período, NEF 12 apresentou, isoladamente, a maior taxa de fotossíntese e também a maior taxa de transpiração frente aos demais acessos. Contudo, juntamente com NEF 05 e NEF 17, apresentou a menor eficiência no uso da água, tanto em A/g_s como em A/E. Dessa forma NEF 04 e NEF 09 apesar de apresentarem menores médias na taxa de fotossíntese líquida, obtiveram uma menor transpiração refletindo num maior aproveitamento no uso da água (A/g_s e A/E). Entretanto, NEF 05 e NEF 17 mesmo apresentando a mesmas médias na taxa de fotossíntese líquida e transpiração que NEF 04 e NEF 09 não se mostraram eficientes no uso da água.

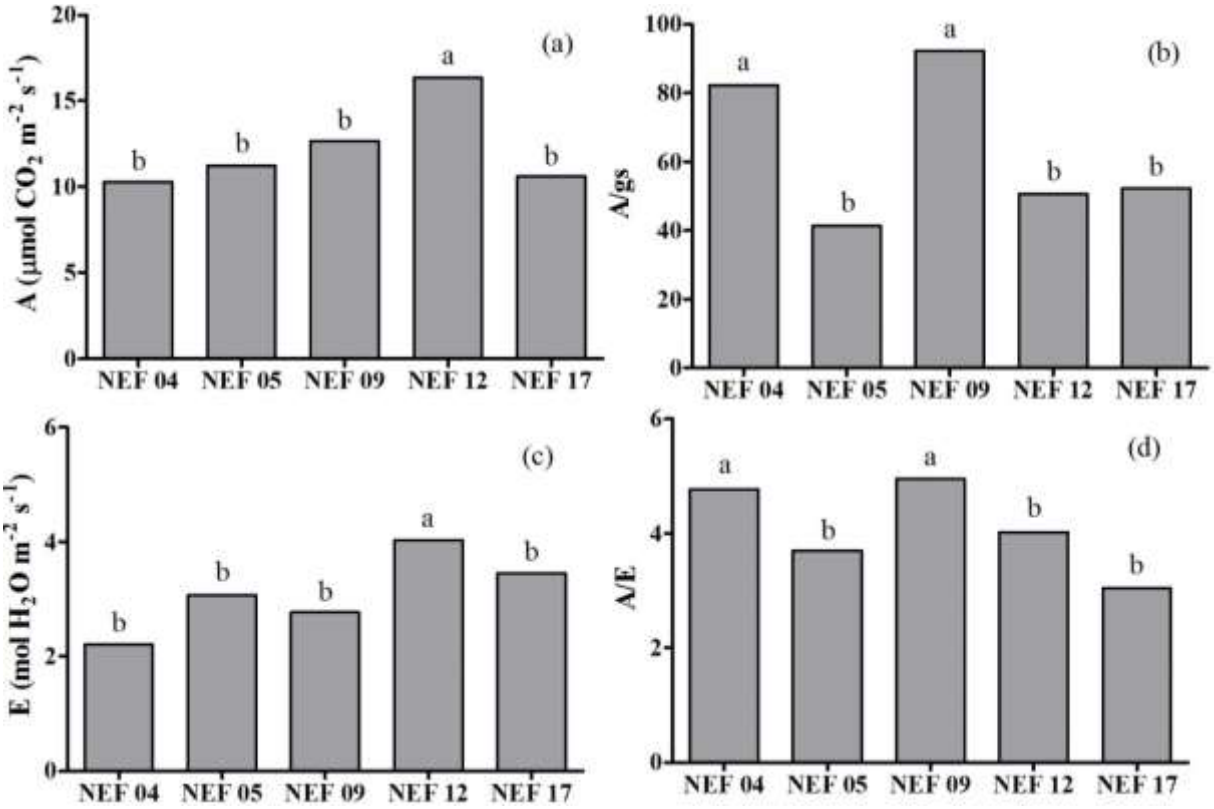

Figura 17 - Taxa de fotossíntese líquida (A), taxa de transpiração (E), eficiência intrínseca no uso da água (A/g_s) e eficiência no uso da água (A/E) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de significância (n=9).

5.4 ENZIMAS ANTIOXIDANTES

As alterações na atividade das enzimas antioxidantes em folhas de *Jatropha curcas* L. ao final do período experimental estão presentes na Figura 18. A APX não apresentou alterações significativas, em nível de 5% pelo teste de Scott-Knott, diante das condições experimentais, isto é, não houveram diferenças na atividade da enzima entre os diferentes acessos de pinhão manso e nem entre as diferentes concentrações da lama do Rio Doce. A atividade da CAT por outro lado, obteve comportamentos distintos para cada um dos cinco acessos de *Jatropha curcas* L. Para NEF 04 e NEF 05 a condição de 30% de lama do Rio Doce (T_2), influenciou a maior atividade dessa enzima, ao passo que NEF 09 e NEF 12 não sofreram alterações diante das diferentes concentrações de lama. Contudo, NEF 09 apresentou uma alta atividade enzimática independente das concentrações de lama, enquanto que em NEF 12 observou-se baixa atividade da CAT nas mesmas condições.

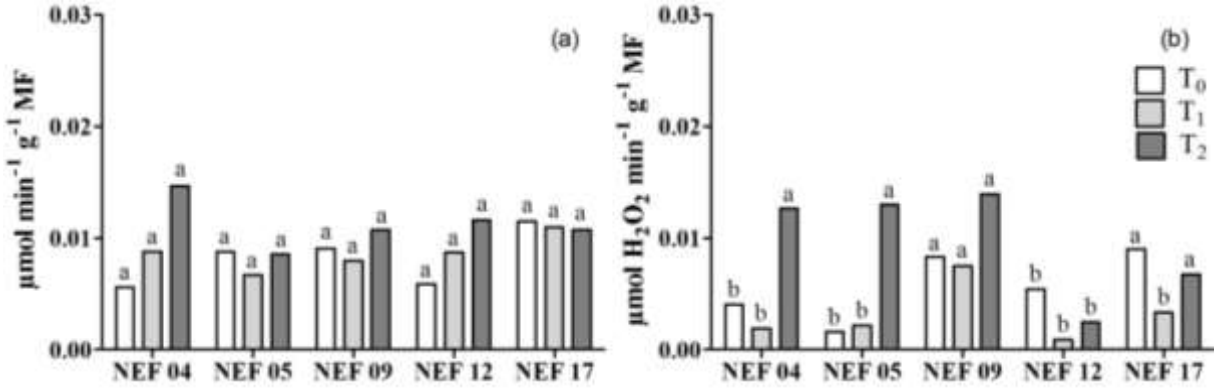

Figura 18 – Atividade das enzimas peroxidase do ascorbato – APX (a) e Catalase – CAT (b) em cinco acessos de *Jatropha curcas* L. submetidos a três concentrações de lama do Rio Doce. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de significância (n=3).

6. DISCUSSÃO

O acúmulo de macro e micronutrientes nas folhas de *Jatropha curcas* L. encontrados no presente estudo (N > Ca > K > Mg > P > S > Fe > Mn > B > Zn > Cu), foram semelhantes aos reportados por Saturnino (2005). Já Laviola e Dias (2008), encontraram resultados ligeiramente diferentes (N > Ca > K > Mg > P > S > Mn > Fe > B > Zn > Cu), com o teor de Mn sendo superior ao teor de Fe. Diante dessas circunstâncias, os referidos autores, afirmam que a alta demanda de *Jatropha curcas* L. por N ocorre devido a alta taxa de crescimento apresentada pela espécie.

Já os teores de As, Cd e Pb quantificados no tecido foliar dos diferentes acessos de *Jatropha curcas* L., foram muito abaixo do relatado para a bioacumulação da espécie em áreas com real contaminação por esses elementos. Estudos como o de Wu et al. (2011) reportaram a bioacumulação de Cd e Pb em folhas de *Jatropha Curcas* L. nas proporções de 3 mg/Kg^{-1} e 18 mg/Kg^{-1}, respectivamente, em solos contaminados. Já MARQUES et al. (2013) observou reduções significativas de biomassa em plantas de *Jatropha curcas* L. quando a bioacumulação de Cd foi superior a de 5 mg/Kg^{-1} no tecido foliar.

Por não atuarem em nenhuma parte do metabolismo vegetal, principalmente Cd e Pb, o excesso de bioacumulação destes metais ocasionam significantes perdas de biomassa (CHANG et al., 2014), pois afetam o desempenho do aparato fotossintético (SHU et al., 2012). Como o desempenho fotossintético (fluorescência da clorofila *a* e taxa de fotossíntese líquida) das plantas submetidas as concentrações de 10% (T_1) e 30% (T_2) de lama do Rio Doce não se diferenciaram do controle (T_0), é possível presumir que os referidos elementos não ocasionaram danos às plantas, perante as condições analisadas. Estes resultados corroboram as afirmações

de Viana e Costa (2016), de que amostras de lama coletadas no Rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão, não apresentaram toxicidade.

Por outro lado, dentre os principais constituintes do rejeito estava o óxido de ferro (IBAMA, 2016). O Fe é um micronutriente essencial para as plantas e não é tóxico quando disponível em pequenas quantidades no solo (GHAVRI; SINGH, 2010). Dentre todos os micronutrientes essenciais o Fe é o requerido em maior quantidade, e atua em processos metabólicos essenciais como fotossíntese, respiração e biossíntese de clorofila. Também é um componente importante dos vários sítios de ligação de Fe. Apesar disso, altos níveis de Fe podem ser extremamente tóxicos, pois reagem com oxigênio e catalisam a produção de EROs, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^-) (KOBAYASHI; NISHIZAWA, 2012).

No entanto, os acessos NEF 05, NEF 09 e NEF 12 quando expostos a 30% (v/v) de lama do Rio Doce (T_2), aos 50 DAT, mostraram um aumento nos índices de desempenho PI_{abs} e P_{Itotal}. Esse incremento, foi devido ao aumento dos índices de φE_0 e ψE_0, sinalizando um possível uso eficiente de Fe pelos fotossistemas dos indivíduos de *Jatropha curcas* L. neste período inicial. Pois é sabido que existe alta demanda deste elemento pelo aparelho fotossintético, em razão da participação na transferência de elétrons através de reações redox, alternando entre as formas Fe^{2+} e Fe^{3+} (XING et al., 2009; KOBAYASHI; NISHIZAWA, 2012). Contudo, após 170 DAT, NEF 05, NEF 09, NEF 12 e NEF 17 não apresentaram diferenças entre os índices de φE_0, ψE_0, PI_{abs} e P_{Itotal}. Indicando que o excesso Fe não influenciou na perda inicial da atividade dos FSII e FSI. As hipóteses sobre essa homeostase do ferro absorvido são diversas, desde a produção de ferritina até o simples armazenamento nos vacúolos (KOBAYASHI; NISHIZAWA, 2012), o fato é que os indivíduos de *Jatropha curcas* L. foram capazes de neutralizar os efeitos do excesso de Fe e igualar os índices de rendimento e desempenho ao controle no fim do período experimental.

Apenas as plantas do NEF 04, obtiveram no último período experimental diferenças significativas entre os tratamentos com 0% (T_0) e 30% (T_2) de lama do Rio Doce, para os índices de PI_{abs} e P_{Itotal}, onde, supreendentemente, os indivíduos do T_2 apresentaram-se superiores aos do T_0. A maior parte desse incremento deve-se ao aumento de RC/ABS e, principalmente, de $\varphi P_0/(1-\varphi P_0)$. O aumento de RC/ABS, provavelmente está relacionado ao aumento no teor de clorofila que foi intensificado pela quantidade de Fe no substrato (419 mg/dm³). Freitas (2018) estudando *Mangifera indica* L., cv. rosa, sob efeitos da lama do Rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão/MG, observou que em condições de 413 mg/dm³ de Fe os indivíduos

dessa espécies obtiveram reduções no RC/ABS, φP_0, ψE_0, PI_{abs}, $\delta R_0/(1-\delta R_0)$ e PI_{total}, revelando os danos causados pelo excesso de Fe ao aparato fotossintético.

Aos 170 DAT a fluorescência modulada reforçou os resultados obtidos nas demais análises de fluorescência transiente e trocas gasosas, de que ao fim do período experimental não houve diferenças significativas entre os tratamentos com lama do Rio Doce (fator 2) e o controle, indicando uma normalidade das atividades fotossintéticas.

Entretanto, foi observada a diferença quanto ao desempenho fotoquímico entre os acessos (fator 1). Ficou evidente que NEF 05 possui um maior rendimento quântico da dissipação de energia regulada, $Y_{(NPQ)}$, que atrelado a um maior coeficiente de extinção não fotoquímica, qN, resultou em um menor rendimento quântico do FSII, $Y_{(II)}$, perante aos demais acessos de *Jatropha curcas* L. O aumento nos valores de $Y_{(NPQ)}$ sugerem mais energia de excitação sendo dissipada como calor (TATAGIBA et al., 2016), ao passo que qN indicou uma maior atividade de extinção não fotoquímica na membrana do tilacóide (HANELT, 2018), resultando em uma redução do $Y_{(II)}$, a fim de evitar danos fisiológicos. Esses resultados estão de acordo com os estudos de Ulrich e Christof (2008), de que $Y_{(NPQ)}$ atua como um mecanismo foto-protetor, dissipando essa fração de energia no FSII através dos carotenoides associados, e, Kramer et al. (2004) que, como $Y_{(NPQ)}$ e $Y_{(II)}$ são competitivos entre si, o aumento de um, quase sempre, ocorre em redução do outro.

As clorofilas *a* e *b* normalmente ocorrem na proporção de 3:1. Entretanto, os níveis de pigmentos fotossintéticos podem variar dependendo as condições de crescimento e fatores ambientais (LICHTENTHALER, 1987), sendo um ótimo parâmetro para avaliar as alterações ambientais (MANIOS et al., 2003). Neste estudo, aos 50 DAT, foram observadas relações de 4,0 a 6,0, ao passo que aos 170 DAT essa relação reduziu para 4,5 a 5,0. Também foi possível notar que neste período inicial, a Chl *a* foi mais sensível as alterações provocadas pela lama do Rio Doce. Porém, ao final do experimento não houve mais diferenças significativas quanto a lama do Rio Doce (fator 2) somente quanto aos acessos (fator 1).

Os resultados encontrados neste estudo divergem dos resultados encontrados por Xing et al. (2009), estudando *Spirodela polyrrhizza* (L.) SChleid. (planta modelo para fitorremediação) onde o excesso de ferro reduziu significativamente os teores de pigmentos cloroplastídicos em concentrações de 100 mg/dm³. Já, Jucoski et al. (2016), estudando efeitos do Fe sobre o crescimento de *Eugenia uniflora* L. observou que aos 15 DAT houve redução significativa dos teores de clorofilas totais e carotenoides dos tratamentos com maiores teores de Fe em relação ao controle. Dessa forma quando comparada a espécies modelo e espécies nativas, torna-se evidente a tolerância de *Jatropha curcas* L. a solos com até 419 mg Kg^{-1} de

Fe, uma vez que ao final do experimento a concentração de lama não teve influência sobre os teores de clorofilas, carotenoides e suas relações.

As taxas de fotossíntese líquida das plantas de *Jatropha curcas* L. foram pouco afetadas durante o período experimental, e, ao fim deste, o excesso de Fe não provocou danos ao aparato fotossintético dos acessos. Revelando uma certa tolerância as condições experimentais, uma vez que de acordo com Kupper e Andresen (2016) o excesso de Fe pode causar competição com outros metais como Cu, Zn e Ni e ocasionar distúrbios na fotossíntese. O acesso NEF 12 apresentou as maiores taxas de fotossíntese e transpiração, refletindo em um uso da água menos eficiente. Contudo, Gama (2013) alerta que a intensa atividade transpiratória pode contribuir para manter a temperatura foliar estável. Apesar destas diferenças, a eficiência aparente de carboxilação (A/C_i) se manteve a mesma para todos os tratamentos. Provavelmente, em função normal atividade dos fotossistemas e das reações de carboxilação (TAIZ et al., 2017).

Neste trabalho, os resultados obtidos mostram que os níveis de toxicidade de Fe variam de espécie para espécie, corroborando com os trabalhos de Audebert e Fofana (2009). Além disso, estudos como o de Xing et al., 2009 apontam que o excesso de Fe pode degradar a clorofila e modificar vários outros processos fisiológicos. Dobermann e Fairhust (2000) apontam que a toxicidade de Fe em plantas ocorre a partir de 300 mg Kg^{-1}. Entretanto, neste estudo não foi observado efeitos negativos do Fe, nas condições de T_1 (220 mg Kg^{-1}) e T_2 (419 mg Kg^{-1}), sobre os indivíduos de *Jatropha curcas* L. Xing et al. (2009) afirmam que os excessos de metais podem modificar vários processos fisiológicos como a síntese de clorofila e consequentemente do aparato fotossintético. Entretanto esses efeitos não foram observados nos indivíduos de *Jatropha curcas* L., que apresentaram maior teor de clorofila quando submetidas a 30% de lama do Rio Doce (T_2).

Chaves et al. (2010) avaliando efeitos do excesso de cobre (Cu) e zinco (Zn) no desenvolvimento inicial de *Jatropha curcas* L., concluiu que as mesmas são tolerantes até doses de 50 e 75 mg Kg^{-1}, respectivamente e após esse valor houve redução significativa da biomassa. Já Hiraki (2016) avaliando o potencial de fitorremediação de *Jatropha curcas* L. perante diferentes concentrações de níquel (Ni), observou que mesmo nas doses de 100 mg Kg^{-1} não houveram alterações de massa fresca, massa seca e no índice SPAD, mesmo aos 210 DAT. Mostrando que o teor de clorofila, e, tão pouco a fotossíntese e assimilação de carbono foram afetas em seu estudo.

Quanto as enzimas antioxidantes, Mittler (2002) relata as afinidades de APX (alcance em nível de μM) e CAT (alcance em nível mM) para H_2O_2, sugerindo que essas enzimas hajam de formas distintas, isto é, enquanto a APX é responsável pela modulação refinada e sinalização

das EROs, a CAT é responsável pela remoção em larga escala durante o estresse. A APX e CAT estão entre as enzimas mais importantes, que compõe o sistema defesa antioxidante das plantas. Enquanto a APX está presente no cloroplasto (ligada as membranas do tilacóide e estroma) e exige ácido ascórbico como agente redutor a CAT está presente nos peroxissomos e opera sem nenhum agente redutor para converter o H_2O_2 em H_2O e $½O_2$ (MITTLER, 2002; BHATT; TRIPATHI, 2011; DUBEY, 2011; BARBOSA et al. 2014).

Desta forma, fica evidente o alto potencial de *Jatropha curcas* L. para fitorremediar áreas sobre influência de resíduos de mineração de ferro. Em geral, a espécie obteve bons resultados, entretanto, houveram diferenças notáveis quando aos acessos utilizados. A produção de enzimas antioxidantes, isto é, o mecanismo de defesa contra o excesso de Fe foi diferente para cada acesso. NEF 04 e NEF 05 aumentaram significativamente a atividade da CAT nos tratamentos com maior concentração de lama do Rio Doce, mostrando-se mais sensíveis ao excesso de Fe. Ao passo que NEF 12 manteve menor atividade da CAT, independentemente dos tratamentos. Isso, sugere que este acesso, mesmo na condição de 30% de lama do Rio Doce não estava sob condições de estresse. Ademais, nenhum dos acessos, alterou a atividade da APX em função das concentrações de lama do Rio Doce.

7. CONCLUSÃO

Aos 50 DAT, os parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* foram mais sensíveis que os parâmetros das trocas gasosas para identificar as diferenças fisiológicas entre o controle e os tratamentos contendo lama do Rio Doce.

Os parâmetros do teste-JIP mais representativos para demonstrar as alterações fisiológicas provocadas pelas diferentes concentrações de lama do Rio Doce foram ΦE_0, ψE_0, PI_{abs} (RC/ABS $_x$ ΦP_0/1- ΦP_0 $_x$ ψE_0/1- ψE0) e PI_{total} (PI_{abs} $_x$ δR_0/1- δR_0).

Em geral *Jatropha curcas* L. mostrou-se uma espécie com alto potencial para fitorremediar as áreas com Fe em concentrações de até 419 mg Kg^{-1}. Contudo, dentre os cinco acessos avaliados, NEF 12 sobressaiu aos demais. Isto porque, foi capaz de bioacumular a maior quantidade de Fe em suas folhas, registrou as menores atividades da CAT independentemente dos tratamentos e apresentou, isoladamente, a maior taxa de fotossíntese líquida ao final do experimento.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated Chloropast Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.

AUDEBERT, A.; FOFANA, M. Rice yield gap due to iron toxicity in west Africa. **J. Agronomy & Crop Science**. v. 195, p. 66-76, 2009.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**. v. 44, n. 3, p. 453-460, mar, 2014.

BHATT, I.; TRIPATHI, B.N. Plant peroxiredoxins: catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 850-859, 2011.

BRIAT, J.; DUC, C.; RAVET, K.; GAYMARD, F. Ferritins and iron storage in plants. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1800, p. 806-814, 2010.

BURKEN, J. B. Fate and Partitioning in Vegetation: use of Tree Cores in Groundwater Analysis. **Environmental Science Technology**. v. 36, n. 21, p. 4663-4668, 2002.

CHANG, F.; KO, C.; TSAI, M.; WANG, Y.; CHUNG, C. Phytoremediation of heavy metal contaminated soil by *Jatropha curcas*. **Ecotoxicology**, v. 23, p. 1969-1978, 2014.

CHAVES, L. H. G.; MESQUITA, E. F.; ARAUJO, D. L.; FRANÇA, C. P. Crescimento, distribuição e acúmulo de cobre e zinco em plantas de pinhão-manso. **Revista Ciência Agronômica**. v. 41, n. 2, p. 167-176, abr-jun, 2010.

CHAVES, L. H. G.; SOUZA, R. S.; Fitoextração de cobre e zinco de um neossolo quartzarênico contaminado com metais pesados. **Comunicata Scientiae**. v. 6, n. 4, p. 396, dez. 2015.

CHEN, Y.; CUI, J.; YANG, J.; ZHANG, Z.; YUAN, M.; SONG, C.; YANG, H.; LIU, H.; WANG, C.; ZHANG, H.; ZENG, X.; YUAN, S. Biomonotoring heavy metal contminations by moss visible parameters. **Journal of Hazardous Materials**. v. 296, p. 201-209, 2015.

DOBERMANN, A.; FAIRHURST, T. **Rice**: nutrient disorders and nutrient management. Manila: International Rice Research Institute, 2000. 191 p.

DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Chap.9, p.178-203.

FREITAS, J. F. N. **Crescimento inicial e eficiência fotoquímica de mangueiras cultivadas em solo contendo lama do rio doce**. Dissertação, Campus de Goiabeiras, Mestre em Biologia Vegetal, Vitória: UFES, 2018. 63p.

GAMA, V. N. **Análises morfofisiológicas de plantas de pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) cultivadas em pleno sol e em sombreamento natural**. Dissertação, Campus de Goiabeiras, Mestre em Biologia Vegetal, Vitória: UFES, 2013. 90p.

GAO, S., OU-YANG, C.; TANG, L.; ZHU, J.; XU, Y.; WANG, S.; CHEN, F. Growth and antioxidant responses in *Jatropha curcas* seedlings exposed to mercury toxicity. **Journal of Hazardous Materials**. v. 182, p. 591-597, out. 2010.

GAO, S.; YAN, R.; CAO, M.; YANG, W.; WANG, F.; CHEN, F. Effects of cooper in growth, antioxidants enzymes and phenylalanine ammonia lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. **Plant, Soil and Environment**, v. 54, n. 3, p. 117-122, 2008.

GHAVRI, S. V.; SINGH, R. P. Phytotranslocation of Fe by biodiesel plant *Jatropha curcas* L. grown on iron rich wasterland soil. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 4, p. 235-243, 2010.

GOLTSEV, V. N; KALAJI, H. M.; PAUNOV, M.; BABA, W.; HORACZEK, T.; MOJSKI, J.; KOCIEL, H.; ALLAKHVERDIEV, S. I. Variable Chlorophyll Fluorescence and Its Use for Assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. **Fiziologiya Rastenii**. v. 63, n. 6, p. 881-907, 2016.

GOVINDJEE; SHEVELA, D.; BJÖRN, L. O. Evolution of the Z-Scheme of photosynthesis: a perspective. **Photosynth. Res.** v. 133, p. 5-15, 2017.

GUIDI, L; DEGL'INNOCENTI, E. **Imaging of Chlorophyll a Fluorescense: A Tool to Study Abiotic Stress in Plants**. In: Arun Shanker and B. Venkateswarlu, IntechOpen, DOI: 10.5772/22281. Italy, 2011.

HANELT, D. Photosynthesis assessed by Chlorophyll fluorescence. In: Bioassays, advanced methods and aplications. **Elsevier**. p.169-198, 2018.

HATJE, V.; PEDREIRA R. M. D.; REZENDE, C. E.; SCHETTINI, C. A. F.; SOUZA, G. C.; MARIN, D. C.; HACKSPACHER, P. C. The enviromental impacts of one of the largerst tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**. v. 7, p. 1-13, sep. 2017.

HELLER, J. Physic Nut Jatropha curcas L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1st ed. Rome. International Plant Genetics Resources Institute, p. 13-35.

HIRAKI, S. S. **Tolerância e potencial fitorremediador de J*atropha curcas* L. aos metais níquel e cobre**. Tese, Campus de Botucatu, Doutor em Ciências Biológicas (Botânica), AC: Fisiologia Vegetal BOTUCATU, 2016. 85p.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. 1950. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley, CA: **Agric. Exp. Stn**., Univ. of California. (Circ. 347).

IBRAHIM, M. A. R.; SROUR, H. A. M. Effect of solar UV radiation on antioxidant enzymes and phenols biosynthesis in lettuce (*Lactuca sativa*). **Arab Universities Journal of Agricultural Sciences**, v. 3, n. 1, p. 101-108, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Rompimento da barragem de Fundão: Documentos relacionados ao desastre da Samarco em Mariana/MG**. Ministério do Meio Ambiente. 2016. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/cites-e-comercio-exterior/cites?id=117>. Acesso em: 26 de maio de 2018.

JIANG, M.; ZHANG, J. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. **Journal of Experimental Botany**. v. 53, n. 379, p. 2401-2410, 2002.

JUCOSKI, G. O.; CAMBRAIA, J.; RIBEIRO, C.; OLIVEIRA, J. A. Excesso de ferro sobre o crescimento e composição mineral de *Eugenia unifólia* L. **Revista Ciência Agronômica**. v. 47, n. 4, p. 720-728, out-dez, 2016.

KALAJI, H. M.; JAJOO, A.; OUKARROUM, A.; BRESTIC, M.; ZIVCAK, M.; SAMBORSKA, I. A.; CETNER, M .D.; LUKASIK, I., GOLTSEV, V.; LADLE, R. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions . **Acta Physiol Plant**. v. 38, p. 102, 2016.

KALAJI, H. M.; SCHANSKER, G.; LADLE, R. J.; GOLTSEV, V.; BOSA, K.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; BRESTIC, M.; BUSSOTTI, F.; CALATAYUD, A.; DA BROWSKI, P.; ELSHEERY, N. I.; FERRONI, L.; GUIDI, L.; HOGEWONING, S. W.; JAJOO, A.; MISRA, A. N.; NEBAUER, S. G.; PANCALDI, S.; PENELLA, C.; POLI, D. B.; POLLASTRINI, M.; ROMANOWSKA-DUDA, Z. B.; RUTKOWSKA, B.; SERÔDIO, J.; SURESH, K.; SZULC, W.; TAMBUSSI, E.; YANNICCARI, M.; ZIVACK, M. Frequently asked questions about in vivo Chlorophyll fluorescence: practical issues. **Photosynthesis Research**, v. 122, n. 2, p. 121-158, 2014.

KOBAYASHI, T.; NISHIZAWA, N.; Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. **Annu. Rev. Plant Biol.** v. 63, p. 131-152, 2012.

KRAMER, D. M.; JOHNSON, G.; KIIRATS, O.; EDWARDS, G. E. New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes. **Photosynthesis Research**. v. 29, p. 209-218, 2004.

KUPPER, H.; ANDRESEN, E. Mechanisms of metal toxicity in plants. **Metallomics**. v. 8, p. 269-285, 2016.

LAVIOLA, B. G.; BHERING, L. L.; MENDONÇA, S.; ROSADO, T. B.; ALBRECHT, J. C. Caracterização morfo-agronômica do banco de germoplasma de pinhão manso na fase jovem. **Bioscience Journal**, v. 27, p. 371-379, 2011.

LAVIOLA, B. G.; DIAS, L. A. S.; Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão-manso. **R. Bras. Ci. Solo**. v. 32, p. 1969-1965, 2008.

LAVIOLA, B. G.; SILVA, S. D. A.; JÚHASZ, A. C. P.; ROCHA, R. B.; OLIVEIRA, R. J. P.; ALBRECHT, J. C.; ALVES, A. A.; ROSADO, T. B. Desempenho agronômico e ganho genético pela seleção de pinhão-manso em três regiões do Brasil. **Pesq. Agropec**. Bras. Brasília, v. 49, n. 5, p. 356-363. maio, 2014.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (eds.). **Methods in Enzimology**. London: Academic Press, v. 18, p. 350-381, 1987.

MANIOS, T.; STENTIFORD, E. I.; MILLNER, P. A. The effect of heavy metals accumulation on the Chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in a substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferus water. **Ecological Engineering**. v. 20, p. 65-74, 2003.

MARRUGO-NEGRETE, J.; DURANGO-HERNÁNDEZ, J.; PINEDO-HERNÁNDEZ, J.; OLIVERO-VERBEL, J.; DÍEZ, S. Phytoremediation of mercury-contaminated soils by *Jatropha curcas*. **Chemosphere**. v. 127, p. 58-62, maio 2015.

MARQUES, M. C.; DO NASCIMENTO, C. W. A. Analysis of Chlorophyll flurescence spectra for the monitoring of Cd toxicity in a bio-energy crop (*Jatropha curcas*). **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. n. 127, p. 88-93, 2013.

MARQUES, T. C. L. L. DE S. E.; MOREIRA, F. M. DE S.; SIQUEIRA J. O. Crescimento e teor de metais de mudas de espécies arbóreas cultivadas em solos contaminado com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, n. 1, p. 121-132, jan. 2000.

MARTINS, L. D.; TOMAZ, M. A.; DO AMARAL, J. F. T.; LAVIOLA, B. G.; BORCARTE, M. Desenvolvimento inicial em mamona e pinhão-manso em solos submetidos a diferentes corretivos e doses de fósforo. **Revista Verde**. Mossoró, RN, v. 5, n. 1, p. 143-150, jan/mar, 2010.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence – a pratical guide. **Journal of Experimental Botany**. v. 51, n. 345, p. 659-668, apr, 2000.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Desenvolvimento Regional, Política Urbana e Gestão Metropolitana. **Relatório: Avaliação dos efeitos e desdobramentos do rompimento da barragem de Fundão em Mariana-MG**. Minas Gerais, 2016. 287 p.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **TRENDS in Plant Science**. v. 7, n. 9, sep. 2002.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hidrogen peroxide is sacavenged b ascorbate-specific peroxidase in spinach Chloroplast. **Plant Cell Physiology**. v. 22, p. 867-880, 1981.

NAWAB, J.; KHAN, S.; SHAH, M. T.; GUL, N.; ALI, A.; KHAN, K.; HUANG, Q. Heavy metal bioaccumulation in native plants in chromite impacted sites: A search for effective remediating plant species. **CLEAN – Soil, Air, Water**. v. 44, n. 1, p. 37-46, jan. 2016.

PECINA-QUINTERO, V.; ANAYA-LOPÉZ, J. L.; ZAMARRIPA-COLMENERO, A.; NÚÑEZ-COLÍN, C. A.; MONTES-GARCÍA, N.; SOLÍS-BONILLA, J. L.; JIMÉNEZ-BECERRIL, M. F. Genetic structure of *Jatropha curcas* L. in Mexico and probable center of origen. **Biomass and Bioenergy**. v. 60, p. 147-155, jan. 2014.

PAUNOV, M.; KOLEVA, L.; VASSILEV, A.; VANGRONSVELD, J.; GOLTSEV, V. Effects of Different Metals on Photossynthesis: Cadmium and Zinc Affect Chlorophyll Fluorescence in Durum Wheat. **Int. J. Mol. Sci**. v. 19, 2018.

ROCHA, M. A. M. **Instruções técnicas para cultura do pinhão-manso**. Vitória, ES: Incaper. 2011. 28 p. (Incaper. Documentos, 196).

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informações agropecuárias**. v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

SCHAEFER, C. E. G. R.; DOS SANTOS, E. E.; FERNANDES-FILHO, E. I.; DE ASSIS, I. R. A ciência do solo e o desastre de Mariana. In: Boletim informativo SBCS. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – SBCS, Campinas, v. 42, n. 1, jan-abr, 2016. p. 18-23. Disponível em: <http://www.sbcs.org.br/wp-content/uploads/2016/06/vol42num1.pdf>. Acesso em: 26 de maio de 2018.

SHAHID, M.; POURRUT, B.; DUMAT, C.; NADEEM, M.; ASLAM, M.; PINELLI, E. Heavy-metal-induced reactive oxygen species: Phytotoxicity and Physicochemical changes in plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 232, p. 1-44, 2014.

SHU, X.; YIN, L.; ZHANG, Q.; WANG, W. Effect of Pb toxicity on leaf growth, antioxidant enzyme activities, and photosynthesis in cuttings and seedlings of *Jatropha curcas* L. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 19, p. 893-902, 2012.

STIRBET, A.; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (Chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. XXX, p. XXX-XXX, 2011.

STIRBET, A.; RIZNICHENO, Y.; RUBIN, A. B.; GOVINDJEE. Modeling Chlorophyll *a* fluorescence transient: Relations to photosynthesis. **Biochemistry (Moscow)**. v. 79, n. 4, p. 291-323, 2014.

STRASSER, B. J., STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: **The JIP-test**. In: P. Mathis, (Ed.) Photosynthesis: from 74 Light to Biosphere. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, p. 977-980, 1995.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: YUNUS, M.; PATHRE, U.; MOHANTY, P. (eds), **Probing Photosynthesis**: Mechanisms, Regulation and Adaptation, Taylor and Francis, London, 2000. 445-483 p.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; QIANG, S.; GOLTSEV, V. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820 nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant Haberlea rhodopensis. **Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Bioenerg.**, p.1313-1326, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TATAGIBA, S. D.; DAMATTA, F. M.; RODRIGUES, F. A. Magnesium decreases leaf scald symptoms on rice leaves and preserves their photosynthetic performance. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 108, p. 49-56, 2016.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. In vivo assessment of stress impact on plants‟ vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of Mycorrhization on host plants. In: VARMA, A (Ed). **Mycorrhiza**: State of the art, genetics and molecular biology, eco-function, biotechnology, eco-physiology, structure and systematics. 3. ed., p. 679–703, 2008.

UFES (Universidade Federal do Espírito Santo). Rio Doce: Diagnóstico de uma tragédia. **Revista da Universidade Federal do Espírito Santo**, Vitória/ES, n. 6, maio. 2017. Disponível em: <https://issuu.com/ufes/docs/revistauniversidade_6>. Acesso em: 25 de maio de 2018.

ULRICH, S.; CHRISTOF, K. New accessory for Dual-PAM-100: The P515/535 module exemples of this application. **PAM Appl Notes**. p. 1-10, 2008.

VIANA, J. H. M.; DA COSTA, A. M. A ciência do solo como instrumento para a recuperação das áreas afetadas pelo desastre de Mariana e solos da bacia do rio Doce. In: Boletim informativo SBCS. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – SBCS, Campinas, v. 42, n. 1, jan-abr, 2016. p. 24-27. Disponível em: <http://www.sbcs.org.br/wp-content/uploads/2016/06/vol42num1.pdf>. Acesso em: 26 de maio de 2018.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of Chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**. v. 144, p. 307-313.

WU, Q.; WANG, S.; THANGAVEL, P.; LI, Q.; ZHENG, H.; BAI, J.; QIU, R. Phytostabilization potential of *Jatropha curcas* L. in polymetallic acid mine tailings. **International Journal of Phytoremediation**. v. 13, n. 8, p. 788-804, set. 2011.

XING, W.; HUANG, W.; LIU, G. Effects of excess iron and copper on physiology of aquatic plant *Spirodela polyrrhiza* (L.) SChleid. **Environmental Toxicology**. v. 25, p. 103-112, 2009.

YEMETS, O.; GAUSLAA, Y.; SOLHAUG, K. Monitoring with lichens – Conductivity methods assess salt and heavy metals damage more efficiently than Chlorophyll fluorescence. **Ecological Indicators**. v. 55, p. 59-64, 2015.

9. APÊNDICE

Apêndice A – Análises de Variância (Anova)

Tabela 12 - Anova das variáveis de pigmentos extraídos em Novembro de 2017.

		p-valor					
Fonte de Variação	GL	Chl*a*	Chl*b*	Chl*a*+*b*	*x*+*c*	Chl*a*/Chl*b*	Chl*a*+*b*/(*x*+*c*)
Acesso	4	0.0058**	0.3622	0.0061**	0.0132*	0.2428	0.2261
Concentração[1]	2	<0.0001**	0.7882	<0.0001**	0.0050**	0.5205	0.1574
Acesso*Concentração[1]	8	0.1747	0.2315	0.1692	0.0886	0.1592	0.3288
Resíduo	30						
Total	44						
CV(%)		18.32	67.90	18.39	23.00	18.62	9.52

[1]Concentração de lama do Rio Doce.

Tabela 13 - Anova das variáveis de trocas gasosas por período experimental. FV = Fonte de Variação.

					p-valor				
FV	GL	A	E	g_s	C_i	A/E	A/gs	A/Ci	Ci/Ca
				Novembro - 50 DAP					
Acesso	4	0.4007	0.0055**	0.6945	0.5749	0.0062**	0.7534	0.1970	0.6626
Concentração[1]	2	0.6777	0.9970	0.7215	0.9811	0.3487	0.8488	0.5940	0.9354
Acesso*Conc.[1]	8	0.3485	0.4017	0.558	0.4761	0.7972	0.4398	0.2474	0.3665
Resíduo	30								
Total	44								
Média		13.48	2.92	0.35	258.51	4.72	49.74	0.052	0.067
CV(%)		33.68	31.03	75.32	10.88	27.39	45.16	29.97	9.86
				Dezembro - 80 DAP					
Acesso	4	0.1842	0.0240*	0.0122*	0.0219*	0.1859	0.059	0.3801	0.0073**
Concentração[1]	2	0.3934	0.4502	0.0403*	0.2994	0.5102	0.7512	0.6073	0.2675
Acesso*Conc.[1]	8	0.7877	0.6730	0.4472	0.744	0.9097	0.9599	0.9091	0.6330
Resíduo	30								
Total	44								
Média		10.36	2.38	0.32	281.37	4.51	42.95	0.038	0.75
CV(%)		28.87	25.72	61	7.97	21.68	56.1	32.01	6.60
				Janeiro - 110 DAP					
Acesso	4	0.3721	0.0828	0.0765	0.1527	0.2022	0.4074	0.4877	0.1403
Concentração[1]	2	0.2051	0.6539	0.8480	0.5881	0.4235	0.5548	0.4361	0.6213
Acesso*Conc.[1]	8	0.3941	0.2740	0.1094	0.4301	0.4346	0.4573	0.5002	0.4026
Resíduo	30								
Total	44								
Média		1.00	0.79	0.03	330.69	1.31	37.72	3.12E-03	0.86
CV(%)		61.53	33.77	46.97	13.23	68.28	91.18	83.33	13.22
				Fevereiro - 140 DAP					
Acesso	4	0.0204*	<0.0001**	0.0035**	0.0755	<0.0001**	0.0125*	0.5809	0.0839
Concentração[1]	2	0.0062**	0.0588	0.2127	0.0466*	0.0507	0.0361*	0.3400	0.9098
Acesso*Conc.[1]	8	0.0010**	0.0058**	0.0562	0.0060**	0.0230*	0.0022**	0.3408	0.5133
Resíduo	30								
Total	44								
Média		12.42	4.66	0.65	285.60	2.91	29.14	0.06	0.73
CV(%)		15.20	16.86	87.29	6.07	11.13	41.42	110.78	15.21
				Março - 170 DAP					
Acesso	4	0.0211*	0.0001**	0.0237*	0.0003**	0.0007**	0.0001**	0.5573	0.0006**
Concentração[1]	2	0.9271	0.5181	0.5177	0.0849	0.3633	0.0244*	0.4915	0.2113
Acesso*Conc.[1]	8	0.1398	0.3787	0.5044	0.1747	0.0718	0.2457	0.3456	0.0636
Resíduo	30								
Total	44								
Média		12.22	3.11	0.24	245.90	4.10	63.70	0.094	0.62
CV(%)		25.31	18.18	70.23	13.61	25.35	31.6	226.98	14.09

[1]Concentração de lama do Rio Doce.

Tabela 14 - Anova das variáveis de fluorescência modulada ao fim do período experimental.

		p-valor											
Fonte de Variação	GL	F_0	F_M	$F_{M'}$	F_V/F_M	$Y_{(II)}$	$Y_{(NPQ)}$	$Y_{(NO)}$	NPQ/4	qN	qP	qL	ETR
Acesso	4	0.4769	0.6430	0.1653	0.4352	0.0003**	0.0045**	0.7359	0.0261**	0.0307**	0.0950	0.4294	0.0033**
Concentração[1]	2	0.0855	0.0214**	0.0634	0.9028	0.1396	0.6153	0.3450	0.8415	0.7998	0.0930	0.2605	0.2018
Acesso*Concentração[1]	8	0.3415	0.5381	0.1725	0.9245	0.8339	0.8596	0.7000	0.8349	0.7396	0.6813	0.6382	0.2679
Resíduo	30												
Total	44												
CV(%)		11.06	10.53	11.59	2.35	2.72	24.93	5.28	28.31	18.19	2.52	10.92	3.69

[1]Concentração de lama do Rio Doce.