

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

ROMARIO DE OLIVEIRA SILVA JUNIOR

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS EM *Mangifera indica* L. PRODUZIDAS
COM REJEITOS DE MINERAÇÃO E TRATADAS COM
FERTILIZANTE ORGANOMINERAL**

VITÓRIA - ES

2020

ROMÁRIO DE OLIVEIRA SILVA JUNIOR

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS EM *Mangifera indica* L. PRODUZIDAS
COM REJEITOS DE MINERAÇÃO E TRATADAS COM
FERTILIZANTE ORGANOMINERAL**

Dissertação de Mestrado de 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 exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Diolina Moura Silva

VITÓRIA - ES

2020

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

O48a Oliveira Silva Junior, Romário, 1996-
Aspectos fisiológico em Mangifera indica L. produzidas com rejeitos de mineração e tratadas com fertilizante organomineral / Romário Oliveira Silva Junior. - 2020.
95 f. : il.

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

1. Fluorescência da clorofila a. 2. trocas gasosas. 3. Carboidratos. 4. Sistema anti-oxidante. 5. Mangueira. 6. Mangifera indica. I. Moura Silva, Diolina. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

Romário de Oliveira Silva Junior

“ASPECTOS FISIOLÓGICOS EM *Mangifera indica* L. PRODUZIDAS COM REJEITOS DE MINERAÇÃO E TRATADAS COM FERTILIZANTE ORGANOMINERAL”

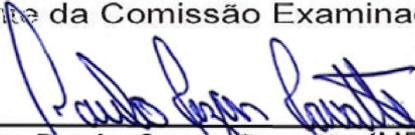
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Aprovada em 13 de fevereiro de 2020.

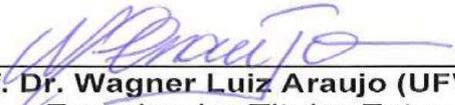
Comissão Examinadora:



Profa. Dra. Diolina Moura Silva (UFES)
Orientadora e Presidente da Comissão Examinadora



Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte (UFES)
Examinador Titular Interno



Prof. Dr. Wagner Luiz Araujo (UFV)
Examinador Titular Externo

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo á Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pela concessão de bolsa e todo auxílio financeiro disponível para a execução desse projeto;

Ao Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo. Reconheço e sou grato aos esforços dos funcionários e docentes que ao longo da minha formação me concederam ensino, estrutura de qualidade e meios para a realização desta dissertação;

De forma especial a Profa .Dra .Diolina Moura Silva, pela orientação e sugestões durante esses dois anos. Agradeço pela dedicação e oportunidade a mim oferecidas.

Ao Sr. Cleir Lecco Betarzo, e toda sua família por disponibilizar a propriedade e o fertilizante utilizados para a confecção deste trabalho, além do acolhimento e os bons momentos proporcionados nas idas ao campo

Aos colegas do Núcleo de Estudos da Fotossíntese, por todos os momentos descontraídos e felizes proporcionado por vocês; Em especial Leonardo Faria Silva, por compartilhar conhecimentos e suas histórias, um exemplo profissional e pessoal a ser seguido;

Aos Professores que constituíram a comissão examinadora, muito obrigado pelas contribuições e por dedicar seu tempo para avaliar o meu trabalho;

E por fim, mas não menos importante agradeço a minha família, por me apoiarem e acreditarem em mim, até quando nem eu acreditava.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho

Presentemente eu posso me considerar um sujeito de sorte
Porque apesar de muito moço me sinto são e salvo e forte
E tenho comigo pensado
Deus é brasileiro e anda do meu lado
E assim já não posso sofrer no ano passado

Tenho sangrado demais, tenho chorado pra cachorro
Ano passado eu morri, mas esse ano eu não morro

Belchior

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** curso dos rejeitos de minério da barragem de Fundão, município de Mariana, Minas Gerais até a foz do oceano atlântico, no Espírito Santo. Mapa adaptado de Zhouri et al (2017). Confeccionado por Max Vasconcelos (2017)19
- Figura 2:** esquema da distribuição de algumas das enzimas do sistema anti-oxidante e Espécies Reativas de Oxigênio em suas respectivas organelas. Adaptado de BROSCHE et al., 2010.....25
- Figura 3:** esquema metabólico da síntese de amido e sacarose, e dinâmica destes carboidratos em função de condições estressantes. Adaptado de SAMIR et al (2016).....26
- Figura 4:** A- Localização geográfica da área experimental Fazenda Luiz Betarzo, Aracruz – ES. B- Dados climatológicos, Temperatura máxima e mínima (C°) e pluviosidade (mm) dos dias após a fertilização, em Aracruz, durante o cultivo das cultivares da Mangueira, Palmer e Rosa. Fonte: Incaper.....28
- Figura 5:** A- visão geral das plantas de Palmer e Rosa durante o crescimento e desenvolvimento inicial contendo diferentes concentrações de lama do Rio Doce no substrato (0%, 20% e 50%) no viveiro em Linhares (2016-2018). B - linha plantio do experimento na fazenda Luiz Betarzo em Aracruz (2018-actual).....29
- Figura 6:** A- Linha de plantio em campo, B – Cultivar Palmer (nota-se crescimento aberto da copa), C – Cultivar Rosa (nota-se crescimento fechado da copa).....30
- Figura 7:** esquema metodológico do trabalho desenvolvido por Freitas (2018) e as novas categorizações do presente estudo (fertilizadas e não fertilizadas). As plantas passaram por 22 meses sobre a influência de diferentes concentrações de lama (20% e 50%).....30
- Figura 8:** croqui experimental do cultivo das mangueiras na fazenda Luiz Betarzo – Aracruz sobre duas condições de fertilização.....32
- Figura 9:** embalagem comercial do Fertilizante organomineral Gallus ®, e aspecto líquido do produto.....32
- Figura 10:** Análise química das folhas da variedade PALMER após a fertilização. Plantas não fertilizadas representadas pelo círculo Branco, plantas fertilizadas representadas pelo círculo escuro. N (Nitrogênio), P (Fósforo), K (Potássio), Ca (Cálcio), B (Boro), Mg (Magnésio), S (Enxofre), Fe (Ferro), Zn (Zinco), Cu (Cobre) e Mn (Manganês). Laboratório de análises agronômicas e ambientais Fullin-ES.....33
- Figura 11:** Análise química das folhas da variedade PALMER após a fertilização. Plantas não fertilizadas representadas pelo círculo Branco, plantas fertilizadas representadas pelo círculo escuro. N (Nitrogênio), P (Fósforo), K (Potássio), Ca (Cálcio), B (Boro), Mg (Magnésio), S (Enxofre), Fe (Ferro), Zn (Zinco), Cu (Cobre) e Mn (Manganês). Laboratório de análises agronômicas e ambientais Fullin-ES.....33

Figura 12: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 30 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar PALMER não fertilizada A e B, PALMER fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)42

Figura 13: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 30 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar ROSA não fertilizada A e B, ROSA fertilizada C e D, aos 30 dias após o início da fertilização. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)43

Figura 14. Parâmetros do Teste JIP, de duas cultivares de *Mangira indica* L., fertilizadas e não fertilizadas, Palmer (A e B) e Rosa (C e D) aos 30 dias após o início da fertilização. Utilizando como referência as plantas que foram produzidas em substrato contendo rejeitos de mineração (controle 0% = 1).....45

Figura 15: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 150 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar PALMER não fertilizada A e B, PALMER fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5).....46

Figura 16: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 150 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar ROSA não fertilizada A e B, ROSA fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)48

Figura 17. Parâmetros do Teste JIP, de duas cultivares de *Mangira indica* L., fertilizadas e N-Fert, Palmer (A e B) e Rosa (C e D) aos 150 dias após o início da fertilização. Utilizando como referência as plantas que foram produzidas em substrato contendo rejeitos de mineração (controle 0% = 1).50

Figura 18: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 300 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar PALMER não fertilizada A e B, PALMER fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5).....52

- Figura 19:** Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 300 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar ROSA não fertilizada A e B, ROSA fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)53
- Figura 20.** Parâmetros do Teste JIP, de duas cultivares de *Mangira indica* L., fertilizadas e N-Fert, Palmer (A e B) e Rosa (C e D) aos 300 dias após o início da fertilização. Utilizando como referência as plantas que foram produzidas em substrato contendo rejeitos de mineração (controle 0% = 1).....54
- Figura 21:** fluxos energéticos expressos por centro de reação do FSII das plantas de Palmer em condições de campo, após o estresse causado pela produção em diferentes concentrações de rejeitos de mineração 0% (A e D) 20% (B e E) e 50% (C e F) sobre duas condições de fertilização (N-Fert e Fertilizadas). Expresso em %. (n=5).....55
- Figura 22:** fluxos energéticos expressos por centro de reação do FSII das plantas de Rosa em condições de campo, após o estresse causado pela produção em diferentes concentrações de rejeitos de mineração 0% (A e D) 20% (B e E) e 50% (C e F) sobre duas condições de fertilização (N-Fert e Fertilizadas). Expresso em %. (n=5).....57
- Figura 23:** Trocas gasosas em plantas de Palmer em condições de campo, após o estresse causado por diferentes concentrações de rejeitos de mineração (0%, 20% e 50%) sobre duas condições de fertilização (N-Fert e Fertilizadas). A e B – Taxa Assimilação Líquida (A), C e D – Condutância estomática (gs), E F – Transpiração (E) e G e H – Eficiência no uso da água (A/E). Os valores são médias (n=5).....62
- Figura 24:** Trocas gasosas em plantas de Palmer em condições de campo, após o estresse causado por diferentes concentrações de rejeitos de mineração (0%, 20% e 50%) sobre duas condições de fertilização (N-Fert e Fertilizadas). A e B – Taxa Assimilação Líquida (A), C e D – Condutância estomática (gs), E e F – Transpiração (E) e G e H – Eficiência no uso da água (A/E). Os valores são médias (n=5).....63
- Figura 25:** diagrama de dispersão da PCA das cultivares Palmer e Rosa em função dos tempos amostrais de 30, 150 e 300 dias após o início da fertilização.....67
- Figura 26:** Dendrograma da análise de agrupamentos hierárquicos para as respostas fisiológicas das cultivares Palmer e Rosa nos períodos de 30, 150 e 300 dias após o início da fertilização.....68

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Análise química do Fertilizante Gallus utilizado no cultivo das cultivares de *Mangifera indica* (L.) em Aracruz - ES, 2018. Análise cedida pelo fabricante.....**33**
- Tabela 2:** Análise de aminoácidos do Fertilizante Gallus utilizado no cultivo das diferentes cultivares da Mangueira (Palmer e Rosa), Aracruz - ES, 2018. Análise cedida pelo Fabricante.....**33**
- Tabela 3:** Análise química do solo ao redor das mangueiras, Palmer e Rosa nas duas áreas experimentais: Não Fertilizadas (Não Fert.) e Fertilizadas (Fert.).....**34**
- Tabela 4:** valores de adequação nutricional para cultura da mangueira.....**34**
- Tabela 5:** Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* calculados pelo teste-JIP descritos por Strasser et al. (2010) e Tsimilli-Michael (2019).....**36**
- Tabela 6:** Teores de clorofila *a* (Chl. *a*), Teores de clorofila *b* (Chl. *b*) e Carotenoides (*Car*) em folhas de *Mangifera indica* (L.), cultivares Palmer (Não Fertilizadas e Fertilizadas) durante o cultivo em campo, das plantas que foram produzidas com substrato contendo rejeitos de mineração.....**40**
- Tabela 7:** Teores de clorofila *a* (Chl. *a*), Teores de clorofila *b* (Chl. *b*) e Carotenoides (*Car*) em folhas de *Mangifera indica* (L.), cultivares Rosa (Não Fertilizadas e Fertilizadas) durante o cultivo em campo, das plantas que foram produzidas com substrato contendo rejeitos de mineração.....**40**
- Tabela 8:** Carboidratos nas folhas das cultivares Palmer aos 30, 150 e 300 dias após a fertilização (DAF) com e sem fertilização. Plantas que na fase de muda se desenvolveram em diferentes concentrações de rejeitos de mineração(0%, 20% e 50%) (AST) – Carboidratos Solúveis Totais, (SAC) – Sacarose, (AMI) – Amido.....**65**
- Tabela 9:** Carboidratos nas folhas das cultivares Rosa aos 30, 150 e 300 dias após a fertilização (DAF) com e sem fertilização. Plantas que na fase de muda se desenvolveram em diferentes concentrações de rejeitos de mineração (0%, 20% e 50%) (AST) – Carboidratos Solúveis Totais, (SAC) – Sacarose, (AMI) – Amido.....**66**

LISTA DE ABREVIATURAS

- A- Taxa e fotossíntese líquida
A/gs- Eficiência no uso da água
AMI- Amido
APX- Peroxidase do Ascorbato
AST- Açúcares Solúveis Totais
Car- Carotenóides
CAT- Catalase
Chl a- Clorofila *a*
Chl b- Clorofila *b*
CTE- Cadeia de Transporte de Életrons
DAF- Dias após o inicio da fertilização
DMSO- Dimetilsulfóxido
E- Transpiração
ERO- Espécies Reativas de Oxigênio
Fert- Fertilizadas com produto organomineral
FSI- Fotossistema I
FSII- Fotossistema II
gs- Condutância estomática
HCA- Análise de Agrupamento Hierárquico
MF- Massa Fresca
MS- Massa Seca
N-Fert – Não fertilizadas com produto organomineral
P20- Cultivar Palmer produzida com 20% de rejeito de mineração
P50- Cultivar Palmer produzida com 50% de rejeito de mineração
PC- Cultivar Palmer produzida com 0% de rejeito de mineração
PCA- Análise de Componentes Principais
POD- Peroxidase do Guaiacol
PPO- Polifenol oxidase
R20- Cultivar Rosa produzida com 20% de rejeito de mineração
R50- Cultivar Rosa produzida com 50% de rejeito de mineração
RC- Cultivar Rosa produzida com 0% de rejeito de mineração
RM- Rejeitos de Mineração
SAC- Sacarose

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	20
	2.1 <i>Lama do Rio Doce: Riscos e incertezas</i>	20
	2.2 <i>Mangicultura</i>	23
	2.3 <i>Estresse fisiológico e Mecanismos de tolerância</i>	24
3.	HIPÓTESE	28
4.	OBJETIVOS	28
	4.1 <i>Objetivo Geral</i>	28
	4.2 <i>Objetivos específicos</i>	28
5.	MATERIAIS E MÉTODOS	29
	5.1 <i>Área experimental</i>	29
	5.2 <i>Material Vegetal e condução do experimento</i>	30
	5.3 <i>Coleta e Processamento dos rejeitos de mineração</i>	31
	5.4 <i>Fertilização</i>	32
	5.5 <i>Análise química das folhas</i>	35
	5.6 <i>Extração e quantificação de clorofilas e Carotenóides</i>	35
	5.7 <i>Fluorescência da clorofila a</i>	36
	5.8 <i>Trocas gasosas</i>	37
	5.9 <i>Carboidratos não estruturais</i>	38
	5.9.1 <i>Carboidratos solúveis totais e Sacarose</i>	38
	5.9.2 <i>Amido</i>	39
	5.10 <i>Atividade enzimática (CAT, APX, POD e PPO) e Proteínas totais</i>	39
	5.10.1 <i>Catalase (EC.1.11.1.6)</i>	40
	5.10.2 <i>Peroxidase do Ascorbato (EC. 1.11.1.11)</i>	40
	5.10.3 <i>Peroxidase do Gaiacol (EC.1.11.17)</i>	40
	5.10.4 <i>Polifenol oxidase (EC.1.30.3.1)</i>	40
	5.10.5 <i>Proteínas totais.</i>	41
	5.10 <i>Estatística</i>	41
6.	RESULTADOS	41
	6.1 <i>Pigmentos Foliares</i>	41
	6.2 <i>Fluorescência da clorofila a</i>	44
	6.3 <i>Trocas Gasosas</i>	62

6.4	<i>Carboidratos Solúveis e Amido</i>	67
6.5	<i>Sistema Anti-oxidante</i>	69
6.6	<i>Análise de componentes (PCA) e Análise de agrupamento (HCA)</i>	72
7.	DISCUSSÃO	75
8.	CONCLUSÃO	86
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
10.	REFERÊNCIAS	88

RESUMO

O presente trabalho se propôs avaliar o desempenho fisiológico, em campo, de duas cultivares de *Mangifera indica* L. ('Palmer' e 'Rosa') produzidas em substratos contendo 0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração. Durante o cultivo em campo, não mais sobre a influência direta dos rejeitos de mineração, as plantas foram submetidas a dois tratamentos de fertilização organomineral, dividindo a lavoura em plantas não fertilizada e plantas fertilizadas. As respostas fisiológicas foram obtidas em diferentes períodos experimentais: 30, 150 e 300 dias a partir do início da fertilização (DAF). Foram analisados os teores de pigmentos foliares, a cinética da fluorescência da clorofila *a*, os teores de carboidratos não estruturais e a atividade de enzimas do sistema anti-oxidante. Os resultados evidenciaram que a produção das mudas com rejeitos de mineração não alterou a concentração de clorofilas e carotenóides, mas foram encontradas relações diretas com a adubação organomineral. De contra partida, as análises de fluorescência da clorofila *a*, aos 30DAF evidenciaram menor desempenho fotoquímico em ambas as cultivares que tiveram maior concentração dos rejeitos no substrato, durante a fase de muda. As curvas OJIP e o teste-JIP, evidenciaram danos ligados ao fotossistema II. Houve menor desempenho do fotossistema II (PI_{ABS}) devido a queda no fluxo de elétrons e no rendimento do transporte de elétrons (ΨE_0 e ϕE_0). Nas plantas fertilizadas com o produto organomineral, foi nítido o melhor desempenho fotoquímico. Houve maior absorção e captura de energia (ABS/RC e TR_0/RC), maior eficiência e rendimento no transporte de elétrons (ΨE_0 e ϕE_0) e no índice de desempenho que representa o transporte de elétrons até os aceptores finais do FSI (PI_{TOTAL}). Aos 150 e 300 DAF as curvas OJIP e o Teste JIP mostraram um panorama diferente do que foi observado aos 30 DAF. As plantas das cultivares Palmer e Rosa apresentaram uma 'estabilidade' fotoquímica, porém as plantas fertilizadas mostraram recuperação em menor tempo. Os resultados obtidos pela análise da fluorescência da clorofila *a* também permitiram observar um melhor desempenho fotoquímico na cv. Rosa. Não houve diferença nos teores de carboidratos não estruturais em ambas as cultivares nem nos diferentes tratamentos. Semelhantes aos resultados obtidos na cinética da fluorescência da clorofila *a*, aos 30 DAF as enzimas catalase, peroxidase do ascorbato e peroxidase do gaudiacol tiveram maior atividade enquanto que aos 150 e 300 DAF estas enzimas tiveram menor atividade. E por fim, conclui-se que a fertilização

organomineral, promoveu de fato maior recuperação fisiológica em menor tempo, além de promover melhor desempenho fisiológico para as plantas de mangueira.

Palavras-chaves: Pós-estresse; Recuperação fisiológica; Desempenho fotoquímico.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the physiological performance, in the field, of two cultivars of *Mangifera indica* L. ('Palmer' and 'Rosa') produced on substrates containing 0%, 20% and 50% of mining tailings. During field cultivation, no longer under the direct influence of mining waste, the plants were subjected to two organomineral fertilization treatments, dividing the crop into unfertilized and fertilized plants. The physiological responses were obtained in different experimental periods: 30, 150 and 300 days from the beginning of fertilization (DAF). The levels of leaf pigments, the kinetics of chlorophyll a fluorescence, the levels of non-structural carbohydrates and the activity of enzymes in the anti-oxidant system were analyzed. The results showed that the production of seedlings with mining tailings did not change the concentration of chlorophylls and carotenoids, but direct relationships were found with organomineral fertilization. On the other hand, chlorophyll a fluorescence analyzes at 30DAF showed lower photochemical performance in both cultivars that had a higher concentration of tailings in the substrate, during the seedling phase. The OJIP curves and the JIP test showed damage linked to photosystem II. There was less performance of photosystem II (PI_{ABS}) due to the drop in electron flow and electron transport performance (ΨE_0 and ϕE_0). In plants fertilized with the organomineral product, the best photochemical performance was clear. There was greater absorption and energy capture (ABS / RC and TR_0 / RC), greater efficiency and efficiency in electron transport (ΨE_0 and ϕE_0) and in the performance index that represents electron transport to the final FSI acceptors (PI_{TOTAL}). At 150 and 300 DAF, the OJIP curves and the JIP test showed a different picture than what was observed at 30 DAF. The plants of the cultivars Palmer and Rosa showed a photochemical 'stability', however the fertilized plants showed recovery in less time. The results obtained by the analysis of chlorophyll a fluorescence also allowed to observe a better photochemical performance in cv. Rosa. There was no difference in the levels of non-structural carbohydrates in both cultivars or in the different treatments. Similar to the results obtained in the fluorescence kinetics of chlorophyll a, at 30 DAF the enzymes catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase had greater activity while at 150 and 300 DAF these enzymes had less activity. Finally, it is concluded that organomineral fertilization, in fact, promoted

greater physiological recovery in less time, in addition to promoting better physiological performance for mango plants.

Keywords: Post-stress; Physiological recovery; Photochemical performance.

1. INTRODUÇÃO

No dia 05 de novembro de 2015 ocorreu o rompimento da barragem de Fundão, situada no município de Mariana, estado de Minas Gerais, Brasil. Este rompimento resultou na liberação de 62 milhões de m³ de rejeitos de minério liquefeitos, contaminando toda a bacia do Rio Doce, alterando características físico-químicas dos ambientes impactados influenciando na composição faunística e florística destes locais. Apesar de ter se passado quatro anos do rompimento, estudos investigativos ainda são realizados, com intuito de compreender a magnitude desse desastre (GFT, 2015; ESPINDOLA, et al. 2019).

Estes rejeitos, em sua composição tinham elevado teor de metais pesados, que são vistos com grande preocupação para a saúde humana. Por conta dessa natureza química, nos primeiros anos após o desastre, as atividades econômicas foram prejudicadas, como pesca e produção agrícola. Mas recentemente, as atividades foram retomadas nessas propriedades, porém, pouco se sabe quais os efeitos fisiológicos destes contaminantes para com as plantas, ou se as plantas são capazes de se recuperar fisiologicamente deste tipo de estresse (LATA et al, 2018).

Dentro do tema, contaminação do Rio doce e seus efeitos fisiológicos nas plantas, estudos foram elaborados pelo Núcleo de Estudos da Fotossíntese (NEF), que é coordenado pela Profa. Dra. Diolina Moura Silva, na Universidade federal do Espírito Santo (UFES), os estudos revelaram que estes rejeitos de mineração têm efeito prejudicial na fisiologia de algumas cultivares da mangueira, as cultivares avaliadas nos estudos do NEF, foram Palmer e Rosa, sendo as mesmas utilizadas para a confecção do presente trabalho. Os estudos elaborados pelo NEF avaliaram a eficiência fotoquímica destas cultivares em função de diferentes concentrações de rejeitos no substrato, no entanto, os mesmos avaliaram somente este estresse na fase de muda. E algumas perguntas ficaram pendentes, uma destas perguntas é como será o desempenho destas plantas durante o cultivo em campo?

Apesar da lama lançada no rio não ter apresentado altos níveis de toxidez (EMBRAPA, 2016), foram encontrados altos teores de areia e silte, que por sua vez podem provocar alteração na dinâmica físico-química do solo, resultando em um aumento da densidade entre os agregados do solo, e por consequência, causar a compactação (SBCS, 2016). Em 2017, um prognóstico do desastre foi feito, destacando

que na maioria das regiões onde a lama foi depositada, o solo se tornou compacto e infértil (EMBRAPA, 2017).

O estresse causado pela compactação do solo provoca diminuição de porosidade, afetando a disponibilidade de água e nutrientes, o que prejudica diretamente crescimento radicular (LACHER, 2000). Tendo em mente, os efeitos causados pela compactação dos solos na fisiologia das plantas, se faz necessário, o uso de alternativas que amenizem estes efeitos, ou até mesmo que possam inibir tais alterações prejudiciais. Uma das alternativas que não requer o uso de maquinaria agrícola é o uso de fertilizantes que possuem propriedades químicas capazes de alterar a dinâmica física dos solos compactados (VALADÃO, et al. 2015). Dentre os fertilizantes recomendados para solos compactados, os de composição organomineral são os mais indicados nesta situação. A adubação organomineral possibilita a maior disponibilidade de matéria orgânica no solo. Por consequência, este incremento pode levar a formação de substâncias específicas, que favorecem o metabolismo fotossintético (EMBRAPA, 2016), mas principalmente reduzem a compactação do solo (SEMIDA, et al, 2014).

Um dos meios utilizados para obtenção de informações sobre o desempenho fotoquímico consiste na observação do processo de cinética da fluorescência da clorofila *a* (BAKER, 2008). Em termos fisiológicos, a fluorescência da clorofila *a*, está relacionada com uma sequência reducional dos aceptores de elétrons presentes na cadeia de transporte (CTE) das membranas dos tilacóides (MAXWELL & JOHNSON, 2000). A partir desta dinâmica reducional, que envolve os diferentes componentes da CTE, observou-se que a avaliação do transporte dos elétrons por estes componentes poderiam fornecer informações diretas sobre o *status* fisiológico das plantas, tendo conhecimento da premissa que a maior parte dos estresses afetam a diretamente a dinâmica fotoquímica (MELO, et al. 2017).

Para avaliação qualitativa e quantitativa deste processo foram elaborados cálculos biofísicos capazes de estimar numericamente este processo fisiológico, representados pelas curvas OJIP (STRASSER & STRASSER, 1995). No entanto, as informações obtidas por meio das análises OJIP são, na maioria das vezes, qualitativas. Sendo assim, para a quantificação dos diversos parâmetros que permitem a análise estrutural dos fotossistemas, utiliza-se o teste-JIP, que são derivados diretos das curvas

polifásicas OJIP (STRASSER et al. 2000). Segundo Chen et al. (2016), a análise de fluorescência da clorofila *a* é uma ferramenta de verificação fisiológica que fornece informações concretas sobre o vigor das plantas *in vivo*, sendo validada por diversos autores como uma análise fisiológica de alta precisão. É sabido que danos à etapa fotoquímica podem comprometer uma série de rotas metabólicas, que são dependentes diretas do metabolismo fotossintético, como a via de produção de fotoassimilados como glicose e, posteriormente, sacarose e amido.

Samir et al.(2016), ao realizarem um levantamento bibliográfico sobre o papel fisiológico dos carboidratos não estruturais, citaram algumas funções, a manutenção metabólica, a remobilização de sacarose e amido, e um possível papel de amenização de estresses, fornecendo informações sobre o desempenho metabólico do vegetal. Os mesmos autores, neste trabalho, ressaltam a importância da relação a sacarose e o amido, visto que, a partir da síntese ou degradação destes açúcares, diversas outras vias metabólicas são ativadas.

Em vista das adversidades ambientais nas quais as plantas estão rotineiramente inseridas, a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) é um dos primeiros mecanismos de resposta do vegetal. Essas moléculas são vistas como metabólitos celulares tóxicos, por apresentarem a capacidade de reagir com macromoléculas, causando deterioração estrutural de membranas, levando à morte celular (BREUSEGEM et al., 2001). Entretanto, o metabolismo neutraliza a ação das ROS por meio de enzimas específicas, como a catalase, a peroxidase do ascorbato, a peroxidase do guaiacol e a polifenol oxidase (ROSSI, 2012; GUPTA et al., 2018

Portanto o presente trabalho tem como objetivo avaliar o desempenho fisiológico destas plantas durante o cultivo em campo, submetidas a diferentes condições de fertilização organomineral, através do monitoramento fisiológico, que foi realizado com intuito verificar possíveis efeitos deletérios em longo prazo nas cultivares de Palmer e Rosa.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Lama do Rio Doce: riscos e incertezas

No dia 05 de novembro de 2015 ocorreu o rompimento da barragem de rejeitos de minério da empresa Samarco Mineração S.A., situada no município de Mariana, no estado de Minas Gerais, Brasil. O rompimento resultou em enchentes e na contaminação de toda a bacia do Rio Doce, estima-se que tenham sido despejados cerca de 62 milhões m³ de rejeitos liquefeitos, ricos em metais pesados (GFT, 2015). Esta lama percorreu toda extensão do Rio Doce, até a foz que desemboca no oceano atlântico, passando por municípios de Minas Gerais e Espírito Santo (figura 1).



Figura 1: Curso dos rejeitos de minério da barragem de Fundão, município de Mariana, Minas Gerais até a foz do oceano atlântico, no Espírito Santo. Mapa adaptado de Zhouri et al (2017). Confeccionado por Max Vasconcelos (2017)

Em 2016, uma série de relatórios e estudos foram realizados para se obter informações concretas sobre a magnitude deste desastre ambiental, estudos socioambientais evidenciaram impactos diretos e indiretos nos municípios que foram afetados pela lama, por meio da destruição de ecossistemas, contaminação do abastecimento de água doce, interrupção de atividades pesqueiras, e comprometimento de atividades agrícolas (FERNANDES et al, 2016). Ainda em 2016, o Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM) relatou que a lama despejada no Rio Doce não apresentava altas concentrações de metais pesados. Em contraste com os supostos dados apresentados pelo DNPM, estudos coordenados por Universidades, ONGs e órgãos ambientais, forneceram evidências diferentes, mostrando altas concentrações de

arsênico (As), cádmio (Cd), cobre (Cu), cromo (Cr), níquel (Ni) e mercúrio (Hg) em amostras da lama coletada no leito do Rio Doce (IGAM, 2016).

Em 2017, os estudos continuaram com intuito de acompanhar os efeitos deste desastre, resultando em novos panoramas. Neste o ano, o Laboratório de Fitoplâncton da Universidade Federal do Espírito Santo (Lab-Fito) identificou um aumento expressivo nos teores de ferro (Fe), chumbo (Pb), cromo (Cr), manganês (Mn) e alumínio (Al) presentes em amostras de água do Rio Doce. No entanto os pesquisadores constataram que estes aumentos não resultaram em níveis críticos de toxidez, quando comparado a mananciais extremamente contaminados e poluídos (UFES, 2017).

Ainda em 2017, mesmo que as amostras não tenham apresentando níveis críticos de toxidez, a lama alterou a toda dinâmica físico-química da bacia do Rio Doce. Análises realizadas pela Sociedade Brasileira de Ciências dos Solos (SBCS) evidenciaram altos teores de silte e areia sedimentar, sendo que estes materiais proporcionam maior densidade entre os agregados do solo, alterando diretamente nas características físicas dos solos das regiões que foram afetadas pela lama. A lama passou por 39 municípios, entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo (UFES, 2017).

Em 2018, diversos estudos foram elaborados a respeito do desastre, no entanto, a maioria dos trabalhos foi dentro do segmento da antropologia, como o trabalho desenvolvido por Craedo & Helmerich (2018), no qual, os pesquisadores relatavam o comportamento social da população à margem do Rio Doce, e como as novas imposições sociais estão prejudicando essa população. De conta partida, os estudos técnico-científicos, na área de ciências da natureza, foram diminuindo em comparação com o crescente numero de trabalhos antropológicos. Os estudos sobre os parâmetros biológicos, físicos e químicos sobre o Rio Doce concentravam-se em relatórios de impactos ambientais (RAMBOLL, 2018). E alguns destes relatórios, traziam informações sobre a supressão vegetal nas regiões próximas ao Rio Doce. E apesar deste impacto sobre a vegetação, ainda eram incertos os efeitos que essa lama tinha sobre as plantas, em aspectos fisiológicos.

Em 2019, já com quatro anos do rompimento da barragem, incertezas e inseguranças ainda rodeiam este desastre. Espindola, et al. (2019), reuniram em seu trabalho uma série de informações a respeito da extensão do desastre e seus efeitos até o ano de 2019. Os autores relataram que mesmo que tenham passado quatro anos do desastre, os danos socioambientais ainda afetam diretamente a população ribeirinha, que está se adaptando as novas condições impostas pela contaminação do Rio. No mesmo trabalho, os autores ressaltam que a economia dos municípios atingidos foi remodelada em função da contaminação do Rio Doce. Além da atividade pesqueira, a produção agrícola teve prejuízos no ano de 2015 e 2016, pelo fato da interrupção de plantio, mas à medida que o tempo foi passando estes produtores seguiram com suas atividades. Entretanto com algumas perguntas ainda sem respostas.

2.2. Mangicultura

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é uma frutífera de porte arbóreo, dicotiledônea, pertencente à família Anacardiaceae, com centro de origem e diversidade no sudoeste da Ásia. Acredita-se que teve sua origem na Índia, o que favoreceu a dispersão pelo sudeste Asiático, seguida pela dispersão para continente Africano. A Ásia isoladamente concentra cerca de 78% da produção mundial de mangas, seguidas pelas Américas 12% e África com aproximadamente 10% (FAO, 2017). O Brasil foi o primeiro país Americano a introduzir o cultivo da mangueira, trazida pelos colonizadores Portugueses no início do século XVI, com concentração inicial de produção no Nordeste Brasileiro, e posteriormente em quase todo território nacional, excluindo regiões mais frias, situadas no sul do Brasil (MEDINA et al., 1981; PINTO, 1996).

Segundo o ultimo levantamento realizado pela FAO (*Food And Agriculture Organization of the United Nations*) em 2017, mostrou que o Brasil ocupa o sétimo lugar no *ranking* dos maiores produtores da fruta, sendo uma das frutas de maior representatividade brasileira no mercado de fruticultura internacional, com grande aceitação devido ao sabor, aroma e os altos valores nutritivos (CANO-CHAUCA et al., 2005; FAVERO, 2008). As regiões Nordeste e Sudeste concentram maior parte da produção de mangas brasileiras. Cerca de 90% das mangas produzidas no Brasil são exportadas para países como Estados Unidos, Canadá e alguns países europeus. A alta produção brasileira tem relação direta com fatores tropicais como, temperatura,

luminosidade e chuvas, que proporcionam bons patamares produtivos. Sendo assim, o Brasil oferece atributos climáticos que atendem as demandas ecofisiológicas da frutífera (SEBRAE, 2016; Anuário Brasileiro da Fruticultura, 2017).

Além dos fatores climáticos que proporcionam bons rendimentos produtivos, viveristas e mangicultores brasileiros buscam novas formas de maximizar a produção de mangas em menor tempo de plantio, através de inovações tecnoagrícolas que abrangem desde o melhoramento genético até novos métodos de fitotecnia (SOUZA, et al., 2012; SOMSRI, 2016). Uma das formas de acelerar o beneficiamento da colheita é escolher a melhor forma de propagação da mangueira. Muitos produtores brasileiros escolhem mangueiras enxertadas para compor seus pomares comerciais. Devido ao fato de que plantas enxertadas apresentam maior resistência a pragas, maior vigor e maior índice de produtividade por planta, estes fatos são resultados da interação fisiológica entre enxerto e porta-enxerto (EMBRAPA, 2009).

A Bahia é o estado brasileiro com maior produção de mangas, cerca de 438.603 toneladas (t), seguido de Pernambuco (239.559 t), São Paulo (176.127t), Minas Gerais (68.807t), Ceará (45.337t), Rio Grande do Norte (44.253t), Sergipe (17.950t) e Espírito Santo (13.046t) que ocupa o oitavo lugar no *ranking* (EMBRAPA, 2017).

O Espírito Santo apesar de ter os fatores climáticos ideais para produção de mangas em determinadas regiões, a cultura não era incentivada no estado, no entanto, vendo as demandas do agronegócio interno e externo, uma ação conjunta da Secretaria de Estado da agricultura, Abastecimento, aquíicultura e Pesca (SEAG) e o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper) resultaram no lançamento do pólo de Manga para indústria no Estado do Espírito Santo em 2003, concentrando-se na região Noroeste do estado (INCAPER, 2009). O plano estratégico promovido pela SEAG e o INCAPER de lançar o pólo de produção de manga foi muito bem sucedido, ampliando a área plantada ao decorrer dos anos e se consolidando pela qualidade das mangas produzidas. Tendo em vista, a potencialidade de produção de mangas no Espírito Santo, se faz necessário estudo e pesquisas que podem elucidar questionamentos a fim de impulsionar e maximizar a produção capixaba.

2.2 Estresse Fisiológico e Mecanismos de tolerância

O que é um estresse fisiológico? Qual a extensão do estresse? São perguntas presente no cotidiano de qualquer fisiologista vegetal. Para Larcher (2000), o estresse fisiológico é caracterizado como uma alteração significativa das condições ótimas para crescimento e desenvolvimento das plantas, e estas alterações conseqüentemente geram prejuízos em processos biológicos. Em concordância, Taiz & Zeiger (2017), trazem o conceito de estresse fisiológico como, uma característica externa que exerce influência negativa sobre as plantas.

Boyer, em 1982 ao abordar diferentes condições ambientais que limitam a produção agrícola, listou diversos fatores de influência, como disponibilidade hídrica (falta ou excesso), temperatura (frio ou calor) e nutrição (deficiência ou toxicidade), todos estes fatores, segundo o autor podem resultar em perda de até 70% da produção vegetal. Considerando a área de produção vegetal, um dos estresses mais recorrentes, é proporcionado pela condição desfavorável no solo. As características físicas e químicas dos solos têm grandes influencias sobre a fisiologia das plantas, logo, influenciam também na produtividade (COELHO et al. 2013).

Para o estresse envolvendo as características físicas, nota-se que os constituintes como, areia, silte e argila são determinantes para uma boa dinâmica física no solo. Na literatura encontram-se relatos sobre como estes constituintes podem alterar processos fisiológicos, quando encontrados em proporções inadequadas. Simões et al (2015) ao verificarem a influência do solo arenoso no cultivo de cana de açúcar, observaram diminuição na taxa fotossintética, seguido de uma menor área foliar e conseqüentemente uma menor incorporação de biomassa.

Estes autores associaram este estresse fisiológico à condição hídrica, e que o agravamento desse estresse era causado devido às características do solo, resultando na maior perda de água por percolação. Em um estresse diferente, efeitos similares foram observados por Tubeileh et al. (2003) que ao trabalharem com efeitos da compactação do solo sobre a fisiologia do milho, observaram, menor aptidão fotossintética, menor teor de carboidratos, menor taxa de incorporação de biomassa e uma restrição considerável do crescimento radicular, estes autores formularam uma hipótese na qual a alta densidade do solo compactado diminuía o grau de porosidade, resultando em uma menor infiltração de água no substrato, proporcionando em déficit hídrico indireto.

Em outro viés dos estresses fisiológicos proporcionados pela interação solo-planta, os estresses causados pelos atributos químicos têm grande relevância agrônoma. Este tipo de estresse é comum em diversas culturas, sendo atribuído a aspectos como, necessidades e adequações nutricionais das plantas. E este estresse pode ser caracterizado pela deficiência de alguns elementos químicos essenciais (macro e micronutrientes), ou pelo excesso, causando toxidez fisiológica (LATA et al, 2018).

Para os estresses ligados as deficiências nutricionais, são comuns alterações fisiológicas, como, diminuição nos teores de pigmentos fotossintetizantes (SINGH, et al. 2017), prejuízos fotoquímicos (KALAJI et al. 2014), menor assimilação de carbono (GUO et al. 2019), variação nos teores de carboidratos (WEI, 2020), produção de espécies reativas de oxigênio (ARNAO & HERNANDEZ-RUIZ 2019), além de alterações de vias do metabolismo secundário (KOBOYLÍNSKA et al. 2017).

O equilíbrio macro e micronutrientes é indispensável para qualquer cultura. Como visto anteriormente, a deficiência de nutrientes desencadeia uma série de alterações fisiológicas. Sob outra perspectiva, o excesso de nutrientes também pode causar danos similares ao estresse causado pela deficiência (EMBRAPA, 2004). Dentro dessa temática de excesso e toxidez, nota-se uma grande preocupação com os teores de metais pesados no solo (SOUZA, et al 2011).

Para Asati et al. (2016) metais pesados como, Cd, Cu, Cr, Ni, Hg, Pb, Mn e Al em grandes quantidades são altamente prejudiciais para a fisiologia das plantas. Estes autores trazem em seu trabalho um compilado sobre os efeitos destes metais na fisiologia das plantas. Dentre os efeitos destacam-se, danos oxidativos e inibição de enzimas citoplasmáticas, degradação de pigmentos e clorose foliar, redução da eficiência fotoquímica, comprometimento de enzimas envolvidas na fixação do CO₂, diminuição na biossíntese de açúcares como, glicose, frutose, sacarose e amido.

Como já mencionado, o estresse fisiológico promove uma série de efeitos prejudiciais nas plantas, e dependendo do tipo e da intensidade, pode resultar em um colapso fisiológico, levando a planta à morte. No entanto, as plantas possuem certas particularidades, por serem organismos sésseis, se fez necessário evolutivamente o surgimento de mecanismos fisiológicos de tolerância aos estresses, que automaticamente auxiliam na recuperação fisiológica destes organismos (ACKERLY et al. 2000)

A partir das informações sobre os estresses causados por condições edáficas desfavoráveis, observa-se que um dos processos metabólicos que é facilmente acometido, é a fotossíntese, processo vital para qualquer planta. A inibição parcial ou total do metabolismo fotossintético influencia em diversas outras vias metabólicas. Os estresses afetam principalmente o aparato fotossintético, responsável pela conversão da energia fotossintética, em particular o fotossistema II (FSII), que por sua vez, apresenta alta vulnerabilidade a estresses abióticos (BUSSOTTI et al. 2020). Danos ao FSII podem comprometer todo o transporte de elétrons, levando a produção de subprodutos indesejáveis, como, espécies reativas de oxigênio (EROS), estas moléculas possuem o potencial de oxidar macromoléculas, proporcionando principalmente a degradação de membranas (FOYER & SHIGEOKA, 2011).

Mas como medidas mitigadoras, o metabolismo vegetal possui um sistema dinâmico e complexo para a remoção de EROS. Este sistema anti-oxidante é composto por enzimas, que são responsáveis pela dismutação e quebra destas moléculas em compostos simples como H_2O e oxigênio molecular. Algumas destas enzimas são a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a peroxidase do ascorbato (APX), a glutathione redutase (GRX), a peroxidase do guaiacol (POD). Na figura 2 é possível identificar a localização destas enzimas dentro da célula vegetal, e as espécies reativas de oxigênio (EROS) (FOYER & NOCTOR, 2005)

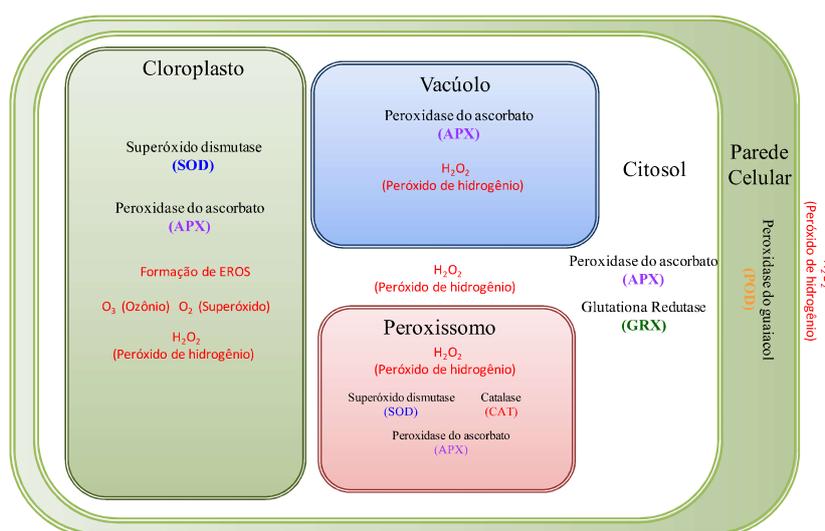


Figura 2: Esquema da distribuição de algumas das enzimas do sistema anti-oxidante e Espécies Reativas de Oxigênio em suas respectivas organelas. Adaptado de BROSCHÉ et al., 2010.

Ainda sobre os efeitos do estresse fisiológico no metabolismo fotossintético, alguns autores relatam que as condições ambientais desfavoráveis influenciam

diretamente no teor de carboidratos não estruturais, e a plasticidade metabólica entre a sacarose e amido, permite uma manutenção fisiológica, configurando-se com um mecanismo de tolerância ao estresse e de aclimação a condições adversas (SAMIR, et al. 2016).

Acredita-se que em condições de estresse, a biossíntese de sacarose aumente, e de contra partida, a concentração de amido diminua. A sacarose é um carboidrato redutor, que é translocado por longas distâncias no corpo da planta, através das células do floema, suas funções fisiológicas vão desde armazenamento vacuolar até a divisão e expansão celular. Este carboidrato está diretamente ligado a dinâmica de crescimento e desenvolvimento. Devido sua importância fisiológica em condições de estresse, sua síntese é priorizada, e geralmente é acrescida pela degradação do amido, que libera moléculas que são utilizadas na síntese de sacarose. Na figura 3 é mostrada a dinâmica entre amido e sacarose em condição de estresse.

Em termos agrícolas, o conhecimento destes mecanismos de tolerância, que auxiliam no processo de recuperação fisiológica, é de extrema importância. Sob uma visão prática, pensando na aplicabilidade deste tipo de inferência em grandes lavouras, se torna inviável realizar análises destes tipos, para determinação do grau de estresse. Portanto, se faz necessário o uso de tecnologias menos invasivas e com resultados mais rápidos. Com base nisso observa-se na última década uma modernização da agricultura convencional (EMBRAPA, 2010).

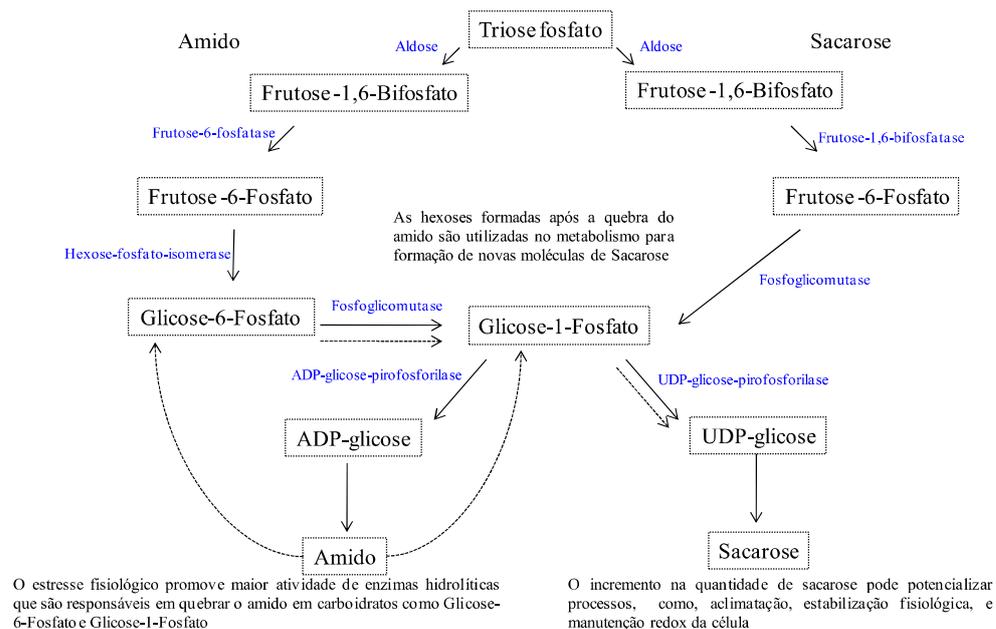


Figura 3: Esquema metabólico da síntese de amido e sacarose, e dinâmica destes carboidratos em função de condições estressantes. Adaptado de SAMIR et al (2016)

3. HIPÓTESE

A adubação organomineral irá promover uma recuperação fisiológica, em plantas de *Mangifera indica* L., cv. Palmer e Rosa, cujas mudas foram produzidas em substrato contendo rejeitos de minério, amenizando ou neutralizando os efeitos deletérios que o estresse inicial provocou.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Avaliar os aspectos fisiológicos de plantas de *Mangifera indica* L., cv. Palmer e Rosa, que foram produzidas com rejeitos de mineração e tratadas com fertilizante organomineral durante o cultivo no campo.

4.2. Objetivos específicos

- Verificar os teores de pigmentos foliares ao decorrer do experimento em campo sob as diferentes condições de fertilização organomineral, nas plantas de Palmer e Rosa que foram produzidas com rejeitos de minério;
- Analisar os teores de pigmentos foliares de plantas de *Mangifera indica* L., cv. Palmer e Rosa, que foram produzidas com rejeitos de mineração e tratadas com fertilizante organomineral durante o cultivo no campo;
- Avaliar o desempenho fotoquímico, usando a cinética da fluorescência da clorofila *a*, de plantas de *Mangifera indica* L., cv. Palmer e Rosa, que foram produzidas com rejeitos de mineração e tratadas com fertilizante organomineral durante o cultivo no campo;
- Determinar os teores de açúcares solúveis totais, sacarose e amido em plantas de *Mangifera indica* L., cv. Palmer e Rosa, que foram produzidas com rejeitos de mineração e tratadas com fertilizante organomineral durante o cultivo no campo;
- Determinar a atividade das enzimas do sistema anti-oxidante: catalase, peroxidase do ascorbato, peroxidase do guaiacol e polifenol oxidase nas plantas *Mangifera indica* L., cv. Palmer e Rosa, que foram produzidas com rejeitos de mineração e tratadas com fertilizante organomineral durante o cultivo no campo.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Área experimental

O experimento foi realizado entre julho/2018 e Junho/2019, na fazenda Luiz Betarzo, localizada no distrito de cachoeira do riacho, no município de Aracruz, Espírito Santo ($19^{\circ} 43' 52.1''\text{S } 40^{\circ} 09' 30.6''\text{W}$) (figura 4- A e B).

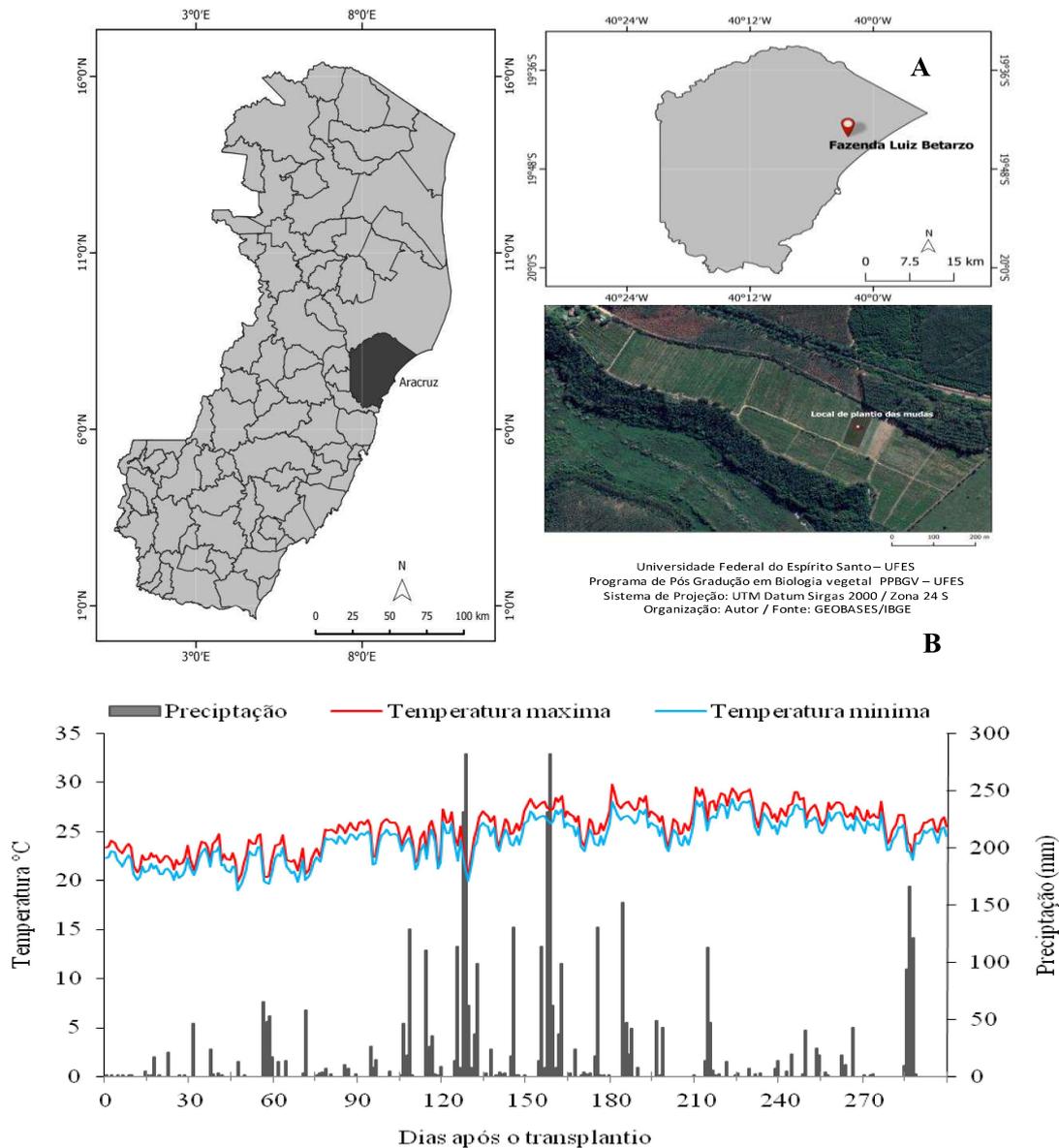


Figura 4: A- Localização geográfica da área experimental Fazenda Luiz Betarzo, Aracruz – ES. B- Dados climatológicos, Temperatura máxima e mínima ($^{\circ}\text{C}$) e pluviosidade (mm) dos dias após a fertilização, em Aracruz, durante o cultivo das cultivares da Mangueira, Palmer e Rosa. Fonte: Incaper

O clima da região de acordo com a classificação de Köppen é tropical úmido, com inverno seco. Os dados climatológicos (figura 6-B) foram obtidos diretamente no

Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER; setor de meteorologia).

5.2. Material vegetal e condução do experimento

Para realização deste experimento foram utilizadas plantas de mangueira (*Mangifera indica* L.) plantas com três anos de plantio, de duas cultivares, Palmer e Rosa enxertadas sobre um mesmo porta-enxerto, a cultivar Óleo.

Durante a fase de muda, estas plantas foram submetidas a diferentes concentrações de rejeitos de minério, misturados ao substrato, estes contaminantes, foram coletados no Rio Doce após o rompimento da barragem Fundão em Mariana-MG. Em 2017 a equipe do Núcleo de estudos da Fotossíntese (NEF-UFES) desenvolveu um trabalho avaliando os efeitos destes rejeitos na fisiologia das mesmas cultivares que foram utilizadas no presente estudo (Figura 5 -A). Este trabalho desenvolvido por Freitas (2018) avaliou a atividade fotossintética e o desenvolvimento inicial das duas cultivares, Palmer e Rosa, em função das diferentes concentrações de rejeitos de mineração. Em junho de 2018 as plantas foram transportadas até a fazenda Luiz Betarzo no município de Aracruz (figura 5- B).

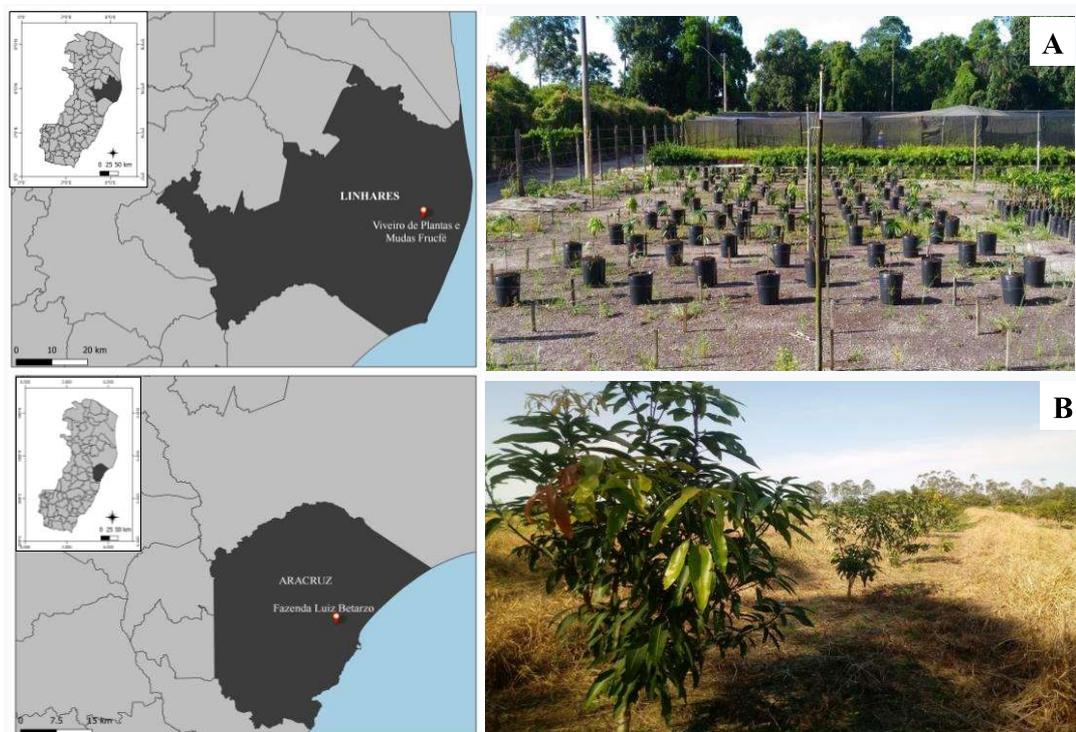


Figura 5: A- visão geral das plantas de Palmer e Rosa durante o crescimento e desenvolvimento inicial contendo diferentes concentrações de lama do Rio Doce no substrato (0%, 20% e 50%) no viveiro em Linhares (2016-2018). B - linha plantio do experimento na fazenda Luiz Betarzo em Aracruz (2018-atual)

Onde foram transplantadas para solo agriculturável, usando-se espaçamento de 4 m entre fileiras e 3 metros entre plantas, em duas linhas de plantio de acordo com as cultivares, cada linha de plantio continha de 28 a 30 plantas da mesma cultivar, Palmer e Rosa, totalizando uma área de 720m² A “irrigação de pegamento”, ou seja, a irrigação inicial foi realizada por gotejamento durante dois meses, após esse período a umidade no solo próximo das plantas foi mantida por palha de café (figura 6).



Figura 6: A- Linha de plantio em campo, B – Cultivar Palmer (nota-se crescimento aberto da copa), C – Cultivar Rosa (nota-se crescimento fechado da copa).

Os tratamentos foram categorizados de acordo com as concentrações de lama no que havia anteriormente no substrato do vaso, que anteriormente foram distribuídas em 0%, 20% e 50%, onde ficaram 22 meses nestas condições (2016-2018) na figura 7 está disposto o esquema metodológico do trabalho desenvolvido por Freitas (2018).

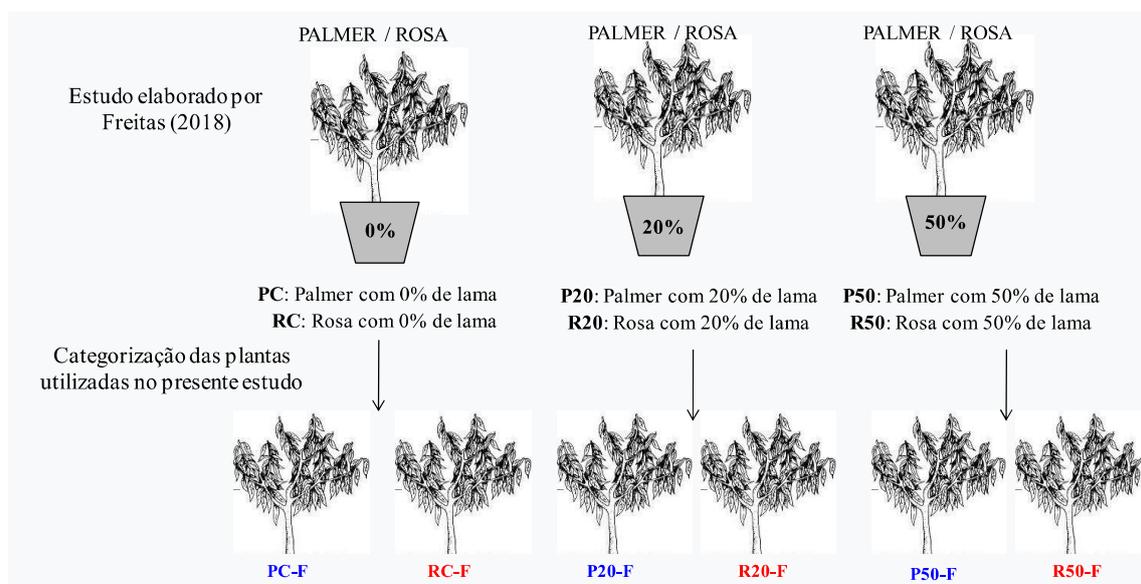


Figura 7: Esquema metodológico do trabalho desenvolvido por Freitas (2018) e as novas categorizações do presente estudo (fertilizadas e não fertilizadas). As plantas passaram por 22 meses sobre a influência de diferentes concentrações de lama (20% e 50%).

As identificações dos tratamentos se mantiveram similares ao que foi empregado no trabalho de Freitas (2018). Na qual as cultivares Palmer e Rosa eram identificadas de acordo com a porcentagem de lama que tinham em seu substrato, sendo, PC e RC (plantas que continham 0% de lama), P20 e R20 (plantas que continham 20% de lama) e P50 e R50 (Plantas que continham 50% de lama). Durante a condução deste experimento estas plantas foram categorizadas com NF e F, em virtude da condição de fertilização, sendo respectivamente, Não fertilizadas e Fertilizadas.

5.3. Coleta e Processamento dos rejeitos de mineração E Produção de Mudas

A coleta do material contaminado do Rio Doce, contendo rejeitos de mineração juntamente com a produção de das mudas de mangueiras Palmer e Rosa se deram de forma paralela no ano de 2016. O fluxograma exibido na figura 8 demonstra as diferentes etapas até o cultivo em campo destas plantas para a realização do presente estudo.

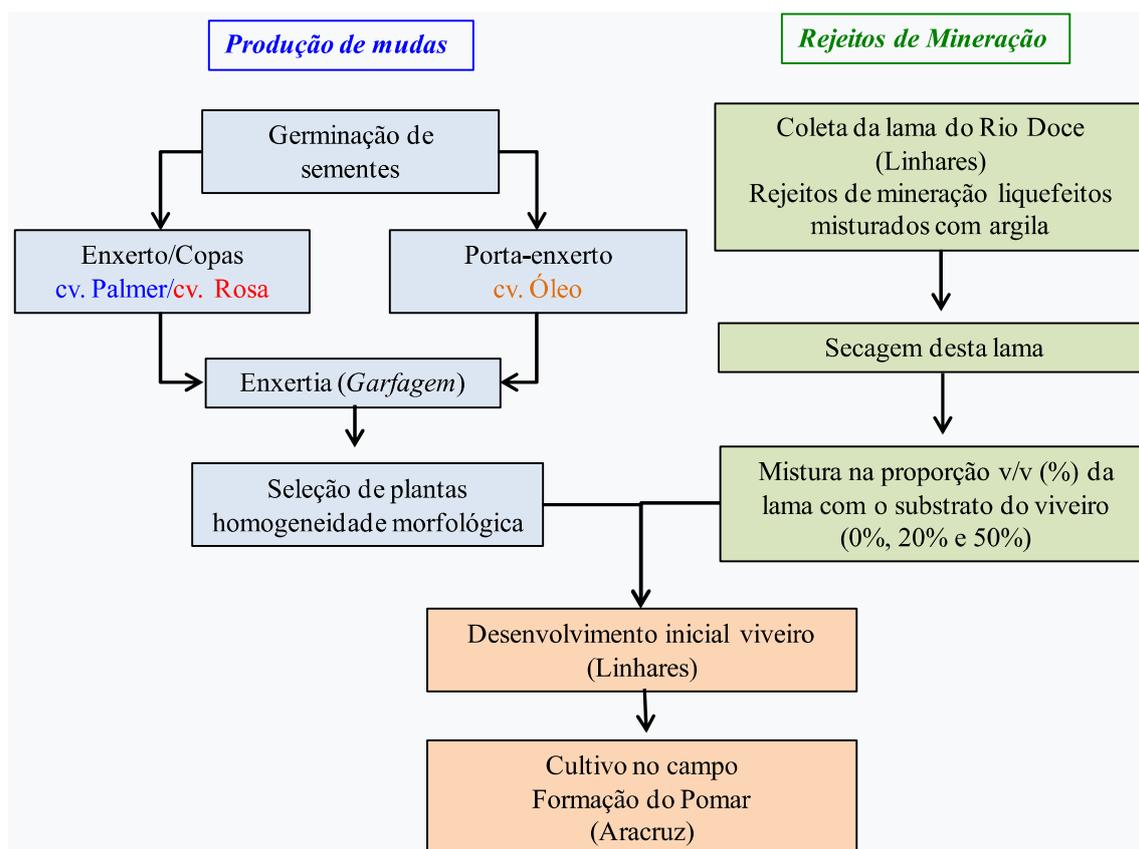


Figura: Fluxograma das etapas de produção de mudas de mangueiras com rejeitos de minério até o cultivo em campo destas plantas.

5.4. Fertilização

Em agosto de 2018, 30 plantas de cada cultivar foram escolhidas, e a área de cultivo das mangueiras foi dividida (Figura 8), em uma parte que receberia adubação e uma que não receberia adubação respectivamente. Neste mesmo período foi realizada a primeira adubação com o fertilizante Gallus®, produto organomineral, que tem como base de composição, esterco de ave doméstica (figura 9).

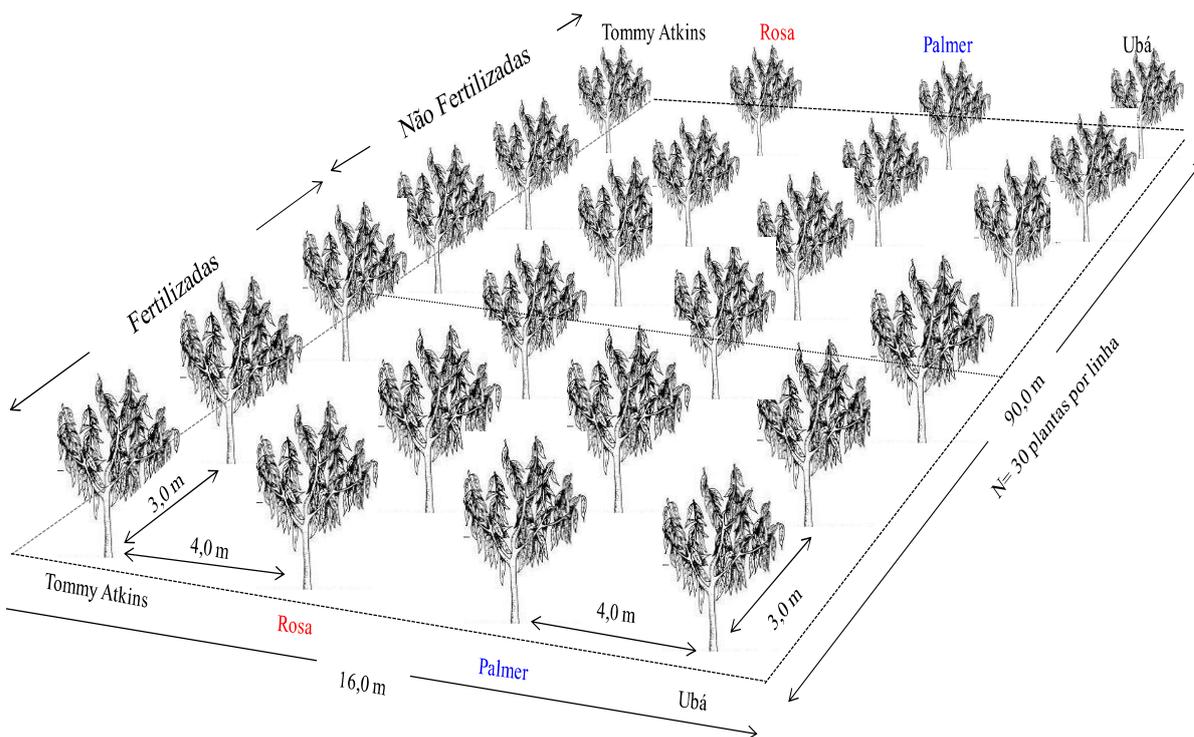


Figura 8: Croqui experimental do cultivo das mangueiras na fazenda Luiz Betarzo – Aracruz sobre duas condições de fertilização



Figura 9: embalagem comercial do Fertilizante organomineral Gallus®, e aspecto líquido do produto

A composição química está descrita nas tabelas 1 e 2. Aplicação do fertilizante foi no solo próximo, a 60 cm da base do caule. As aplicações seguiram mensalmente até

julho de 2019, com dosagens de 200 mL por planta, de acordo com as recomendações estabelecidas pelo fabricante. Em setembro de 2018 aos 30 dias após a fertilização realizaram-se as primeiras medidas fisiológicas.

Tabela 1 : Análise química do Fertilizante Gallus utilizado no cultivo das cultivares de *Mangifera indica* (L.) em Aracruz - ES, 2018. Análise cedida pelo fabricante.

Variável analisada	Unid.	Valor
pH	-	7,99
Condutividade elétrica	dS/m	79,90
Densidade	g/mL	1,19
Carbono Orgânico	%	35,10
Matéria Orgânica total	g/L	84,19
CTC	mol/kg	295,0
Nitrogênio (N)	mg/L	7.000,0
Fósforo (P ₂ O ₃)	mg/L	41.621
Potássio (K ₂ O)	mg/L	96.800
Calcio (Ca)	mg/L	11.781
Magnésio (Mg)	mg/L	1,375
Enxofre (S)	mg/L	2.151
Ferro (S)	mg/L	2.800
Zinco (Zn)	mg/L	75,0
Cobre (Cu)	mg/L	22,5
Manganês (Mn)	mg/L	190,0
Boro (B)	mg/L	19,00
Molibdênio (Mo)	mg/L	0,10

Tabela 2: Análise de aminoácidos do Fertilizante Gallus utilizado no cultivo das diferentes cultivares da Mangueira (Palmer e Rosa), Aracruz - ES, 2018. Análise cedida pelo Fabricante

Variável analisada	Unid.	Valore
Acido aspártico	%	0,11
Acido Glutâmico	%	0,16
Serina	%	0,03
Glicina	%	0,08
Histidina	%	0,03
Taurina	%	ALD
Arginina	%	0,02
Treonina	%	ALD
Alanina	%	0,11
Prolina	%	0,06
Tirosina	%	0,04
Valina	%	0,07
Metionina	%	0,02
Cistina	%	ALD
Isoleucina	%	0,06
Leucina	%	0,09
Fenilalanina	%	0,6
Lisina	%	0,06

5.5. Análise química do solo e folha

Todas as análises químicas foram realizadas em laboratório especializado (Fullin Laboratório de Análise Agronômica e Ambiental) – 2018. A recomendação nutricional para cultura da mangueira está descrita na tabela 4 (QUAGGIO, et al. 1996)

Tabela 3: Análise química do solo ao redor das mangueiras, Palmer e Rosa nas duas áreas experimentais: Não Fertilizadas (Não Fert.) e Fertilizadas (Fert.)

Parâmetro analisado	Unid.	Cultivares			
		Palmer		Rosa	
		Não Fert.	Fert	Não Fert.	Fert
pH	#	6,7	6,1	6,7	6,2
M. O	Dag/kg	2,0	1,6	2,6	2,1
P Mehlich	mg/dm ³	7,0	11,0	5,0	5,0
Ca	Cmol	2,2	2,0	2,8	2,2
Mg	Cmol	0,4	0,4	0,5	0,5
Al	Cmol	0,0	0,0	0,0	0,0
Fe	mg/dm ³	93	79	83	64
Zn	mg/dm ³	0,9	0,8	1,3	1,7
Cu	mg/dm ³	0,1	0,2	0,1	0,1
Mn	mg/dm ³	16	16	26	16
B	mg/dm ³	0,32	0,39	0,46	0,49
Na	mg/dm ³	4,0	3,0	5,0	4,0
K	mg/dm ³	140	73	150	71
Se	mg/dm ³	13	14	19	12

pH: Potencial Hidrogênico, M.O- Matéria Orgânica, P – Fósforo Mehlich, Ca – Cálcio, Mg – Magnésio, Al – Alumínio, Fe – Ferro, Zn- Zinco, Cu- Cobre, Mn- Manganês, B-Boro, Na-Sódio, K- Potássio, S – Enxofre. Laboratório de análises Agronômicas, Ambiental e Preparo de Soluções Químicas (FULLIN) – Linhares, ES

Tabela 4: valores de adequação nutricional para cultura da mangueira

Nutriente	Unidade	Valor de Adequação
Nitrogênio	g/kg	12-14
Fósforo	g/kg	0,8-1,6
Potássio	g/kg	5-10
Calcio	g/kg	20-35
Magnésio	g/kg	2,5-5,0
Enxofre	g/kg	0,8-1,8
Ferro	mg/kg	50-200
Zinco	mg/kg	20-40
Cobre	mg/kg	10-50
Manganês	mg/kg	50-100
Boro	mg/kg	50-100

As figura 10 e 11 mostram os teores de macro e micro nutrientes nas duas variedades aos 90 DAF. Observa-se que em grande parte dos nutrientes analisados se apresentavam com maior concentração nas plantas fertilizadas. Nas plantas de Palmer (figura 4), o acúmulo de nutrientes se dispôs da seguinte forma, para as não fertilizadas (circulo branco), $N > Ca > K > Mg > P > S > Mn > Fe > Z > B > Cu$, Para as fertilizadas (circulo escuro), $N > Ca > K > Mg > P > S > Mn > Fe > Z > B > Cu$. Estes acúmulos apresentaram pouca variação em relação das antigas concentrações de lama.

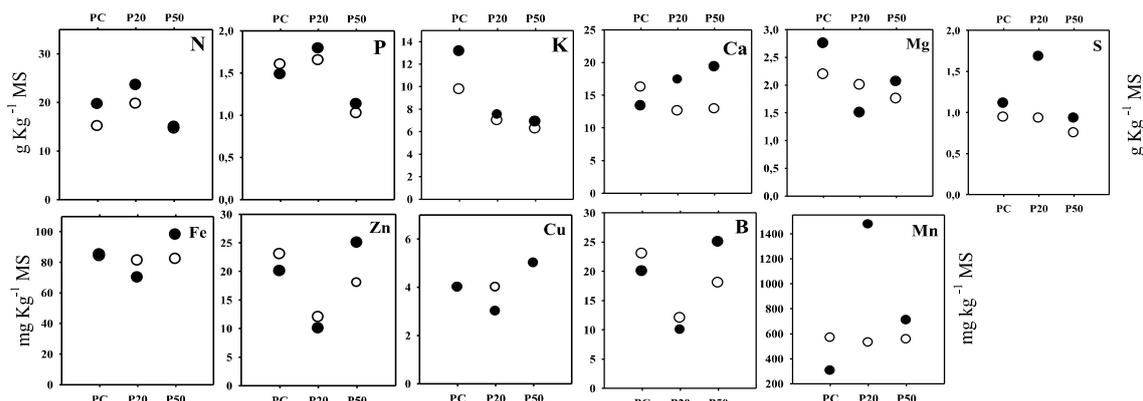


Figura 10: Análise química das folhas da variedade PALMER após a fertilização. Plantas não fertilizadas representadas pelo círculo Branco, plantas fertilizadas representadas pelo círculo escuro. N (Nitrogênio), P (Fósforo), K (Potássio), Ca (Cálcio), B (Boro), Mg (Magnésio), S (Enxofre), Fe (Ferro), Zn (Zinco), Cu (Cobre) e Mn (Manganês). Laboratório de análises agrônomicas e ambientais Fullin-ES.

As Plantas de Rosa (figura 5), de modo geral apresentaram menos oscilações nos valores dos nutrientes, quando comparada a variedade Palmer, obtendo a mesma ordem de acúmulo de nutrientes para as duas condições de fertilização (N- Fert e Fert), $N > Ca > K > P > Mg > Se > Mn > Fe > B > Zn > Cu$.

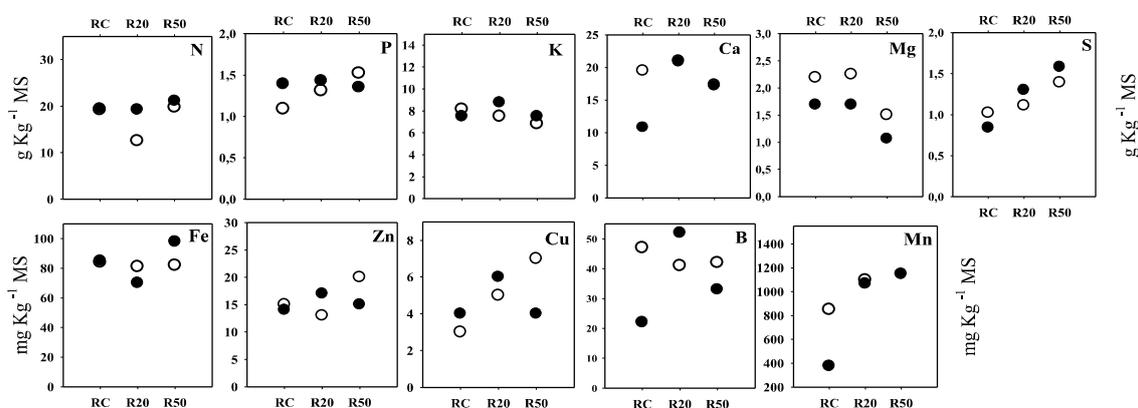


Figura 11: Análise química das folhas da variedade ROSA após a fertilização. Plantas não fertilizadas representadas pelo círculo Branco, plantas fertilizadas representadas pelo círculo escuro. N (Nitrogênio), P (Fósforo), K (Potássio), Ca (Cálcio), B (Boro), Mg (Magnésio), S (Enxofre), Fe (Ferro), Zn (Zinco), Cu (Cobre) e Mn (Manganês). Laboratório de análises agrônomicas e ambientais Fullin-ES.

5.6. Extração e quantificação de Clorofilas e Carotenóides

Os pigmentos foliares também foram extraídos (clorofilas *a* e *b*, e carotenóides) e suas concentrações foram determinadas de um extrato único, que foi preparado com 100 mg de tecido foliar liofilizado que posteriormente foi macerado em gral de porcelana com 15 ml de etanol a 90% , o extrato foi mantido por 24 h a 8°C em agitação constante sobre uma mesa agitadora. Em seguida o extrato foi centrifugado a 1450 x g durante 20 min a 4°C. O extrato foi lido em espectrofotômetro (modelo: espectrofotômetro thermo scientific genesys 150) nos comprimentos de onda de 470nm, 648nm e 664nm para a determinação das clorofilas e carotenóides. As concentrações dos pigmentos foram calculadas conforme as equações de Lichtenthaler e Buschmann (2001):

$$[\text{Clorofila } a = 13,36.A_{664} - 5,19.A_{648}]$$

$$[\text{Clorofila } b = 27,43.A_{648} - 8,12.A_{664}]$$

$$[\text{Clorofila Total} = \text{Clorofila } a + \text{Clorofila } b]$$

$$[\text{Carotenóides} = (1000.A_{470} - 2,13.\text{clorofila } a - 97,64.\text{clorofila } b)/209].$$

Onde: A_{470} = absorvância a 470 nm; A_{664} = absorvância a 664 nm; A_{648} = absorvância a 648 nm. Os resultados foram apresentados em mg por grama de massa seca (mg g^{-1} MS).

5.7. Fluorescência da clorofila *a*

A cinética de emissão da fluorescência da clorofila *a* foi quantificada utilizando um fluorômetro portátil (Handy PEA-PlantEfficiencyAnalyzer, Hanstech, king's Lynn, Norkfol, UK). As medições foram conduzidas entre 07:00 e 9:00 horas da manhã em folhas jovens, totalmente expandidas, localizadas no segundo fluxo foliar (sentido ápice-base) sendo adaptadas ao escuro por cerca de 40 minutos, tempo suficiente para que todos os centros de reação estivessem totalmente oxidados e em seguida expostas a um pulso de luz vermelha (650 nm) saturante ($3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) numa aérea de 4mm de diâmetro da folha avaliada. Os resultados obtidos foram, posteriormente, tabulados em planilha eletrônica utilizando o *software* PEA plus v1. 12.

A intensidade de fluorescência foi medida entre 10 μ s e 1s, sendo a fluorescência inicial ($F_1=F_0$) obtida em 20 μ s, ($F_2=F_L$) em 150 μ s, ($F_3=F_K$) em 300 μ s, ($F_4=F_J$) em 2,0 ms, ($F_5=F_I$) em 30 ms e ($F_M=F_P$) em 400 ms. A obtenção das curvas OJIP permitiu

a comparação das diferenças após a normalização usando os passos O ($F_1=F_0$ 20 μ s) e P ($F_M \cong 400$ ms), que foram expressas como a fluorescência variável relativa [$V_t = W_{OP} = (F_T-F_0)/(F_M-F_0)$]. Ao calcular a diferença cinética entre as curvas normalizadas da fluorescência variável relativa [$\Delta V_t = W_{OP(\text{tratamento})} - W_{OP(\text{controle})}$] as curvas positivas em relação à referência são um indicativo da, perda (emissão) de energia sob a forma de fluorescência, e as curvas negativas indicam maior eficiência fotoquímica da etapa analisada. 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 significados dos parâmetros avaliados estão descritos na tabela 5

Tabela 5: Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* calculados pelo teste-JIP descritos por Strasser et al. (2010) e Tsimilli-Michael (2019)

Parâmetros	Equação	Significado
F_0	= 20 μ s	Fluorescência inicial = 20 μ s
F_M	$\cong 400\mu$ s	Fluorescência máxima $\cong 400\mu$ s
ABS/RC	$M_0, (1/V_J), \psi_0 = (M_0/V_J), \psi_0 = (M_0/V_J), (1-V_J)$	Fluxo específico de energia específica de absorção de elétrons por centro de reação
TR_0/RC	$M_0, (1/V_J)$	Fluxo específico de energia capturada por centro de reação (no tempo 0)
ET_0/RC	$M_0, (1/V_J), \psi_0 = (M_0/V_J), \psi_0 = (M_0/V_J), (1-V_J)$	Fluxo específico de transporte de elétrons após a QA ⁻ por centro de reação
DI_0/RC	$ABS/RC - TR_0/RC$	Fluxo específico de energia dissipada por centro de reação
$\phi(R_0)$	RE_0/ABS	Rendimento quântico do transporte de elétrons da QA para o Fotossistema I
$\phi(E_0)$	ET_0/ABS	Probabilidade em que um éxciton se move na cadeia de transporte de elétron
$\phi(P_0)$	F_v/F_m	Rendimento quântico do fotossistema II
$\Psi(E_0)$	ET_0/TR_0	Eficiência em que a energia move o elétron na cadeia de transporte de elétrons além da QA
PI_{ABS}	$(RC/ABS) \cdot (\phi P_0 / (1 - \phi P_0)) \cdot (\psi E_0 / (1 - \psi E_0))$	Índice de desempenho (potencial) do FSII, Conservação de energia de fótons absorvidos pelo FSII para a redução do intersistema receptores de elétrons
PI_{TOTAL}	$PI_{ABS} \cdot (\delta R_0 / (1 - \delta R_0))$	Índice de desempenho para a conservação de energia dos fótons absorvidos pelo FSII para a redução dos receptores finais do FSI

5.8. Trocas gasosas

As medidas das trocas gasosas foram realizadas com auxílio de um analisador portátil de gás por infravermelho (*Infrared Gas Analyser – IRGA*) modelo LCpro-SD da ADC BioScientific®. As análises ocorreram entre 08:00 e 10:00. As análises foram feitas utilizando como base o CO₂ ambiente (≈ 380 Pa), PAR controlada de $1350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (determinada a partir de curva de luz) e temperatura foi pré determinada na câmara foliar em 26°C.

Os parâmetros fisiológicos calculados pelo IRGA foram: a taxa de fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a condutância estomática (g_s , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a taxa de transpiração (E , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A partir destes parâmetros inicialmente obtidos, calculou-se as razões como a eficiência instantânea do uso da água (A/E) e eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s).

5.9. Carboidratos não estruturais

Para a extração e determinação dos carboidratos solúveis (carboidratos totais solúveis (AST) e sacarose (SAC)) e amido (AMI), um extrato único foi preparado com 100 mg de tecido foliar seco obtido em estufa de ventilação forçada, a 65 °C durante 36 horas, e posteriormente as amostras de massa seca (MS) foram maceradas em almofariz de porcelana com 15 ml de etanol a 80% , o extrato foi mantido por 24 h a 8°C, com agitação constante com uma mesa agitadora. Em seguida o extrato foi centrifugado a $1450 \times g$ durante 20 min a 8°C, onde o sobrenadante foi utilizado para quantificação de AST e SAC, e o precipitado na determinação de AMI.

5.9.1. Carboidratos solúveis totais e Sacarose

Para a quantificação de carboidratos solúveis totais e sacarose o sobrenadante foi coletado. As análises de AST seguiram o método fenol-sulfúrico conforme Dubois et al. (1956) que quantifica a soma dos açúcares redutores mais a sacarose. Utilizou-se uma alíquota de 500 μL do extrato etanólico, 500 μL de fenol a 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro Genesys 150 – Thermo Scientific a $\lambda = 490$ nm. Foi realizada uma curva padrão de calibração, e os resultados foram expressos em miligrama de glicose por grama (mg glicose g^{-1}).

O teor de sacarose foi dosado baseando-se no Método da Antrona, que degrada os carboidratos redutores a partir da reação com o hidróxido de sódio (RIAZI et al., 1985). Uma alíquota de 500 μL do extrato somado a 100 μL de solução de KOH a 5,4 N foi incubada a 100° C por 10 minutos, e posteriormente acrescentou-se 3,0 mL de solução de antrona que novamente foram incubadas a 100° C por 5 minutos. Após o resfriamento, as amostras foram lidas a $\lambda = 620$ nm em espectro Genesys 150 – ThermoScientific. Utilizou-se sacarose para realizar a curva de calibração (0 a 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados das concentrações de sacarose foram expressos em mg de sacarose por g de massa seca ($\text{mg sacarose g}^{-1}$ MS).

5.9.2. Amido

A dosagem de amido seguiu a metodologia proposta por MCCready et al. (1950), no mesmo extrato etanólico utilizado para determinação de carboidratos totais solúveis e sacarose, o sobrenadante foi reservado, sendo somente utilizado o precipitado, que foi seco em estufa de ventilação forçada a 60 ° C por 24 horas. Em seguida foi adicionado 10 mL de etanol 95% ao precipitado e aquecido por 20 min a 80° C para extração dos carboidratos solúveis, foi então centrifugado a 3000 x g. O sobrenadante foi descartado e, os passos de adição de etanol, aquecimento e centrifugação do precipitado, foram repetidos por mais três vezes para remoção total dos carboidratos solúveis. O amido obtido da massa residual foi reagido com 6,5 mL de ácido perclórico a 52%, por 20 min a 5 ° C, em constante homogeneização. Em seguida foram acrescentados 10 mL de água e a reação centrifugada a 3000 x g por 20 minutos. O sobrenadante foi novamente separado e descartado, esta operação se repetiu por mais três vezes. A quantificação do amido realizou-se pela relação da antrona (0,2%) e a leitura das absorbâncias realizada em espectrofotômetro Genesys 150 – ThermoScientific a $\lambda = 620$ nm. Utilizando-se como curva padrão uma solução de glicose (0 a 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Valor obtido em equivalentes de glicose foi multiplicado pelo fator de correção 0,9, para o ajuste referente a concentração de amido (MCCREADY et al., 1950).

5.10 Atividade enzimática (CAT, APX, POD e PPO) e Proteínas totais

Para extração e determinação da atividade enzimática foi utilizado 100 mg de tecido foliar fresco, homogeneizado com tampão fosfato de potássio 0,1M (pH 7), EDTANa2 0,1 mM, ácido ascórbico 10 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) (p/v). As extrações foram realizadas com auxílio de almofariz e pistilo, sendo homogeneizado em

nitrogênio líquido e centrifugado a 12000 x g durante 25 min, a 4° C. Foram utilizados os sobrenadantes para as análises de atividades da Catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX), peroxidase do guaiacol (POD) e polifenoloxidase (PPO). A centrifugação e leitura em espectrofotometria (espectrofotômetro Genesys 150 – ThermoScientific).

5.10.1. Catalase (CAT; EC 1.11.1.6)

A atividade da catalase foi determinada pela adição de 100 µL do extrato enzimático a 2,9 mL de meio de reação contendo solução de tampão de sódio 50 mM (pH 6,8) e H₂O₂ 10 mM. O decréscimo na absorbância medido a $\lambda = 240$ nm foi monitorado durante 3 minutos a 28° C (AEI, 1984). O cálculo da atividade enzimática utilizou o coeficiente de extinção molar de 36 mol⁻¹ L cm⁻¹ e foi expressa em µmol de H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ ptn.

5.10.2. Peroxidase do Ascorbato (APX; EC 1.11.1.11)

A peroxidase do ascorbato teve sua atividade determinada por meio do método descrito por Nakano e Asada (1981). Uma alíquota de 100 µL do extrato enzimático foi misturada a 2,9 mL de meio de reação constituído por uma solução de tampão de fosfato de sódio 50 mM (pH 7,0), EDTANA₂ 0,1 mM, ácido ascórbico 0,5 mM. A reação foi iniciada com a adição de H₂O₂ a 2 mM e o decréscimo na absorbância foi observado por 3 minutos a 25 ° C em $\lambda = 290$ nm. Para o cálculo utilizou-se coeficiente de extinção molar de 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹ e atividade enzimática foi expressa em µmol ascorbatomin⁻¹ g⁻¹ ptn.

5.10.3. Peroxidase do Gaiacol (POD; EC 1.11.17)

Determinou-se a atividade da peroxidase do gaiacol baseando-se na metodologia proposta por Cakmak et al. (1993) com modificações. 100 µL do extrato enzimático foi incorporado a 200 µL de tampão de sódio 50 mM (pH 7,0) com guaiacol 30 mM e 200 µL de H₂O₂ 10 mM. O aumento da absorbância devido à oxidação do guaiacol foi registrado a $\lambda = 470$ nm depois de 2 minutos de reação. Os resultados foram expressados em unidades de absorbância/min/mg de proteína, utilizando coeficiente de extinção de H₂O₂ com valor 26,6 mM⁻¹ cm⁻¹ (µmol H₂O₂/min/mg ptn).

5.10.4. Polifenoloxidase (PPO; EC 1.30.3.1)

A atividade da polifenoloxidase foi mensurada através da metodologia proposta por Cañal et al. (1988), com adaptações, determinando-se por meio da conversão do catecol em quinona, sendo utilizado 50 µL de extrato, 1,5 ml de catecol 20 mM e 2ml de tampão de sódio 100 mM pH 7,0. Após 3 min de reação, foi feita a leitura a 420 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância/min/mg de proteína (UA/min/mg ptn)

5.10.5. Proteínas totais

Para determinação do teor de proteínas totais foi retirada uma alíquota de 100 µL do extrato, a quantificação foi realizada de acordo com Bradford (1976). 100 µL do extrato foi misturado a 2 mL de reagente de Bradford, seguida de forte agitação a $\lambda=595$ nm. Os resultados foram expressos como mg de proteína/g de massa fresca (mg/ptn/g/MF), sendo utiliza albumina serina bovina com proteína padrão para a curva de calibração.

5.11. Estatística

O experimento foi instalado e analisado segundo o delineamento experimental em blocos casualizados, em esquema fatorial foi disposto em 3 x 2, sendo três concentrações de lama, e duas condições de fertilização, com cinco repetições. Os dados foram submetidos a uma análise de variância, e quando o teste F foi significativo, uma comparação de médias foi realizada por meio do teste de Skot-Knott em nível de 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software InfoStat (v 2017, *student Free*).

Para realização da discriminação dos grupos experimentais, levando em consideração o fator tempo amostral (30 DAF, 150 DAF e 300 DAF) foi feita análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA). Utilizando-se o software InfoStat (v 2017, *student Free*). Os dados foram previamente auto-escalados, antes de serem submetidos à PCA e HCA, uma vez que, há uma grande variação das respostas fisiológicas que foram obtidas neste estudo. Foi atribuído o mesmo peso para todas as variáveis para obtenção do dendograma do HCA, utilizando-se a distância euclidiana, pelo método de conexão incremental.

6. RESULTADOS

6.1. Pigmentos foliares

A partir da massa seca de folhas das mangueiras Palmer e Rosa, Não-fertilizadas (N-Fert) e Fertilizadas (Fert), foram mensurados os teores dos pigmentos fotossintetizantes, Clorofila *a* (Chl. *a*), Clorofila *b* (Chl. *b*) e Carotenoides (Car). Na tabela 6 e 7 observa-se que não houve diferenças significativas ($p>0,05$) quando foi levado em consideração as antigas concentrações de rejeitos de mineração (0%, 20% e 50%). Diferenças significativas ($p>0,05$) só foram observadas em função das condições de fertilização, o que se traduziu em um aumento no teor de alguns pigmentos nas plantas fertilizadas de ambas as cultivares.

Tabela 6: Teores de clorofila *a* (Chl. *a*), Teores de clorofila *b* (Chl. *b*) e Carotenoides (Car) em folhas de *Mangifera indica* (L.), cultivares Palmer (Não Fertilizadas e Fertilizadas) durante o cultivo em campo, das plantas que foram produzidas com substrato contendo rejeitos de mineração

Variáveis	DAF	Palmer Não Fertilizada			Palmer Fertilizada		
		PC	P20	P50	PC	P20	P50
Chl. <i>a</i> ng g ⁻¹ MS)	30	5,43 Ba	5,57 Ba	5,17 Ba	8,11 Aa	8,18 Aa	8,03 Aa
	150	5,31 Ba	5,48 Ba	5,21 Ba	7,89 Aa	8,11 Aa	8,31 Aa
	300	5,47 Ba	5,34 Ba	5,18 Ba	8,21 Aa	7,21 Aa	6,64 Ab
Chl <i>b</i> ng g ⁻¹ MS)	30	2,18 Ba	2,38 Ba	2,14 Ba	3,85 Aa	3,59 Aa	3,28 Aa
	150	2,15 Ba	2,28 Ba	2,36 Ba	3,78 Aa	3,48 Aa	3,34 Aa
	300	3,20 Aa	3,37 Aa	3,31 Aa	3,81 Aa	3,46 Aa	3,51 Aa
Car ng g ⁻¹ MS)	30	2,41 Aa	2,27 Aa	2,31 Aa	2,36 Aa	2,18 Aa	2,36 Aa
	150	2,36 Aa	2,74 Aa	2,18 Aa	2,09 Aa	2,10 Aa	2,41 Aa
	300	2,47 Aa	2,08 Aa	2,45 Aa	2,31 Aa	2,15 Aa	2,14 Aa

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p>0,05$). Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos dentro do fator fertilização no mesmo período de análise (30, 150 e 300 DAF), e letras minúsculas comparam os mesmos tratamentos entre as antigas concentrações de rejeitos de mineração do dentro do mesmo período de análise (0%, 20% e 50%).

Aos 30 Dias após o início da fertilização nota-se que as cultivares Palmer (tabela 6) e Rosa (tabela 7) tinham similaridades nos valores de todos os pigmentos avaliados, no entanto, em proporções diferentes, devido às duas condições de fertilização. A cultivar Palmer, mostrou diferenças entre as plantas N-Fert e Fert, o incremento nas plantas fertilizadas foi em média de $\approx 55\%$ no teor de Chl *a*, e de $\approx 60\%$ na concentração de Chl *b*. Nas plantas de Rosa, nota-se que as diferenças entre as

fertilizadas e não fertilizadas foram menores quando comparadas as diferenças registradas entre os grupos Fert e N-Fert de Palmer, cerca de $\approx 27\%$ e de $\approx 44\%$ nos teores de Chl *a* e Chl *b* respectivamente. Os teores de flavonóides não tiveram diferenças significativas entre as plantas dentre os fatores analisados.

Aos 150 Dias após o início da fertilização nota-se o mesmo padrão, no qual, as plantas fertilizadas tinham maior concentração de pigmentos, sem diferenças significativas ($p>0,05$). Nas plantas de Palmer, foram registradas diferenças de $\approx 40\%$ tanto para Chl *a* como para Chl *b*, enquanto nas plantas de Rosa as diferenças entre as N-Fert e Fert foram em média de $\approx 35\%$ e de 43% nos teores de Chl *a* e *b*, nessa ordem.

Aos 300 Dias após o início da fertilização, notam-se padrões similares aos 30 e 150 DAF, visto que, mesmo próximo do fim do experimento as plantas fertilizadas ainda apresentavam maior teor de Chl *a* e Chl *b*, contudo, algumas exceções foram registradas nesse período amostral, tais como, nas plantas de Rosa, que aos 300 DAF não mostraram diferença significativa entre as condições de fertilização.

Tabela 7: Teores de clorofila *a* (Chl. *a*), Teores de clorofila *b* (Chl. *b*) e Carotenoides (*Car*) em folhas de *Mangifera indica* (L.), cultivares Rosa (Não Fertilizadas e Fertilizadas) durante o cultivo em campo, das plantas que foram produzidas com substrato contendo rejeitos de mineração

Variáveis	DAF	Rosa Não Fertilizada			Rosa Fertilizada		
		RC	R20	R50	RC	R20	R50
Chl. <i>a</i> (mg g ⁻¹ MS)	30	5,98 Bb	6,11 Bb	5,93 Bb	7,91 Aa	7,17 Aa	7,86 Aa
	150	6,01 Bb	6,17 Bb	6,01 Bb	7,85 Aa	7,21 Aa	7,76 Aa
	300	7,13 Aa	7,43 Aa	7,32 Aa	7,81 Aa	7,99 Aa	7,13 Aa
Chl <i>b</i> (mg g ⁻¹ MS)	30	2,10 Bb	2,61 Bb	2,37 Bb	3,64 Aa	3,68 Aa	3,59 Aa
	150	2,35 Bb	2,74 Bb	2,03 Bb	3,86 Aa	3,54 Aa	3,64 Aa
	300	2,47 Bb	2,16 Bb	2,78 Bb	2,68 Ba	3,78 Aa	3,71 Aa
<i>Car</i> (mg g ⁻¹ MS)	30	2,48 Aa	2,41 Aa	2,64 Aa	2,38 Aa	2,54 Aa	2,15 Aa
	150	2,18 Aa	2,28 Aa	2,46 Aa	2,74 Aa	2,65 Aa	2,17 Aa
	300	2,35 Aa	2,19 Aa	2,68 Aa	2,36 Aa	2,14 Aa	2,68 Aa

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p>0,05$). Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos dentro do fator fertilização no mesmo período de análise (30, 150 e 300 DAF), e letras minúsculas comparam os mesmos tratamentos entres as antigas concentrações de rejeitos de mineração do dentro do mesmo período de análise (0%, 20% e 50%).

6.2. Fluorescência da clorofila *a*

Para todas as plantas avaliadas durante o experimento, a cinética de emissão da fluorescência da clorofila *a* apresentou as características polifásicas OJIP, quando os transientes foram plotados em escala logarítmica (0,01 a 1000 ms). Os dados OJIP neste trabalho são referentes a diferentes períodos experimentais, que foram analisados aos 30 DAF, 150 DAF e 300 DAF (DAF, dias após o início da fertilização), com intuito de acompanhar o *status* fotoquímico das plantas ao decorrer do tempo em função das novas condições de campo (Fertilizadas (FERT) e não fertilizadas (N-FERT)).

A figura 12 e 13 evidencia típicas curvas OJIP, demonstrando que as plantas das cultivares Palmer (figura 12) e Rosa (figura 13) estavam fotossinteticamente ativas durante o experimento. As curvas foram normalizadas para se obter as diferenças cinéticas pela equação: ($\Delta W_{OP} = W_{OP(\text{tratamento})} - W_{OP(\text{controle})}$) sendo então possível realizar a comparação do perfil fotoquímico de cada cultivar em relação aos antigos tratamentos e as atuais condições de cultivo de fertilização.

As plantas de Palmer (PC, P20 e P50) os 30 dias após o início da fertilização (30 DAF), apesar das poucas variações com relação aos controles, ou seja, plantas de Palmer que foram produzidas em seu substrato sem RM, (PC-NF e PC-F). Todas as plantas de Palmer que passaram pelos antigos tratamentos com as diferentes concentrações de RM, sendo de 20% e 50% mostraram valores positivos em determinados locais da curva OJIP após a normalização. As mangueiras de Palmer que se desenvolveram com 50% de RM (P50) mostraram maior indução da fluorescência, em relação às plantas do antigo controle (PC). Evidenciando essa amplitude positiva, independentemente das duas condições de fertilização, sem fertilizante e com fertilizante (NF e F respectivamente), diferindo somente nas intensidades.

Na etapa O-J (marcado de 0,2 μ s a 2 ms) os valores positivos podem indicar uma menor eficiência da reoxidação da Q_A^- , as plantas P20 NF, mostraram curvas positivas, porém, de valores menos expressivos do que P50 NF (figura 10). Apesar das curvas positivas nos diferentes grupos de plantas, a intensidade da fluorescência observada após a normalização (ΔV_T) diferiu de acordo com as novas condições de cultivo, sendo que P20F e P50 F, apresentaram pouca diferença entre elas nesta etapa, ao contrário das plantas não fertilizadas.

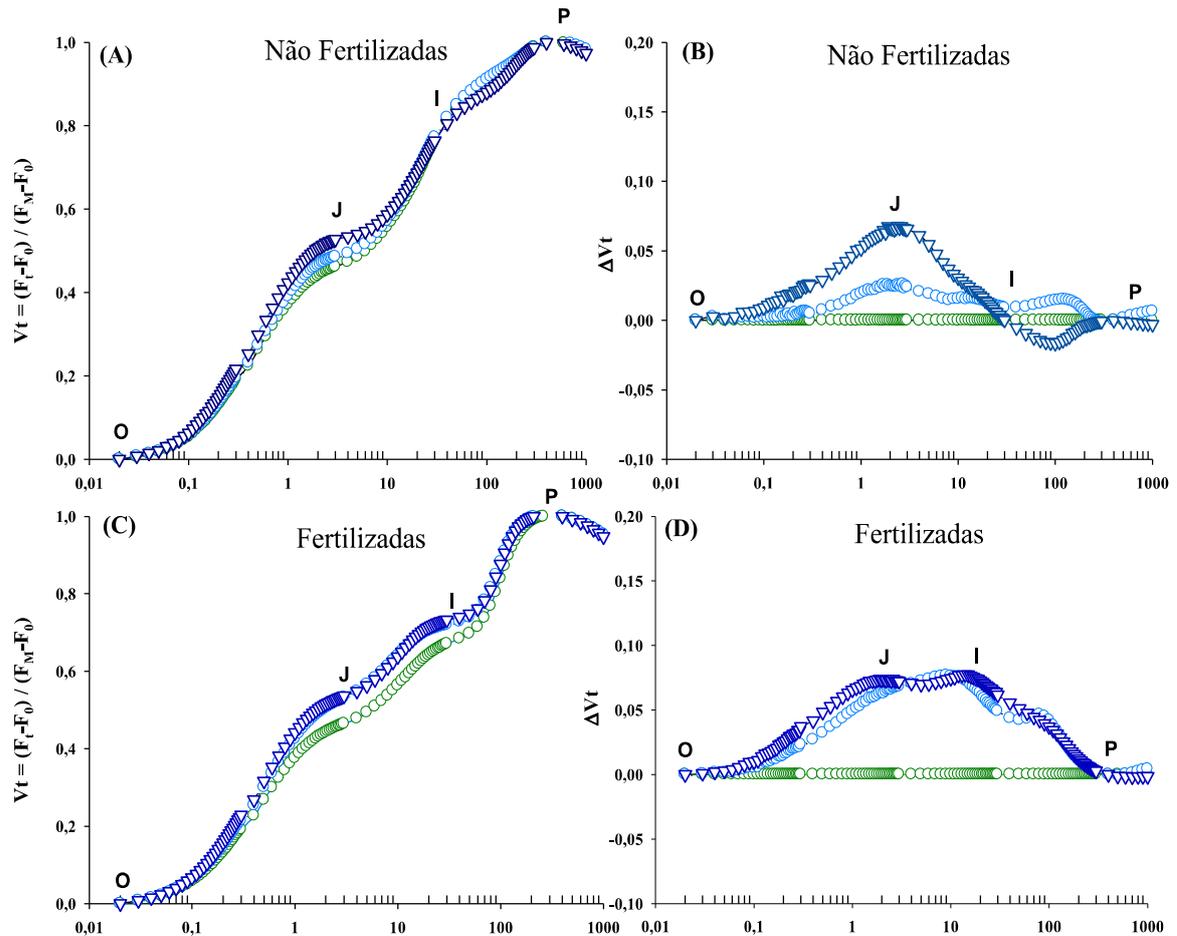


Figura 12: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 30 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar PALMER não fertilizada A e B, PALMER fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)

Na etapa J-I (marcada de 2 ms a 30 ms) as plantas não fertilizadas permaneceram com curvas positivas, o que pode estar relacionado a uma redução progressiva do “*pool*” de plastoquinona. Nesta etapa em particular, as plantas não fertilizadas, P20-NF e P50-NF tiveram amplitudes menos expressivas, em comparação com a etapa anterior O-J, P20-NF durante esta etapa, mostrou-se com valores próximos aos das plantas controle. A fertilizadas P20-F e P50-F, apresentaram curvas de amplitudes similares, de certa forma essa similaridade foi observada em todos os pontos da curva OJIP após a normalização.

A cultivar Rosa (RC, R20 e R50) em determinados locais das curvas OJIP mostraram comportamento similar a cultivar Palmer. Na etapa O-J as plantas N-Fert e Fert tiveram comportamentos fotoquímicos diferentes, onde R20-NF e R50-F obtiveram

curvas positivas, enquanto, R20 F e R50 F tiveram amplitudes negativas, demonstrando um melhor desempenho fotoquímico ligado ao transporte de fluxo de elétrons e a capacidade reoxidativa das quinonas, presentes na CTE dos tilacoides.

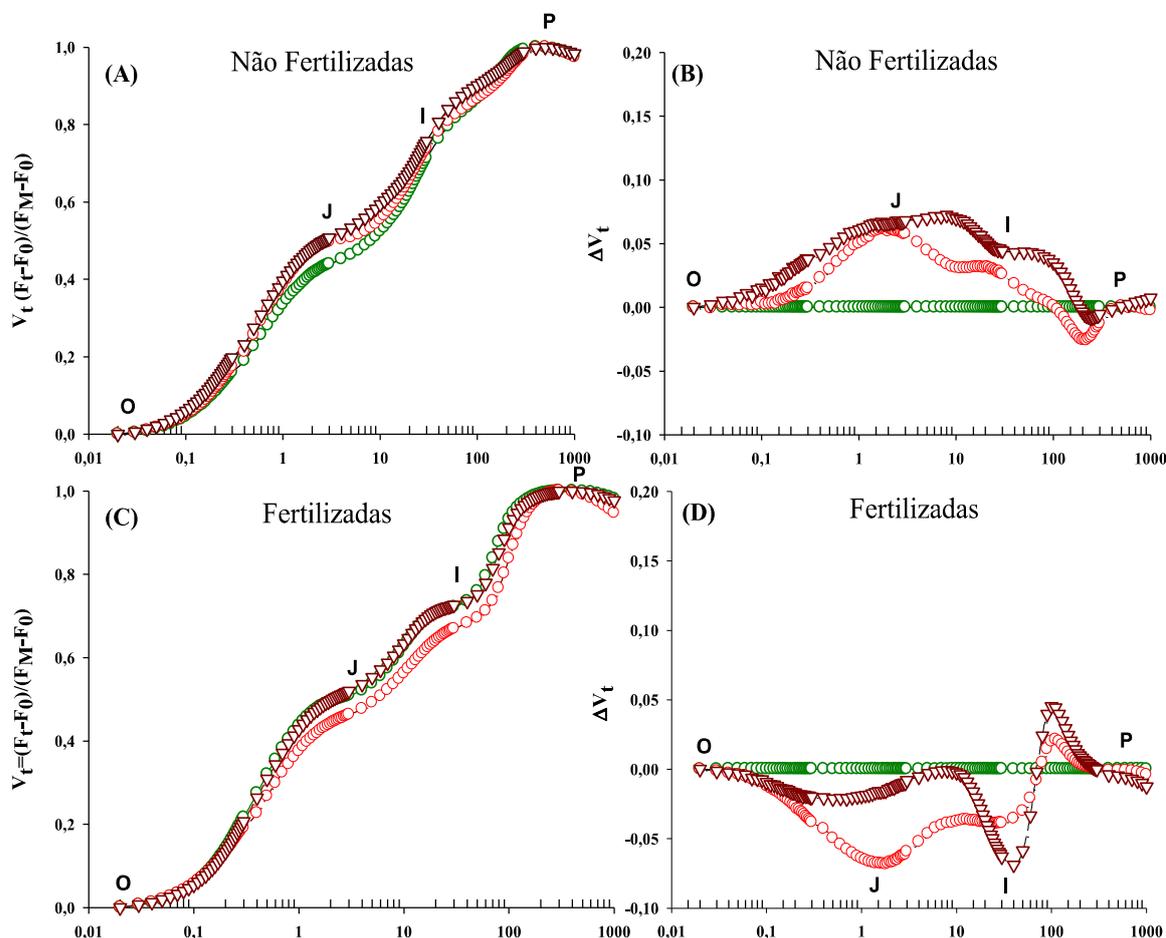


Figura 13: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 30 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar ROSA não fertilizada A e B, ROSA fertilizada C e D, aos 30 dias após o início da fertilização. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)

Assim como nas plantas P20 NF, as plantas de Rosa R20-NF mostraram menor indução de cinética quando comparada as R50-NF, indicando um possível padrão fisiológico em função dos antigos tratamentos com 20% de RM no substrato, no qual, as plantas de 20% de lama tiveram melhor desempenho em relação às plantas com maior porcentagem de (50%).

Na etapa J-I, bem como a etapa anterior, R20-NF e R50-NF demonstraram amplitudes positivas, e R20-F e R50-F com curvas negativas. As amplitudes negativas e

positivas neste caso indicam melhor e pior desempenho respectivamente, ou seja, valores negativos podem ser traduzidos em fatores de indicação em que o “*pool*” de plastoquinona nas plantas fertilizadas se manteve estável aos 30 DAF.

Durante a etapa I-P, as não fertilizadas R20-NF e R50-NF, evidenciaram uma pequena variação negativa, sendo R20-NF com maior amplitude negativa. Ao avaliar as plantas fertilizadas, R20-F e R50-F, especificamente nesta etapa (I-P) demonstraram valores positivos. Este comportamento na fase I-P é um referencial geral sobre a eficiência do transporte de elétrons até os componentes presentes no FSI, no entanto, apesar deste comportamento incluindo curvas positivas e negativas, foram pouco expressivas com relação ao controle, não evidenciando de fato um dano nesse fluxo de elétrons até o FSI.

Ao derivar os transientes OJIP dos 30 DAF para os parâmetros do teste JIP (figura 14) é possível identificar diferentes comportamentos em determinados componentes da CTE. F_0 (fluorescência Inicial) e F_M (fluorescência Máxima) nas plantas de todos os grupos experimentais mostraram proximidade nos valores independente dos antigos tratamentos e as novas condições de cultivo. Apenas P20 NF (Figura 22-A) obteve maiores valores de F_0 e F_M aos 30 DAF.

Nas plantas de Palmer aos 30 DAF, N-Fert (12-A) e Fert (12-B) apenas P20-NF se mostrou com maior aptidão nos transporte de elétrons ΨE_0 e ϕE_0 , o que corrobora com os dados mostrados nas curvas OJIP, onde P20-NF mostrou menor indução de cinética, demonstrando melhor desempenho fotoquímico, o que é demonstrado nestes parâmetros de eficiência de mobilidade de elétrons. As demais plantas de Palmer e Rosa tiveram similaridade com as plantas controle. As plantas de Rosa não fertilizadas (12-C) e fertilizadas (12-D), nestes parâmetros envolvendo o transporte de elétrons, assemelhavam

Com relação ao rendimento quântico do FSII (ϕP_0) é possível observar uma tendência na qual todas as plantas do experimento apresentavam valores próximos aos das plantas controle após a normalização, indicando que aos 30 DAF as plantas estavam com a mesma eficiência quântica efetiva no FSII, ou seja, não necessariamente sobre influência de um potencial estresse fotoinibitório no FSII.

Ao avaliar os índices de desempenho (PI_{ABS} e PI_{TOTAL}) nas duas cultivares de Mangueira, Palmer e Rosa são observadas diferentes performances em função das

antigas concentrações de lama, R50, por sua vez se mostrou com maiores valores de PI_{TOTAL} em ambas as condições de fertilização (com e sem), em um aumento paralelo, os valores de eficiência do transporte até os receptores do FSI (δR_0) foram significativos nas plantas R50-NF, o que já era esperado pelo fato destes parâmetros terem relação direta um para com o outro. Nas Fertilizadas, R20-F, assim como R50-F, mostrou maior expressão nestes parâmetros, porém, sem a mesma significância estatística observada nas plantas não fertilizadas de R20-NF. Nos valores de PI_{ABS} , apenas R50, fertilizada e não fertilizada evidenciaram uma pequena expressão de atividade maior do que as demais plantas, no entanto pouco representativa. As demais R20 Não fertilizada e fertilizada tiveram valores próximo as plantas controle (RC) após a normalização.

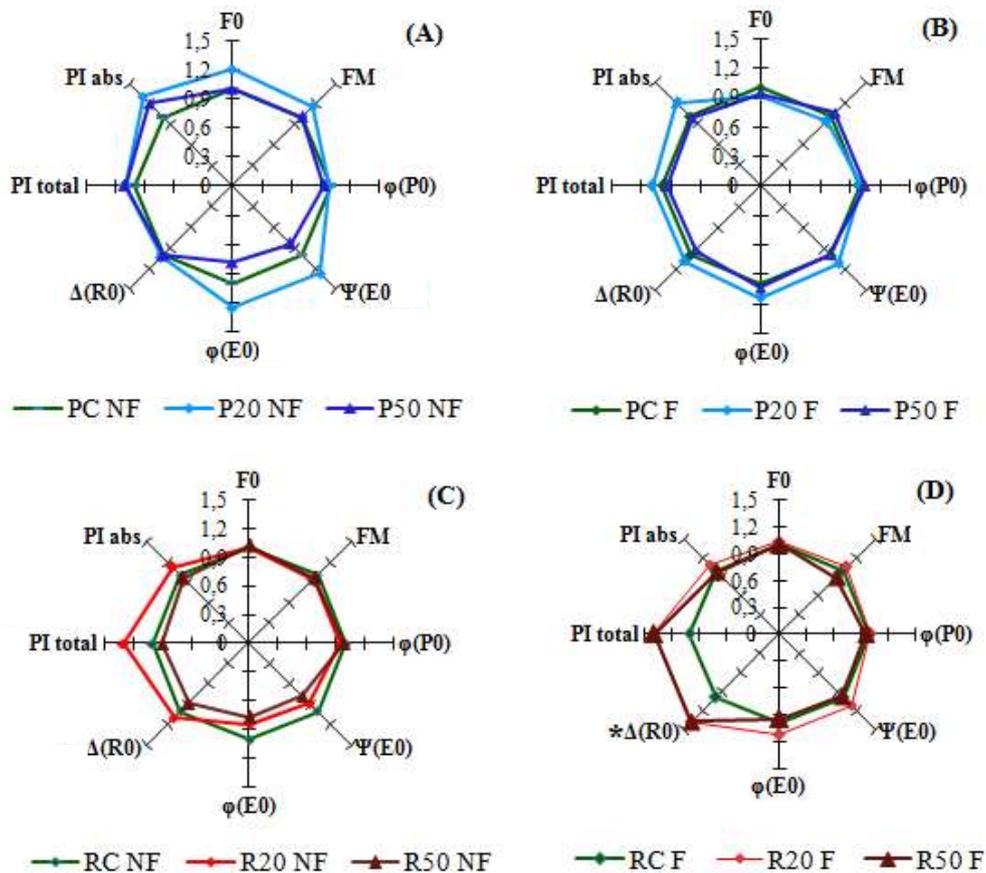


Figura 14. Parâmetros do Teste JIP, de duas cultivares de *Mangira indica* L., fertilizadas e não fertilizadas, Palmer (A e B) e Rosa (C e D) aos 30 dias após o início da fertilização. Utilizando como referência as plantas que foram produzidas em substrato contendo rejeitos de mineração (controle 0% = 1).

Seguindo os diferentes períodos analisados durante a condução deste experimento em campo, podemos observar na figura 15 as diferentes curvas OJIP das plantas de Palmer aos 150 dias após o início da fertilização (150 DAF). Primeiramente, é possível observar diferentes padrões envolvendo as novas condições de fertilização

organomineral, sendo que, ao analisar a diferença cinética após a normalização das plantas de Palmer (ΔV_T), figura 15-B (N-Fert) e 15-D (Fert) mostram diferentes amplitudes, onde Palmer, N-Fert (P20-NF e P50-NF) se mostrou com amplitudes negativas, e as Fert (P20-F e P50F) com amplitudes positivas, nas mesmas proporções.

Durante os passos O-J observa-se que as plantas não fertilizadas P20-NF e P50-NF, tiveram valores negativos, os quais indicam uma menor perda de energia por fluorescência neste intervalo entre os passos O-J, sendo, P50-NF com maior cinética negativa cerca de 10% com relação às plantas controle, PC-NF. Com relação às fertilizadas P20-F e P50-F, é identificado um comportamento inversamente proporcional aos das plantas não fertilizadas, sendo que P50-F se mostrou com maior expressividade positiva durante os passos O-J, cerca de 10% em relação às plantas controle PC-F. As plantas de P20-F também obtiveram valores positivos neste passo, mas com menor amplitude quando comparadas às P50-F.

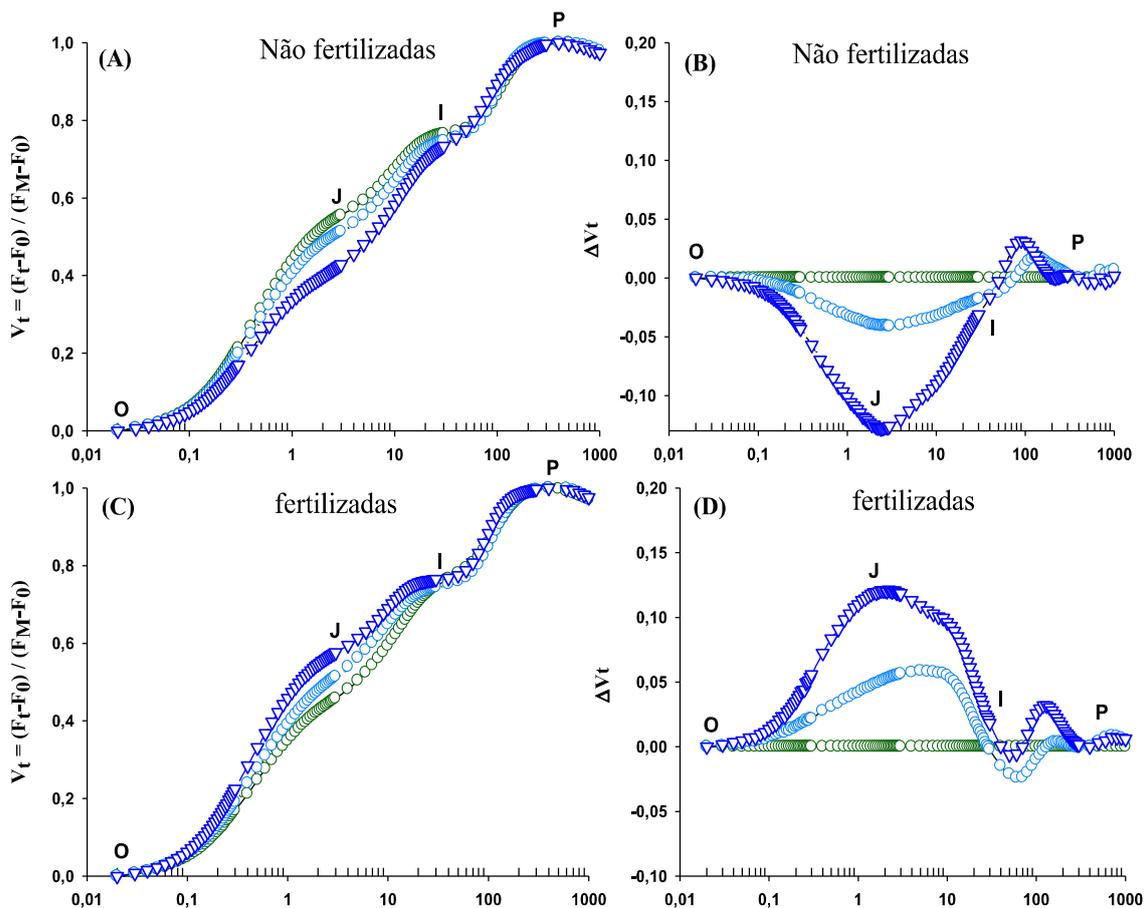


Figura 15: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 150 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar PALMER não fertilizada A e B, PALMER fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)

Na etapa J-I, as P20 NF e P50-NF se mantiveram com valores negativos, seguindo a mesma tendência, somente P50-NF apresentou maior amplitude negativa. As demais plantas Fert P20-F e P50-F, apresentaram curvas positivas, o que evidencia um menor desempenho fotoquímico nesta etapa. Os valores das plantas de Palmer fertilizadas foram semelhantes aos encontrados nas mesmas plantas aos 30 DAF, com diferença somente nas P20-F, que aos 150 DAF mostrou menor cinética de indução, e aos 30 DAF mostrou valores próximos das P50-F. A etapa I-P, foi evidenciada por curvas de valores positivos em ambos os grupos de plantas de Palmer, fertilizadas e não fertilizadas. As P50, NF e F, tiveram valores superiores a P20 NF e F, no entanto, com pouca expressividade, o que pode indicar danos parciais, que não tem o potencial de comprometer a passagem do fluxo de elétrons até o FSI.

As plantas de Rosa aos 150 DAF (figura 16) seguiram de a tendência fotoquímica observada nas plantas de Palmer, onde as plantas N-Fert (R20-NF e R50-NF) apresentaram curvas negativas e as Fert (R20-F e R50-F) obtiveram curvas positivas.

Apesar das curvas negativas nas plantas de Rosa N-Fert, é possível notar que a diferença entre as R20-NF e R50-NF foi pouco expressiva, diferentemente dos valores observados em Palmer, onde um grupo de plantas se mostrou nitidamente com maior aptidão fotoquímica do que o outro. Nas Não Fertilizadas apenas a etapa O-J nas plantas R50-NF tiveram valores positivos. Sendo que nesta mesma etapa, R20-NF teve valores negativos, o que se traduz um melhor desempenho em determinado local da CTE, em comparação com as plantas de R50-NF

Ao verificar o ΔV_T das plantas de Rosa fertilizadas, observou-se que aos 150 DAF, diferenças de amplitude entre as plantas P20-F e P50-F, sendo as P20-F com maior expressividade positiva, enquanto as P50 F na etapa O-J, mostrou-se sem uma alteração expressiva. Estes resultados das plantas de Rosa plotados durante a etapa O-J, são diferentes em vários aspectos dos resultados obtidos aos 30 DAF, sendo que as plantas de Rosa apresentavam conformidades fisiológicas inversas aos 150 dias, onde as não fertilizadas mostraram-se com curvas positivas aos 30 dias e aos 150 dias com curvas negativas ou com pouca expressividade, e as fertilizadas apresentavam-se com curvas negativas aos 30 DAF, e com curvas positivas aos 150 DAF.

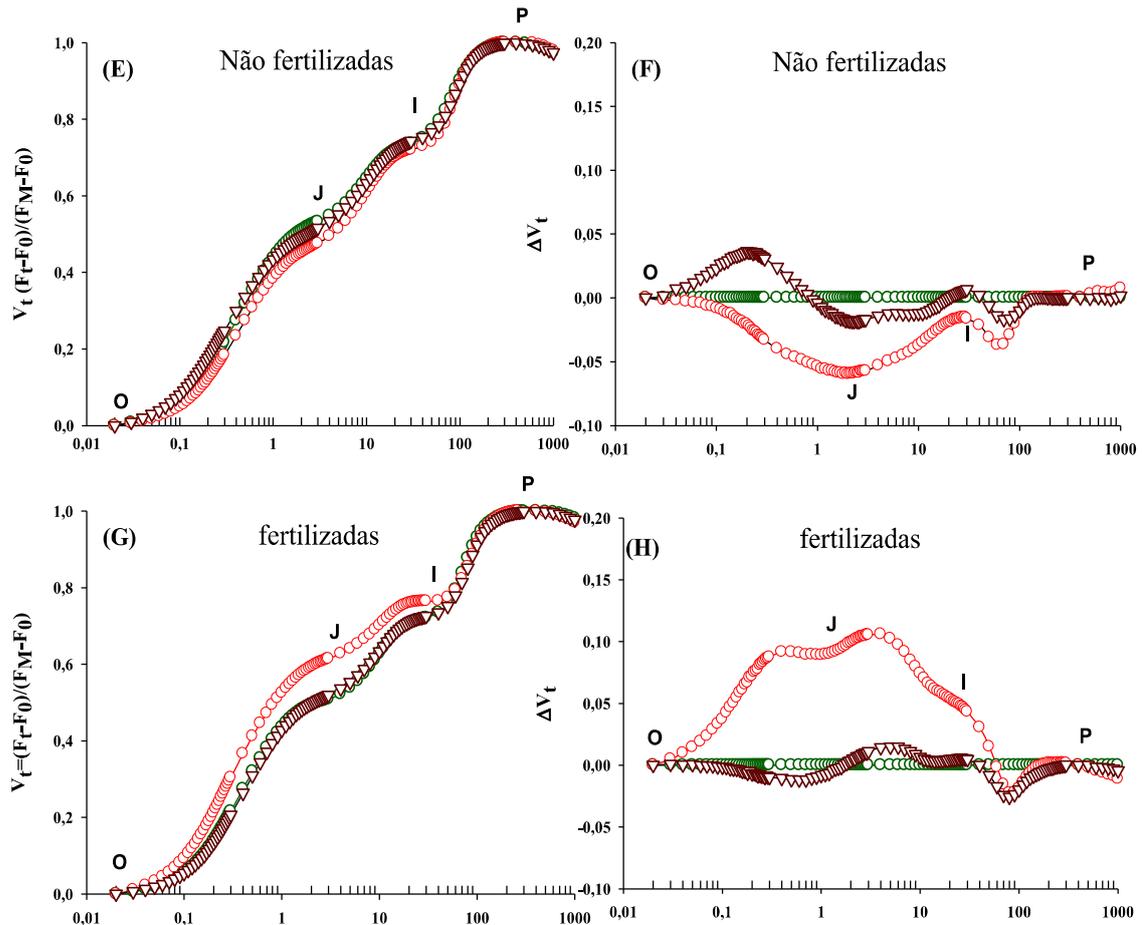


Figura 16: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 150 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar ROSA não fertilizada A e B, ROSA fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)

Ao verificar as curvas de indução plotadas no ΔV_T durante a etapa J-I, é observado que as ambas as plantas de Rosa N-Fert tiveram valores negativos, após a normalização, no entanto as plantas de R20-NF tiveram melhor desempenho nesta etapa. Nas plantas de Rosa Fert, R20-F se manteve com maior grau de amplitude positiva, e R50-F com valores positivos, porém com pouca magnitude.

As plantas de Rosa durante a etapa I-P tiveram comportamento parecido, tanto nas não fertilizadas, bem como nas fertilizadas, os valores obtidos por ambos os grupos de plantas mostram pouca ou nenhuma variação nessa etapa, o que pode se traduzir em uma normalidade fotoquímica em função do transporte de elétrons até o FSI.

Ao realizar a derivação destes transientes para os parâmetros calculados pelo teste JIP, observa-se diferentes comportamentos funcionais envolvendo as plantas de mangueira (figura 17). Alguns componentes relevantes para estimativa do desempenho

fisiológico das plantas variaram em expressão em função do grupo de plantas avaliadas. Aos 150 DAF, F_0 e F_M das plantas das cultivares de Palmer e Rosa não fertilizadas tiveram valores próximos com pouca distinção entre eles, independentemente das antigas concentrações de lama. Estes mesmos parâmetros nas plantas fertilizadas mostram que em F_0 os valores se sobrepuseram, e em F_M , P20-F e R20-F tiveram menor valor após a normalização.

Os parâmetros de rendimento e eficiência quântica nas plantas não fertilizadas mostraram diferentes variações, nas plantas de Palmer é possível observar inicialmente uma proximidade que sugere uma sobreposição dos valores de alguns parâmetros ligados a eficiência de transporte de elétrons (ΨE_0 e ϕE_0), de forma parecida as plantas de Rosa não fertilizadas tiveram sobreposição em alguns valores, no entanto, nota-se que houve uma pequena variação em R50-NF, que teve menor desempenho nestes parâmetros de eficiência. Ao avaliar as fertilizadas, a mesma uniformidade de atividade em ΨE_0 e ϕE_0 , somente nas plantas de P20-NF, houve maior atividade.

Os valores de ϕP_0 nas plantas de mangueira Palmer e Rosa não fertilizada e fertilizada, dos antigos tratamentos (0%, 20% e 50%), evidenciam uma sobreposição que indica uma situação de igualdade fotoquímica ligado ao FSII, para todas as plantas do experimento aos 150 DAF.

Levando em consideração os valores PI_{ABS} e PI_{TOTAL} , nota-se que as plantas N-Fert tiveram menores valores nestes índices, apenas R50-NF se sobressaiu com maior atividade nestes índices, especificamente nos valores de PI_{TOTAL} , dentre as plantas de ambas as cultivares. Em relação aos índices de desempenho nas plantas Fert, percebe-se que P20-F teve maior atividade em PI_{TOTAL} e em acréscimo paralelo os valores ΔR_0 , devido à interação entre estes parâmetros. Nas plantas de Rosa, é evidenciado que as plantas de R20-F e R50-F, obtiveram valores semelhantes tanto em PI_{TOTAL} com em δR_0 . Os valores de PI_{ABS} nas plantas N-Fert de Palmer sofreram poucas variações, e em Rosa Não fertilizada, R50-NF teve maior expressão. Nas fertilizadas, é demonstrado uma menor atividade em P50-F e maior em P20-F. Em Rosa fertilizada, R20-F apresentou menor atividade, e R50-F se sobrepôs com os valores de RC-F após a normalização.

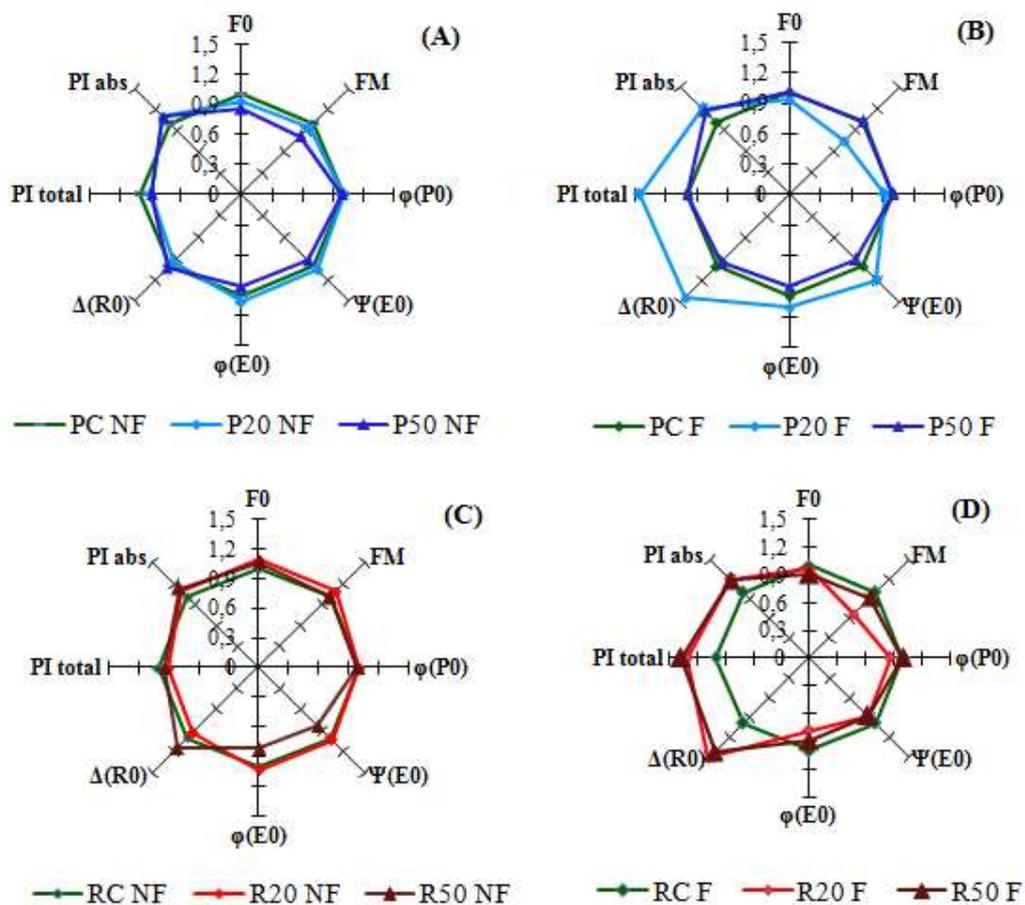


Figura 17. Parâmetros do Teste JIP, de duas cultivares de *Mangira indica* L., fertilizadas e N-Fert, Palmer (A e B) e Rosa (C e D) aos 150 dias após o início da fertilização. Utilizando como referência as plantas que foram produzidas em substrato contendo rejeitos de mineração (controle 0% = 1).

Próximo do fim do experimento, aos 300 dias após a fertilização (sendo fertilizadas até os 270 dias) é possível observar nas figuras 18 e 19 que as plantas das diferentes cultivares da mangueira Palmer (figura 18) e Rosa (figura 19) são mantinham fotossinteticamente ativas, com curvas de conformidade OJIP.

Após a normalização obtida pela diferença cinética entre os tratamentos e controles, evidenciando o ΔVT que indica algumas alterações e igualdades nos valores de acordo com cada cultivar analisada.

Nas plantas N-Fert de Palmer, P20-NF e P50-NF ambas se mostraram com amplitudes positivas, sendo P50-NF com maior expressão, cerca de 20% maior em relação à normalização, e P20-NF com menor indução, cerca de 5% em relação a normalização. Durante as etapas O-J-I, as plantas P20-NF e P50-NF persistiram com valores positivos, mas ao chegar à etapa entre I-P, tiveram valores negativos, porém de pouca relevância, próximos dos valores de normalização.

Dentro ainda das plantas de Palmer, as fertilizadas assumiram comportamento diferente aos 300 DAF, com curvas negativas ou sobrepondo as plantas de PC-F que foram normalizadas, evidenciando melhor desempenho e/ou estabilidade fotoquímica. As plantas de P50-F mostraram maior amplitude negativa, e as P20-F tiveram variações, mas se concentravam na estabilidade, próximos aos valores do controle. Durante os diferentes passos O-J-I-P, é observado que nas etapas O-J-I as plantas de P50-F seguiram negativas, apenas em I-P se sobrepôs aos valores do controle.

As plantas de Rosa aos 300 DAF (figura 19) mostram em suas curvas OJIP uma semelhança no comportamento fotoquímico, Ao analisar as curvas por meio do ΔV_T , é facilmente identificada uma homogeneidade, tanto em curvas positivas nas não-fertilizadas quanto em curvas negativas nas fertilizadas. Não tendo uma diferença nas plantas em função dos antigos tratamentos com lama residual do Rio Doce, mas sim, pela condição de fertilização, ou seja, com e sem o fertilizante.

O ΔV_T das plantas de Rosa não fertilizada mostra que durante a etapa inicial (O-J) as plantas de R20-NF e R50-NF se sobrepuseram de forma equilibrada com os valores obtidos pelas plantas do controle. Na etapa J-I, o comportamento de ambos os grupos se manteve com similitude, entretanto, diferente da etapa inicial, os valores foram positivos.

Durante a etapa I-P o mesmo padrão de pareamento de valores foi observado, mas com menor amplitude. Em proporção oposta, as plantas de Rosa fertilizadas demonstraram maior aproveitamento fotoquímico propriamente dito, devido a sua magnitude negativa durante as etapas O-J-I, indicando uma maior eficiência do fluxo energético ao longo dos transportadores de elétrons, as plantas também seguiram o padrão de similitude em valores, apenas durante a etapa I-P tiveram valores positivos, mas com curvas positivas menos pronunciadas.

O teste JIP calculado a partir dos transientes OJIP de 300 DAF, novamente mostrou diferentes desempenhos das plantas analisadas. Apesar de alguns parâmetros apresentarem valores próximos ou sobrepostos, como visto nos períodos anteriores 30 e 150 DAF, observa-se que as plantas assumiram comportamentos irregulares, inicialmente não se observa um padrão ou uma tendência fisiológica aos 300 DAF (figura 20).

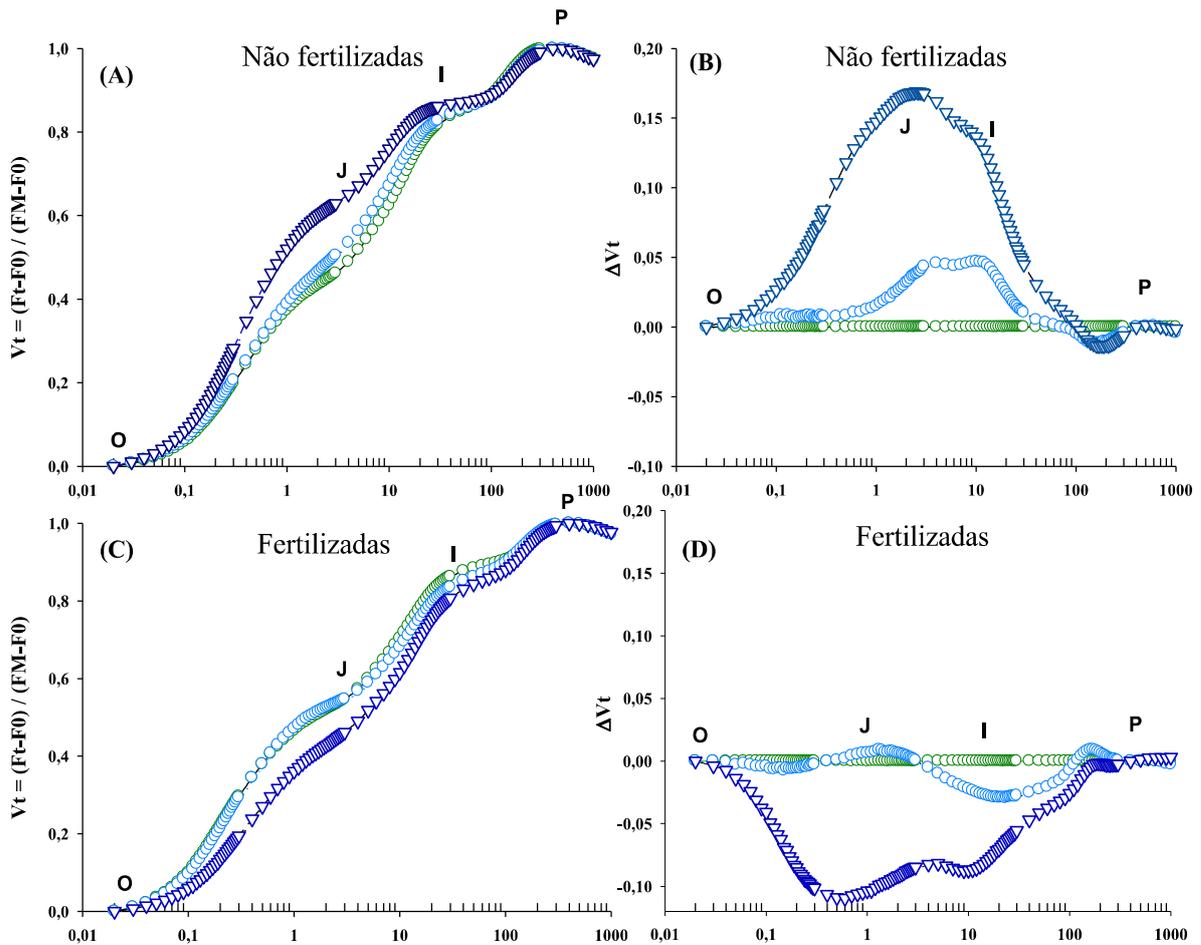


Figura 18: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 300 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar PALMER não fertilizada A e B, PALMER fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)

Em todas as plantas com e sem fertilização de Palmer e Rosa, tiveram valores de F_0 que se mantiveram próximos e conexos, sem nenhum grupo de plantas se excederem mais que outro. Os valores de F_M nas plantas de Palmer (Fert e N-fert) persistiram com a tendência que foi observada em F_0 , onde os valores eram próximos ou iguais, sem nenhum dos grupos analisados com maior atividade de F_M , independentemente se eram fertilizadas ou N-Fert. Contudo, os valores de F_M nas plantas de Rosa mostram pequena distinção dos grupos analisados, R20-NF e R50-NF (figura 20-C) tiveram menores valores após a normalização, nas fertilizadas os valores de F_M , R50-F teve menor valor, porem pouco expressivo, R20-F obteve valores sobrepostos aos das plantas controle após a normalização.

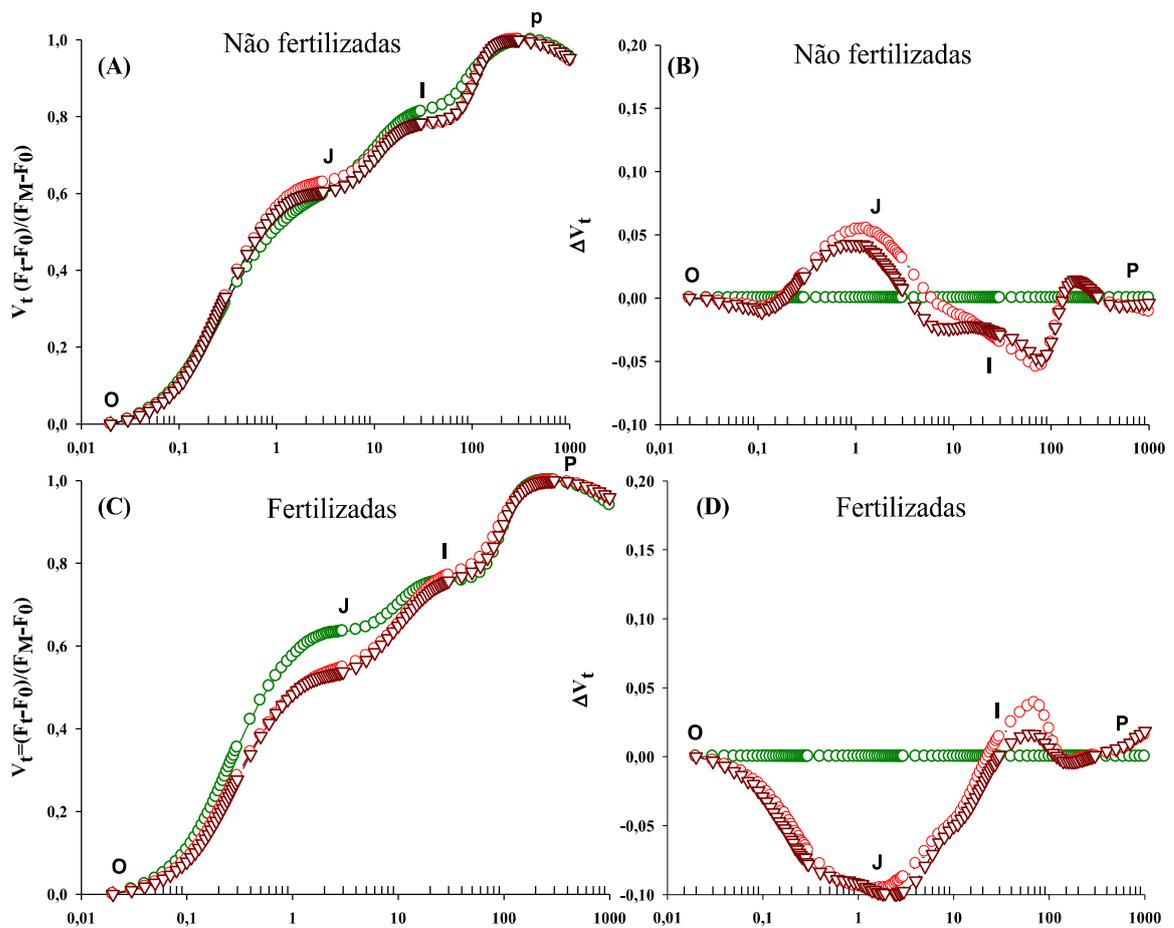


Figura 19: Curvas de indução da fluorescência variável da clorofila *a* e as diferenças cinéticas normalizadas ($\Delta WOP = WOP(\text{tratamento}) - WOP(\text{controle})$) aos 300 DAF seguindo os antigos tratamentos (0%, 20% e 50% de rejeitos de mineração) as diferentes condições de cultivo (com e sem fertilizante) da cultivar ROSA não fertilizada A e B, ROSA fertilizada C e D, aos 30 dias. O tempo está representado em escala logarítmica (ms). (n=5)

Aos 300 DAF, ΨE_0 e ϕE_0 em grande parte das plantas analisadas observam-se pouca ou nenhuma variação em seus valores em relação às plantas controle, apenas R20-NF e R20-F tiveram maiores valores, porém com pouca expressividade.

Com relação ao rendimento quântico do FSII (ϕP_0) aos 300 DAF, o mesmo modelo foi observado aos 30 e 150 DAF, no qual não fica evidenciado qual grupo de plantas obteve maior atividade de valores, gerando sobreposição, que demonstra diretamente, sob uma perspectiva fisiológica, que as plantas neste estudo estavam em equilíbrio fotoquímico.

Os valores de ΔR_0 das plantas aos 300 DAF, diferentemente dos padrões que foram observados aos 30 e 150 DAF, não tiveram muitas variações. Nas plantas de Palmer, P20-NF e P50-NF tiveram menores valores, enquanto P20-F e P50-F

sobrepuseram os valores das plantas controle após a normalização. As plantas de Rosa por sua vez, mostraram valores similares entre os grupos de plantas, as R20-NF e R50-NF tiveram menores valores, mas as fertilizadas R20-F e R50-F, tiveram sobreposição de valores. Os índices de desempenho PI_{ABS} e PI_{TOTAL} como observados aos 30 e 150 DAF, mostraram variação no desempenho, a mesma variação de atividade foi observada aos 300 DAF. PI_{ABS} nas plantas de Palmer fertilizadas tiveram valores similares. PI_{TOTAL} teve maior expressividade em ambos os grupos das plantas fertilizadas.

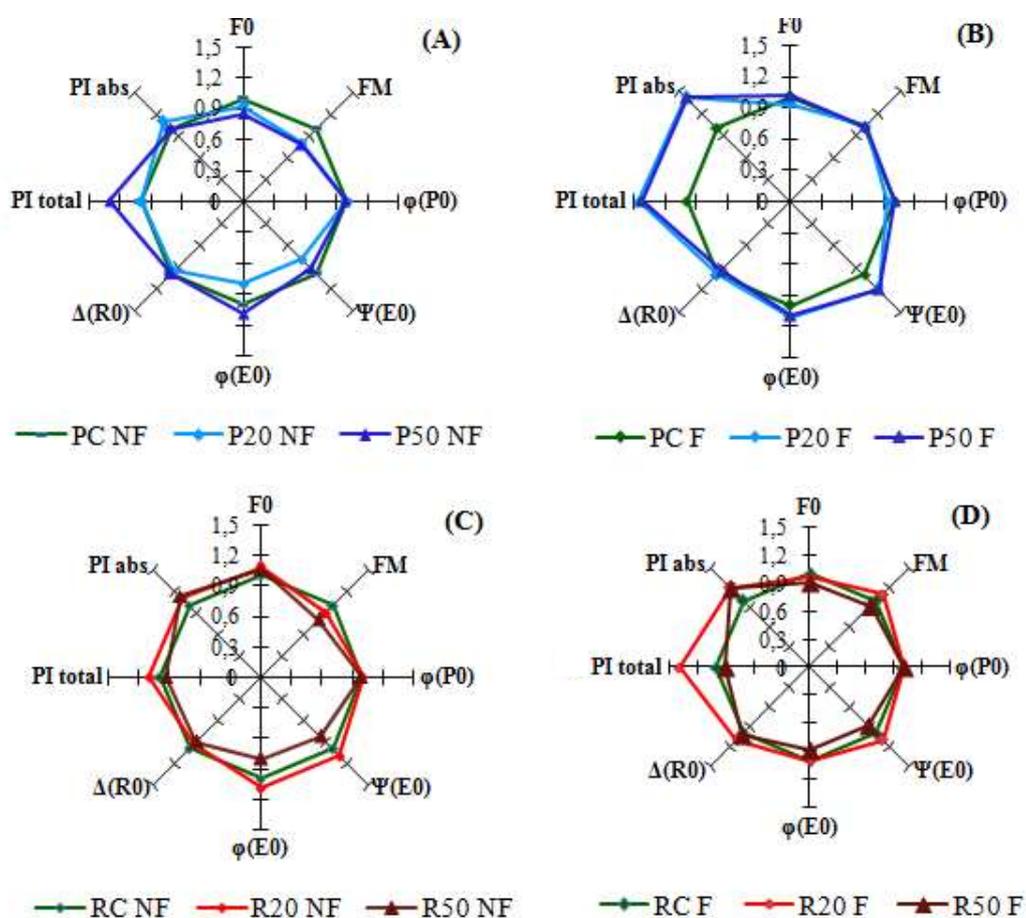


Figura 20. Parâmetros do Teste JIP, de duas cultivares de *Mangira indica* L., fertilizadas e N-Fert, Palmer (A e B) e Rosa (C e D) aos 300 dias após o início da fertilização. Utilizando como referência as plantas que foram produzidas em substrato contendo rejeitos de mineração (controle 0% = 1).

Ao calcular os parâmetros ligados aos fluxos energéticos específicos por centro de reação (RC) durante a condução do experimento, é notada inicialmente uma tendência fotoquímica de acordo com as condições de fertilização que foram aplicadas

para o cultivo das mangueiras Palmer e Rosa, resumindo-se então, que os antigos tratamentos com diferentes concentrações de lama no substrato não causaram variações expressivas na dinâmica energética das plantas, mas sim, as condições com e sem fertilizante. Neste trabalho optou-se por expressar os valores de ABS/RC (fluxo de absorção), DI_0/RC (fluxo de dissipação), ET_0/RC (Fluxo de transporte) e TR_0/RC (Fluxo de captura) em porcentagem, referente aos valores encontrados nas plantas avaliadas, Palmer (Figura 21) e Rosa (Figura 22).

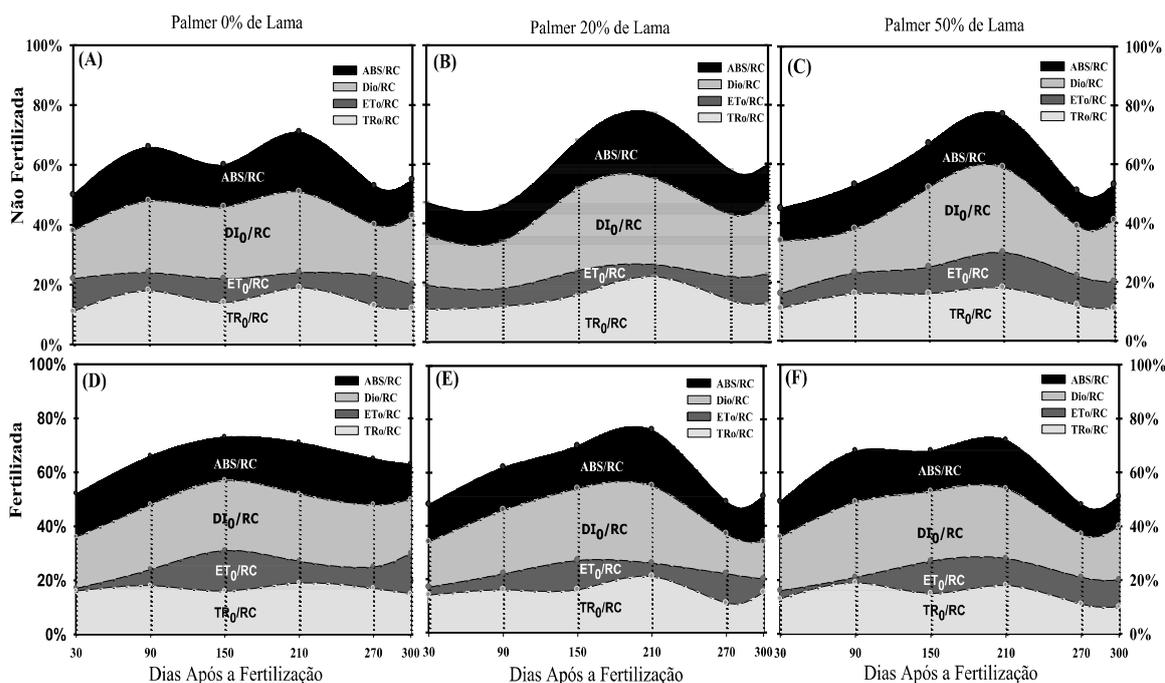


Figura 21: fluxos energéticos expressos por centro de reação do FSII das plantas de Palmer em condições de campo, após o estresse causado pela produção em diferentes concentrações de rejeitos de mineração 0% (A e D) 20% (B e E) e 50% (C e F) sobre duas condições de fertilização (N-Fert e Fertilizadas). Expresso em %. (n=5)

As plantas de Palmer N-Fert (21-A, B e C), ao longo do experimento aumentaram e diminuíram a atividade de alguns parâmetros, com similitude em alguns períodos. Nestas plantas os valores de ABS/RC tiveram acréscimos aos longos dos 300 dias, mas quando comparados os valores das medidas iniciais (30 DAF) com as medidas Finais (300 DAF), é observada pouca alteração. No entanto, as mangueiras, tiveram seus picos de absorção entre 150 e 210 DAF, apenas PC-NF tiveram dois períodos de valores parecidos e superiores aos demais, sendo aos 90 e 210 DAF. Este mesmo parâmetro nas plantas de Palmer com fertilizante (21 – D, E e F), foi encontrado com valores próximos aos das plantas N-Fert, apesar do aumento, apresentaram visualmente poucas variações no decorrer do experimento. Todas as plantas de Palmer aos 270 DAF tiveram uma queda em seus valores de ABS/RC.

Em semelhança com as variações de ABS/RC, os valores de DI_0/RC evidenciaram uma tendência vinculada aos valores de Absorção, o que pode ser retratado como um mecanismo de proteção contra danos fotoinibitórios, onde grande parte da energia absorvida é dissipada na forma de calor ou fluorescência. Em P20-NF e P50-NF houve um maior aumento de área de dissipação da energia absorvida de 30 aos 210 DAF, sendo um aumento de 13% nas PC-NF, 19% para P20-NF e de 25% para P50-NF, nas fertilizadas, o mesmo comportamento de acréscimo foi registrado, porém de forma inversa, ou seja, as plantas controle tiveram maior porcentagem de energia dissipada e as plantas que passaram por maior pelo estresse com maior concentração de lama (50%) demonstraram menores taxas de dissipação, neste intervalo de dias, sendo apresentado um acréscimo respectivo de 25% para PC-F, 21% para P20-F e de 17% para P50-F. Aos 270 DAF em paralelo com os valores de absorção, DI_0/RC teve uma diminuição em todas as plantas seguida de um leve aumento aos 300 DAF.

Os valores de TR_0/RC nas plantas de Palmer também foram influenciados pelos valores de absorção, apesar das pequenas oscilações nos valores de TR_0/RC , em algumas plantas foram identificados comportamentos de captura correspondente ao fluxo de energia absorvido, como encontrado nas P20-NF e P50-NF, em que os picos de ABS/RC tiveram maior expressão aos 210 DAF e correspondentemente os picos de TR_0/RC tiveram maiores valores aos 210 DAF. Os valores de TR_0/RC nas plantas fertilizadas tiveram poucas oscilações, entre as medidas iniciais a as medidas finais, respectivamente de 30 DAF e 300 DAF, pode-se verificar uma pequena variação, de 1% em PC-F e P20-F e de 3% em P50-F.

Sobre os valores ET_0/RC que remetem diretamente o fluxo de energia transportado ao longo da CTE, é possível observar que o aproveitamento da energia se deu de forma crescente ao decorrer dos meses avaliados, mas em parença com os demais parâmetros de fluxos de energia, os valores de ET_0/RC não tiveram modificações relevantes entre o início e fim do experimento. Dentre as N-Fert, somente PC-NF se manteve sem alternâncias consideráveis em sua atividade, com curtas oscilações entre 90 e 210 dias, as demais plantas, P20-NF e P50-NF iniciaram respectivamente com cerca de 20% e 16% de energia aproveitada e transportada e no fim do experimento, 300 DAF, com 23% e 20%. Nas fertilizadas, PC-F, dentre as plantas de Palmer, foi o único grupo com acréscimo de 13% em função dos 30 DAF até

Os 300 DAF, se mostrando o grupo de plantas com maior taxa de fluxos exegéticos transportado, por outro lado, P20-F e P50-F próximos ao fim do experimento, 270 e 300 DAF, foram evidenciando valores próximos entre elas, sendo que aos 300 DAF aproximadamente 20% de energia absorvida era transportada em ambos os grupos igualmente, seguindo o mesmo padrão observado nas P20-NF e P50-NF, no qual, à medida que o experimento avançava ao decorrer dos meses, as plantas encaminhavam-se para sua homogeneidade fisiológica, neste caso, homogeneidade fotoquímica por centro de reação.

Em conformidade com os modelos de fluxos energéticos observados nas plantas de Palmer, em Rosa (figura 22) não foi observado padrões muito distintos, do que já foram descritos em Palmer anteriormente. As plantas de Rosa utilizadas neste estudo em geral estavam fotoquimicamente parecidas, sem variações expressivas, e com oscilações curtas entre os intervalos de dias após a fertilização.

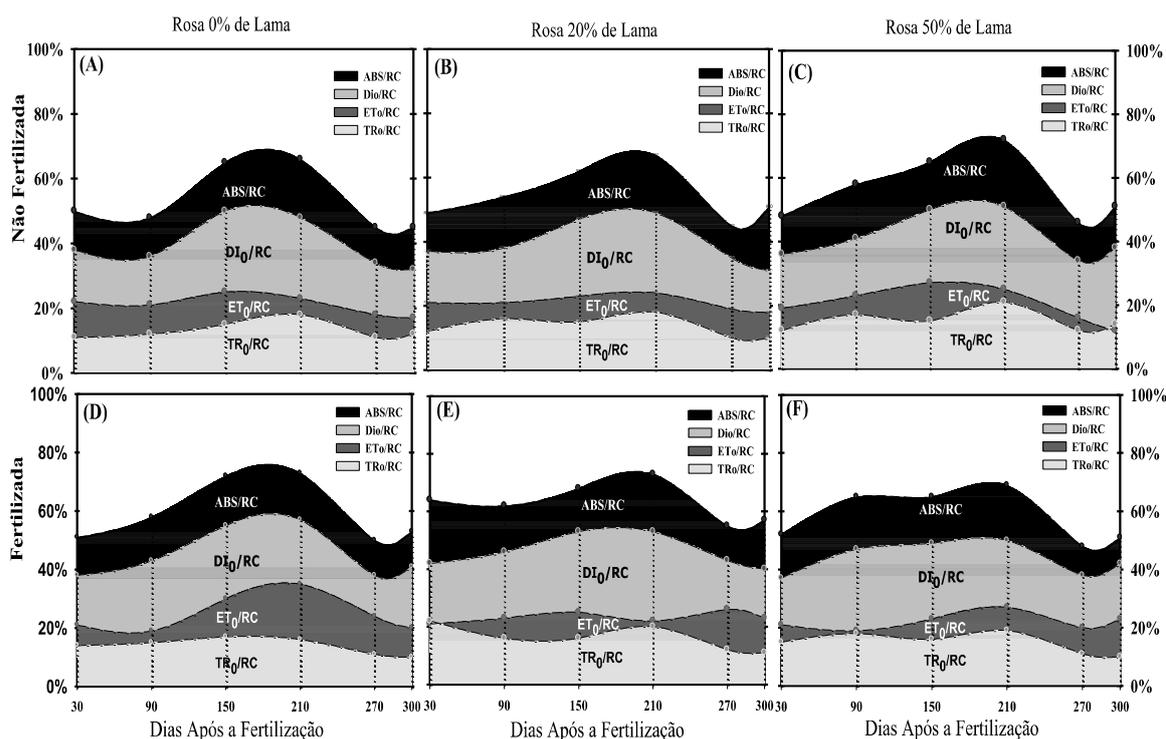


Figura 20: fluxos energéticos expressos por centro de reação do FSII das plantas de Rosa em condições de campo, após o estresse causado pela produção em diferentes concentrações de rejeitos de mineração 0% (A e D) 20% (B e E) e 50% (C e F) sobre duas condições de fertilização (N-Fert e Fertilizadas). Expresso em %. (n=5)

ABS/RC nas plantas de Rosa N-Fert (22- A, B e C) e fertilizadas (22- D, E e F) tiveram maiores valores aos 210 DAF, com aumento exponencial entre os 30 até os 210 DAF, sendo de 16% em RC-NF, 18% em R20-NF e 24% em R50-NF. Nas plantas

Fertilizadas de Rosa, foi registrado novamente em aspectos energéticos inversos, como já vistos em Palmer Fertilizadas, onde foi observada uma redução nos valores de ABS/RC nas plantas que passaram pelo estresse causado pela lama residual, com 22% em RC-F e 17% em R50-F. Em uma exceção R20-F, teve apenas 9% de acréscimo, devido à similaridade energética entre os 30 DAF e 210 DAF. Entre 210 e 270 DAF, todos os grupos experimentais tiveram reduções em seus valores, seguindo de recuperação aos 300 DAF.

As atividades em DI_0/RC podem ser interligadas aos valores que são evidenciados nos processos de absorção de energia por centro de reação (ABS/RC). Podendo-se atribuir o DI_0/RC como um possível reflexo circunstancial do ABS/RC, que pode ter efeitos positivos ou negativos. Nas plantas de Rosa houve um aumento na área (%) dissipativa, tendo em vista maior magnitude aos 210 DAF, consequentemente junto aos picos de maior absorção. Em RC-NF entre aos 30 e 210 DAF teve um aumento gradativo de 10%, de mais N-Fert, cerca de 12% e 15%, R20-NF e R50-NF respectivamente, seguindo a mesma tendência onde aos 270 DAF tiveram redução da área de dissipação. DI_0/RC nas fertilizadas, só tiveram aumento gradativo nas plantas de RC-F entre os 30 e 210 DAF, em R20-F e R50-F houve uma constante destes valores, com diferenças pouco expressivas.

As oscilações presentes nos valores relacionados ao fluxo de captura de energia, TR_0/RC , mostram diferentes desempenhos em função dos grupos experimentais, apesar de serem curtas entre os intervalos de avaliação, estas oscilações demonstram diferentes padrões que podem influenciar no aproveitamento direto da energia absorvida. Em RC NF, teve atividade constante com variação aos 210 DAF, em R20-NF e R50-NF também se manteve com leves alterações, seguida de uma redução aos 270 DAF. Nas fertilizadas, RC-NF dos 30 aos 210 DAF se manteve continua, com reduções em seus valores próximos ao fim do experimento. R20-F e R50-F foram os grupos com variações mais acentuadas nos valores de TR_0/RC , na qual R20-F inicialmente estavam capturando 15%, e aos 300 DAF estavam capturando aproximadamente 10%, e R50-F seguiu a mesma tendência, onde iniciou com valores superiores aos que foram registrados ao final do experimento com redução de 6,5% nos valores de TR_0/RC .

A atividade específica de transporte por centro de reação do FSII que é quantificada por meio do ET_0/RC pode ser traduzida fisiologicamente, juntamente com o TR_0/RC , sendo parâmetros dos fluxos energéticos ligados aos processos de aproveitamento da energia pelo processo fotoquímico. É observado que RC-NF, R20-

NF e R50-NF tiveram reduções em seus valores à medida que o experimento seguia com diferença negativa entre 30 e 300 DAF de 5%, 3% e 7%. Em contrapartida, as plantas de Rosa Fert mostraram maior aptidão no transporte, os valores de ET_0/RC corroboraram com os registros anteriores (JIP e OJIP). RC-F obteve a maior expressão da atividade de ET_0/RC ao decorrer do experimento, com aumento de 12%, as demais P20-F e P50-F sofreram oscilações, no entanto, seguiram em constante atividade até as medidas finais.

6.3. Trocas gasosas

Os resultados das análises de trocas gasosas das plantas de Palmer e Rosa, estão presentes nas figuras 23 (Palmer) e 24 (Rosa). As taxas fotossintéticas obtidas neste experimento permitiram a visualização da possível influência do fertilizante. Da mesma forma que é visualizada ação do fertilizante através dos parâmetros de trocas gasosas, estes mesmos parâmetros permitem identificar os diferentes desempenhos fisiológicos em função dos antigos tratamentos.

Em Palmer, ao avaliar a taxa de assimilação líquida (A) (figura 23- A e B) observa-se diferentes modelos fisiológicos aos longos dos dias após a fertilização. Inicialmente houve uma crescente nos valores deste parâmetro, o que pode retratar uma recuperação ao longo do tempo. Ao calcular as diferenças entre as medidas iniciais (30 DAF) e medidas finais (300 DAF), nota-se que as N-Fert PC-NF, P20-NF e P50-NF tiveram diferenças expressivas. Entre os 30 DAF e 300 DAF foi registrado nas PC-NF um acréscimo de 100%, (7 a $14 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), em P20-NF acréscimo de 140% (5 a $12 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e nas P50-NF com 175% de acréscimo (4 a $12 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), este aumento nos valores de A nas plantas N-Fert ocorreu ao longo do tempo, em crescimento exponencial. Ao analisar a taxa de assimilação líquida nas plantas fertilizadas, PC-F, P20-F e P50-F constata-se que o fertilizante teve influência direta nesta taxa, levando alguns grupos de plantas a darem um salto nos valores de A aos 90 DAF, o que se difere, das N Fert, onde os maiores valores só foram atingidos aos 300 DAF. Neste curto intervalo dos 30 DAF até os 90 DAF foram registrados acréscimos de 120% em PC-F (5 a $11 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), de 180% em P20-F (5 a $14 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), e de 86% em P50-F (7 a $13 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), diferentemente da tendência observadas nas N-Fert, onde se teve estabilidade em uma crescente regular, as plantas de Palmer Fert tiveram oscilações ao decorrer do experimento, sendo estas pouco expressivas, e

não comprometeram os valores finais da *A*. PC-F e P50-F tiveram comportamento parecidos próximos ao fim dos experimentos, apenas P20-F teve redução de seus valores a partir dos 90 DAF até os 300 DAF, com redução de 14 a 8,5 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Os valores de condutância estomática (*g_s*) mostram que inicialmente ambos os grupos de Palmer, N-Fert (C) e fertilizadas (D) estavam com valores parecidos, mas à medida que avançava o tempo de experimento estes valores sofriam variações, entretanto, essas variações ocorriam com similaridade entre as plantas, presumindo-se que as antigas concentrações de lama não tiveram influência neste parâmetro, a partir do momento que estas plantas foram cultivadas em condições de campo. Ao avaliar individualmente o *g_s* nas plantas N-Fert, apenas P20-NF teve um acréscimo considerável aos 150 DAF, mas posteriormente, aos 210 DAF estes valores tiveram uma redução, aproximando dos valores registrados nas demais plantas, que seguiram com valores iguais ou próximos durante a condução do experimento. Nas fertilizadas é possível identificar um aumento nos valores de *g_s* nas plantas de P20-F e P50-F aos 90 DAF, mas após esse período estes valores reduziram, seguindo com similitude as PC-F nos demais dias após a fertilização.

Com relação aos valores registrados na taxa de transpiração (*E*) percebem-se duas representações distintas deste parâmetro, que se distinguem entre as N-Fert e Fert. Nas N-Fert, PC-NF e P20-NF aos 30 DAF tiveram valores próximos de 3 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ seguidos de redução em seus valores. Em exceção, P50-NF iniciou com valores de *E* próximos de 1,8 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, abaixo das demais, e se manteve com pequenas oscilações. Apesar das contínuas reduções nos valores de *E*, aos 300 DAF é possível observar uma recuperação similar entre as plantas de Palmer N-Fert. Em relação, às fertilizadas, iniciaram com valores abaixo de 2 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, e aos 300 DAF com valores próximos de 2,5 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

A eficiência no uso da água (*A/E*) nas plantas Não-Fert tiveram proximidades de valores, que seguiram uma tendência crescente dos 30 aos 150 DAF, mas aos 210 e 270 DAF tiveram reduções, nos quais os valores registrados se assemelhavam aos valores obtidos aos 30 DAF. Aos 90 DAF, as plantas P20-F e P50-F tiveram maiores valores neste período, entretanto, similarmente as N-Fert, os valores com o passar do tempo foram se aproximando, predizendo uma condição homogênea para todos os grupos de plantas.

Ao avaliar as taxas de *A* nota-se uma dessemelhança entre as plantas de Rosa Não Fert. No início do experimento estavam com valores sobrepostos, e posteriormente

as plantas que passaram pelo estresse causado pela lama residual tiveram valores maiores do que as plantas do antigo controle. Apesar desta variação, as plantas RC-NF e R20-NF, tiveram reduções, e apenas R50-NF teve acréscimos entre os 30 e 300 DAF, com reduções de 33% em PC-NF, 11% em P20 NF, e um acréscimo de 55% em R50-NF. Os valores de A nas plantas fertilizadas mostram que aos 30 DAF, RC, R20 e R50 fertilizadas concentravam sua taxa de assimilação líquida, entre 4 e 8 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$. E partir dos 90 DAF, teve acréscimos nos valores de 72% em RC-F, 100% em R20-F e de 115% em R50-F.

A condutância estomática (g_s) nas plantas de Rosa mostra uma tendência parecida entre os grupos, com poucas variações e até sobreposições em alguns períodos. Em R20 e R50 (NF) dos 30 aos 150 DAF houve pequenas variações entre as plantas, somente aos 210 DAF ocorreu sobreposição destes valores, que seguiram similares até os 300 DAF. As fertilizadas RC, R20 e R50, tiveram valores semelhantes ao longo do experimento, e assim como nas N-Fert, ocorreu sobreposição aos 210 DAF, que seguiu até os 300 DAF.

Os valores de E na variedade Rosa não tiveram diferenças expressivas entre as plantas. As N-Fert entre os 30 e 300 DAF tiveram semelhança, apenas RC-NF tiveram valores superiores aos 300 DAF. Nas fertilizadas as plantas nas medidas iniciais (30 DAF) apresentavam valores próximos dos 3,5 $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, seguido com reduções ao decorrer dos meses até as medidas finais (300 DAF).

Com relação à eficiência no uso da água (A/E) nota-se que as plantas de Rosa tiveram comportamentos diferentes. Nas N-Fert entre os 30 e 300 DAF ocorreram reduções em RC-NF e R20-NF de respectivamente 30% e 41% e acréscimo de 50% em R50-NF. As fertilizadas tiveram maior eficiência aos 90 DAF, com redução ao decorrer do experimento, com valores parecidos e sobrepostos aos 300 DAF.

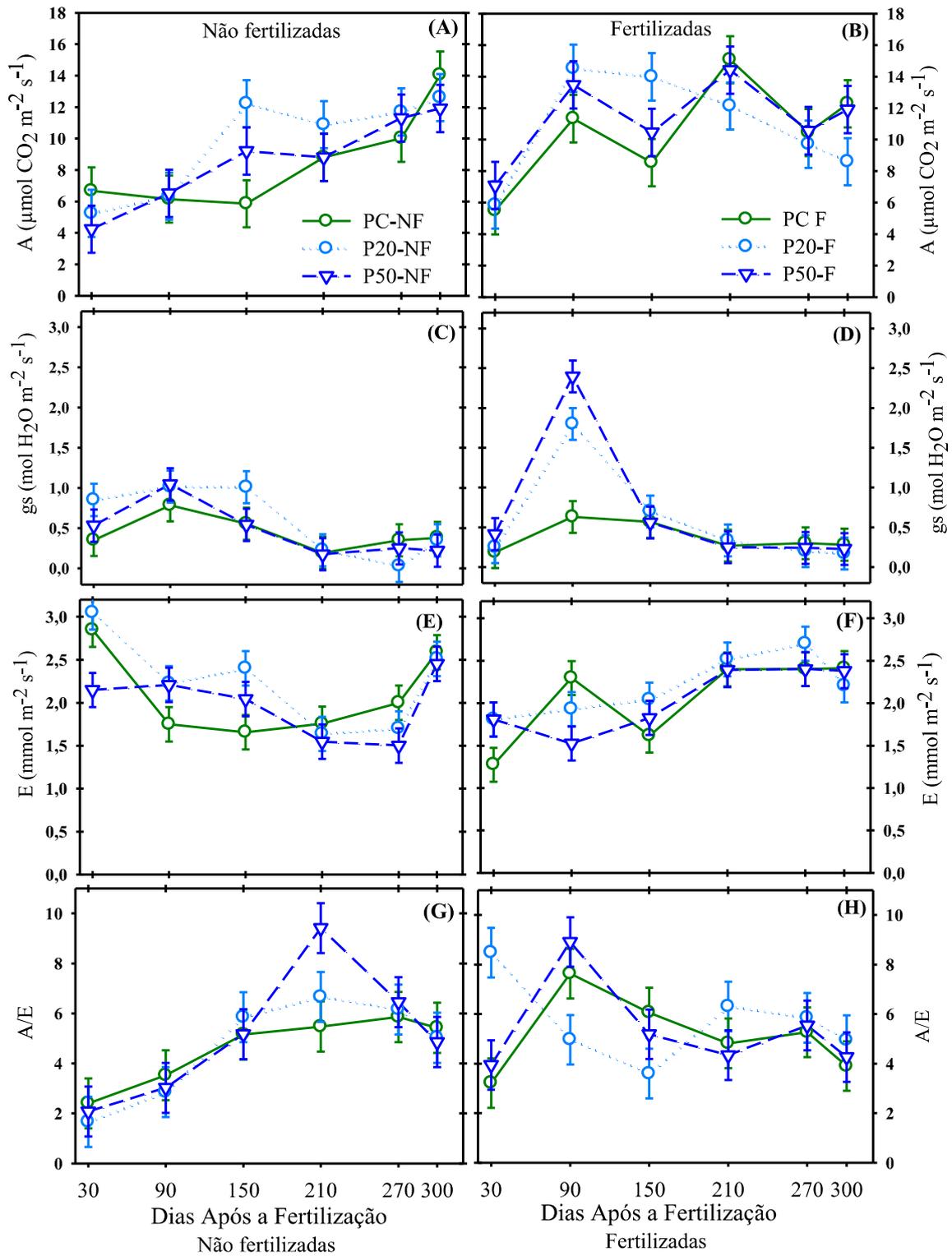


Figura 23: Trocas gasosas em plantas de Palmer em condições de campo, após o estresse causado por diferentes concentrações de rejeitos de mineração (0%, 20% e 50%) sobre duas condições de fertilização (N-Fert e Fertilizadas). A e B – Taxa Assimilação Líquida (A), C e D – Condutância estomática (gs), E F – Transpiração (E) e G e H – Eficiência no uso da água (A/E). Os valores são médias (n=5)

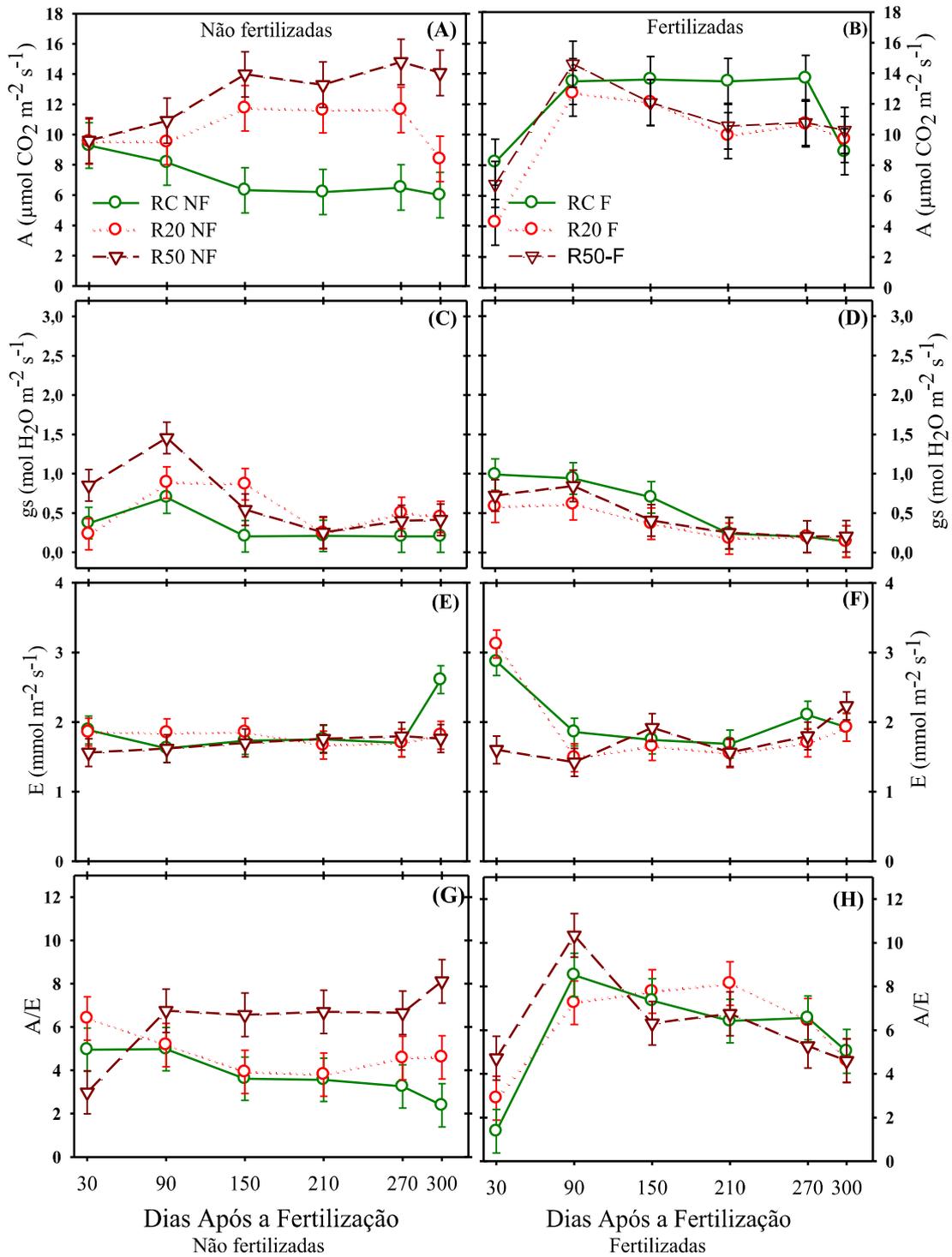


Figura 24: Trocas gasosas em plantas de Palmer em condições de campo, após o estresse causado por diferentes concentrações de rejeitos de mineração (0%, 20% e 50%) sobre duas condições de fertilização (N-Fert e Fertilizadas). A e B – Taxa Assimilação Líquida (A), C e D – Condutância estomática (gs), E e F – Transpiração (E) e G e H – Eficiência no uso da água (A/E). Os valores são médias (n=5)

6.4. Carboidratos Solúveis e Amido

As concentrações de Carboidratos totais solúveis (AST), Sacarose (SAC) e Amido (AMI) estão descritos nas Tabelas 8 e 9. São observados que os valores não tiveram diferenças estatísticas ($p>0,05$) em função das antigas concentrações de lama do Rio Doce (0%, 20% e 50%), mas apresentaram diferenças significativas quando o mesmo tratamento foi comparado nos diferentes períodos de análise, ao decorrer do experimento, de 30, 150 e 300 dias após a fertilização.

As concentrações de AST nas folhas das cultivares Palmer e Rosa variaram entre as condições de cultivo. Nas folhas de Palmer, houve um acréscimo significativo ao longo do experimento, no qual aos 30 DAF, os teores de AST eram menores que os encontrados em 300 DAF. PC-NF e P20-NF dobraram a concentração próxima ao fim do experimento. As fertilizadas tiveram maior concentração de AST quando comparadas com os valores das N-Fert, entretanto seguiram a mesma tendência de acréscimo, porém, de menor expressividade, mas com diferença significativa ($p>0,05$), com exceção das plantas de PC-NF e P20-NF, que não tiveram diferenças significativas aos 150 e 300 DAF. As plantas de Rosa em contrapartida, mostraram concentrações mais homogêneas, sendo que aos 30 DAF tiveram valores próximos e sem significância estatística. Aos 150 e 300 DAF as plantas aumentaram a concentração de AST nas folhas, mas em grande parte das plantas de Rosa analisadas tiveram valores sem diferença estatística ($p>0,05$) entre os 150 e 300 DAF, com ou sem o fertilizante.

Nos teores de SAC observa-se uma tendência de redução nos teores de sacarose foliar à medida que o experimento seguia, resumindo-se, que as maiores concentrações de sacarose em todas as plantas foram obtidas aos 30 DAF e os menores aos 150 e 300 DAF consecutivamente. Em Palmer N-Fert, houve reduções entre os 30 e 300 DAF, de 40% em PC-NF, 30% em P20-NF e 35% em P50-NF. Nas fertilizadas também ocorreram reduções similares, de 38% em PC-F, 30% em P20-NF e 40% em P50-NF. Nas plantas de Rosa notam-se também uma redução, porém de menor expressividade, com reduções de 17% em RC-NF, 32% em R20-NF e de 25% em R50-NF, nas fertilizadas, reduções de cerca de 40% em RC-F, 35% em R20-F e de 40% nas plantas de R50-F

Tabela 8: Carboidratos nas folhas das cultivares Palmer aos 30, 150 e 300 dias após a fertilização (DAF) com e sem fertilização. Plantas que na fase de muda se desenvolveram em diferentes concentrações de rejeitos de mineração (0%, 20% e 50%) (AST) – Carboidratos Solúveis Totais, (SAC) – Sacarose, (AMI) – Amido

Variáveis	DAF	Palmer Não Fertilizada			Palmer Fertilizada		
		PC	P20	P50	PC	P20	P50
AST (mg g ⁻¹ MS)	30	26,0Ca	26,9 Ca	25,8 Ca	30,7 Ba	31,9 Ba	32,4 Ba
	150	43,8 Ba	43,7 Ba	54,1 Aa	55,1 Aa	34,6 Bb	50,8 Aa
	300	55,5 Aa	54,8 Aa	56,0 Aa	53,4 Aa	55,8 Aa	52,4 Aa
SAC (mg g ⁻¹ MS)	30	29,7 Aa	23,7 Aa	22,8 Aa	26,4 Aa	27,8 Aa	26,8 Aa
	150	18,4 Ba	16,9 Ba	17,8 Ba	20,3 Ba	21,2 Ba	22,3 Ab
	300	17,9 Ba	16,7 Ba	15,6 Ba	16,4 Ca	17,8 Ca	15,6 Ca
AMI (mg g ⁻¹ MS)	30	21,4 Ba	18,7 Cb	19,5 Ba	27,8 Aa	26,7 Aa	28,7 Aa
	150	23,2 Ba	26,4 Ba	25,0 Ba	32,4 Aa	30,4 Aa	31,8 Aa
	300	32,0 Aa	32,5 Aa	33,4 Aa	30,1 Aa	32,8 Aa	32,4 Aa

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p>0,05$). Letras maiúsculas na coluna comparam o mesmo tratamento dentro do fator período de análise (30, 150 e 300 DAF), e letras minúsculas na linha comparam os tratamentos entre as antigas concentrações de lama do Rio Doce (0%, 20% e 50%)

Com relação aos teores de amido (AMI) nas folhas das mangueiras, é identificado um comportamento inversamente proporcional aos teores de sacarose, onde temos um acréscimo significativo entre os 30 e 300 DAF. Em PC-NF teve aumento de 50%, com significância estatística ($p>0,05$), nas demais plantas N-Fert, P20-NF e P50-NF, aumentaram igualmente cerca de 80% nos teores de AMI. As plantas de Palmer Fertilizadas se mantiveram equilibradas, com poucas diferenças de acréscimo entre os 30 e 300 DAF, em todos os períodos experimentais avaliados as plantas não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$). A concentração do mesmo carboidrato nas folhas da cultivar Rosa evidencia um diferente panorama fisiológico envolvendo o amido. Nas plantas N-Fert, ocorreram variações nos diferentes períodos amostrados, RC-F, R20-F e R50-F aumentaram entre os 30 a 300 DAF, respectivamente 19%, 17% e 14%. Assim como nas plantas de Palmer, as fertilizadas em Rosa não mostraram diferenças significativas em função dos diferentes períodos experimentais e as antigas concentrações de lama.

Tabela 9: Carboidratos nas folhas das cultivares Rosa aos 30, 150 e 300 dias após a fertilização (DAF) com e sem fertilização. Plantas que na fase de muda se desenvolveram em diferentes concentrações de rejeitos de mineração (0%, 20% e 50%) (AST) – Carboidratos Solúveis Totais, (SAC) – Sacarose, (AMI) – Amido

Variáveis	Rosa Não Fertilizada			Rosa Fertilizada		
	RC	R20	R50	RC	R20	R50
AST (mg g ⁻¹ MS)	23,7 Ca	22,7Ca	20,6 Ca	21,5 Ba	23,7 Ba	20,8 Ba
	52,4 Aa	41,7 Ba	43,4 Ba	53,7 Aa	51,5 Aa	52,7 Aa
	53,7 Aa	54,9 Aa	55,1 Aa	54,6 Aa	55,6 Aa	53,2 Aa
SAC (mg g ⁻¹ MS)	21,7 Aa	23,4 Aa	20,7 Aa	27,8 Aa	26,4 Aa	27,0 Aa
	20,3 Aa	21,8 Aa	20,7 Aa	20,4 Ba	19,4 Ba	23,4 Ba
	18,7 Aa	16,7 Bb	15,8 Bb	16,8 Ca	17,5 Ca	16,4 Ca
AMI (mg g ⁻¹ MS)	26,7 Ba	28,6 Ba	27,5 Ba	34,8 Aa	36,9 Aa	35,7 Aa
	33,5 Aa	32,1 Aa	33,1 Aa	32,6 Ba	31,7 Ba	32,5 Ba
	31,8 Aa	33,7 Aa	31,5 Aa	30,6 Ba	33,7 Ba	33,7 Ba

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p > 0,05$). Letras maiúsculas na coluna comparam o mesmo tratamento dentro do fator período de análise (30, 150 e 300 DAF), e letras minúsculas na linha comparam os tratamentos entre as antigas concentrações de lama do Rio Doce (0%, 20% e 50%).

6.5. Atividade Enzimática

De modo geral as plantas de manga tiveram poucas diferenças na atividade das enzimas anti-oxidantes, quando levado em consideração as antigas concentrações de rejeitos de minério (0%, 20% e 50%). As maiores diferenças da atividade enzimática se deram em função da condição de fertilização e período amostral. A atividade enzimática mensurada aos 30 DAF (figura 25) evidenciou maior atividade da CAT nas plantas de Palmer, com e sem fertilizante, porém, sem diferença significativa entre as antigas concentrações de lama em Palmer ($p > 0,05$). A CAT nas plantas de Rosa se mostrou com atividade $\approx 25\%$ menor quando comparada as plantas de Palmer neste mesmo período. APX teve maior atividade nas plantas P50-NF e P50-F. Esta mesma enzima nas plantas de Rosa teve atividade parecida entre as plantas N-Fert e Fert. A POD teve maior atividade nas plantas de Palmer e Rosa N-Fert, com diferenças de $\approx 50\%$ entre os grupos fertilizados e não fertilizados, sem diferenças entre as antigas concentrações de lama. Com relação à atividade da PPO, aos 30 DAF não houve diferença em nenhum grupo, todas as plantas demonstraram a mesma atividade.

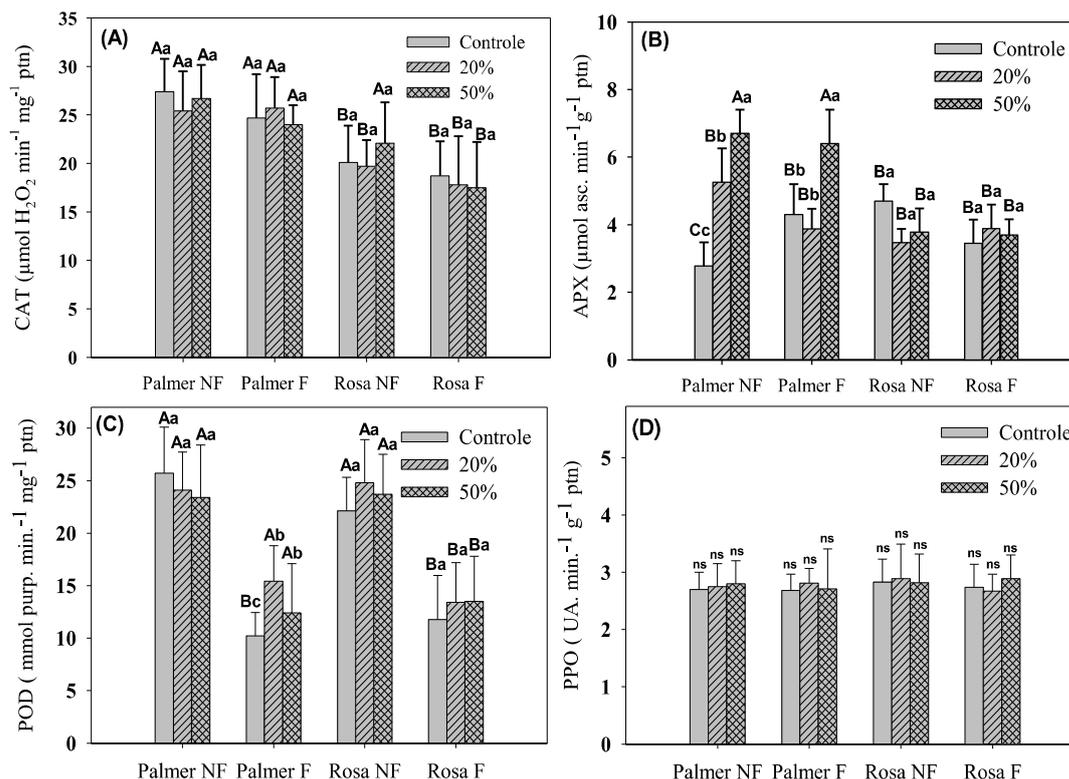


Figura 25: Atividade enzimática do sistema anti-oxidante em folhas de duas cultivares (Palmer e Rosa) de *Mangifera indica* (L) aos 30 DAF. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Skott-Knott ($p > 0,05$). Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos dentro do período amostral. Letras minúsculas comparam os tratamentos entre as antigas concentrações de lama. ns – Não Significativo. Os valores são médias e as barras representam o erro padrão ($n=5$).

Aos 150 DAF a análise (figura 26) mostrou que a CAT teve maior atividade nas plantas de Palmer N-Fert e Fert, apesar de não apresentar diferenças significativas em função da fertilização, nota-se menor atividade relativa nas plantas fertilizadas. Nas plantas de Rosa, similares aos resultados obtidos aos 30 DAF permaneceram com menor atividade relativa desta enzima. A atividade da APX foi semelhante entre as plantas de Palmer e Rosa neste período, com poucas oscilações na expressão enzimática, de modo geral sem diferença estatística ($p > 0,05$). A POD por outro lado, diferentemente dos resultados obtidos aos 30 DAF, teve sua atividade reduzida aos 150 DAF, com similaridade entre as plantas, independente das antigas concentrações de lama e as condições de cultivo. A PPO, em contrapartida, teve maior atividade nas plantas fertilizadas em ambas às cultivares, tanto Palmer como Rosa, com cerca de 45 % maior atividade nas plantas N-Fert.

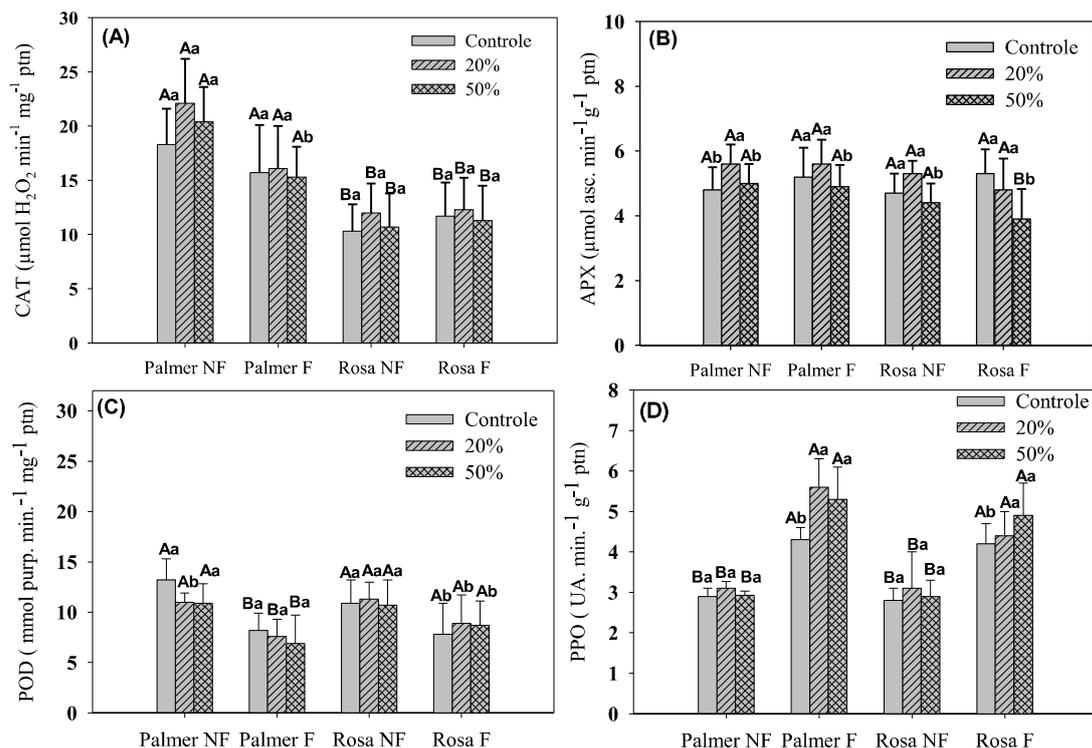


Figura 26: Atividade enzimática do sistema anti-oxidante em folhas de duas cultivares (Palmer e Rosa) de *Mangifera indica* (L) aos 150 DAF. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Skott-Knott ($p > 0,05$). Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos dentro do período amostral. Letras minúsculas comparam os tratamentos entre as antigas concentrações de lama. ns – Não Significativo Os valores são médias e as barras representam o erro padrão ($n=5$)

Aos 300 DAF (figura 27) os resultados demonstram que as enzimas CAT, APX e POD apresentavam similaridade entre plantas do mesmo tratamento. CAT e POD não apresentaram diferença significativa entre os mesmos tratamentos que foram analisados no mesmo período amostral. APX, apesar de se mostrar com similitude entre os tratamentos, apresentou pequena variação estatística aos 300 DAF. Com relação a atividade da PPO, é possível identificar diferenças significativas entre as fertilizadas e N-Fert, a atividade desta enzima não apresentou diferenças estatísticas em função das antigas concentrações de RM 0%, 20% e 50%.

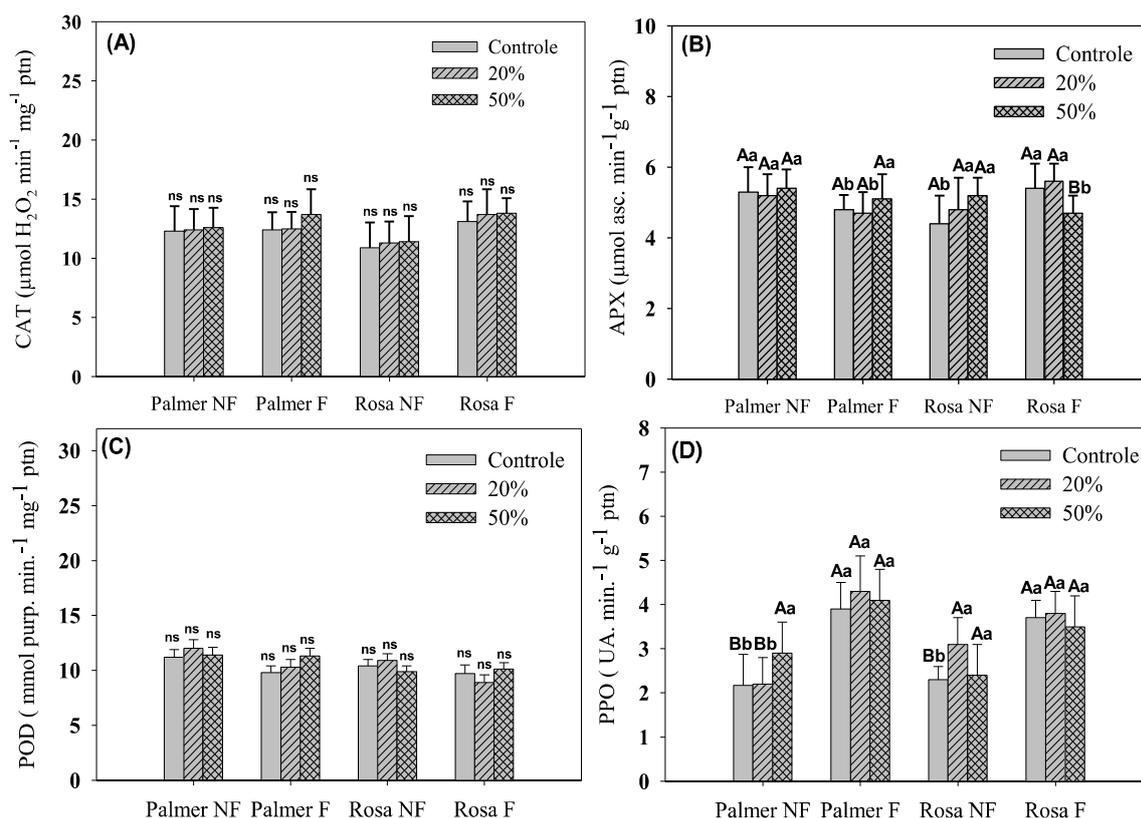


Figura 27: Atividade enzimática do sistema anti-oxidante em folhas de duas cultivares (Palmer e Rosa) de *Mangifera indica* (L) aos 300 DAF. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Skott-Knott ($p > 0,05$). Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos dentro do período amostral. Letras minúsculas comparam os tratamentos entre as antigas concentrações de lama. ns – Não Significativo Os valores são médias e as barras representam o erro padrão ($n=5$)

6.6 Análise de Componentes principais (PCA) e Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

As figuras 26 e 27 mostram os resultados das análises multivariadas dos grupos experimentais de acordo com o tempo amostral. A figura 28 evidencia a discriminação destes grupos por meio do diagrama de dispersão do PCA. Os componentes PC1 e PC2 descrevem 93,98% da variação total dos dados, fornecendo informações discriminatórias dos grupos experimentais. O primeiro componente principal (PC1) descreve 62,81% da variação total e o segundo (PC2) 31,17%. Ao analisar o scores através do PC1, é possível observar a distinção de dois grupos: de um lado, as cultivares Palmer e Rosa amostrada aos 150 e 300 DAF e, de outro, as mesmas cultivares, porém dentro do tempo amostral de 30 dias após o início da fertilização. Em relação aos sobrepostos, observa-se maior influência de determinadas variáveis fisiológicas. O comportamento distintivo apresentado pelos dois grupos descreve uma discriminação

de grupos homogêneos, no entanto não foi possível observar padrões explícitos ligados as antigas concentrações de rejeitos de mineração, bem como, não foi possível também a diferenciação ordenada das plantas que foram fertilizadas e N-Fert com o produto organomineral.

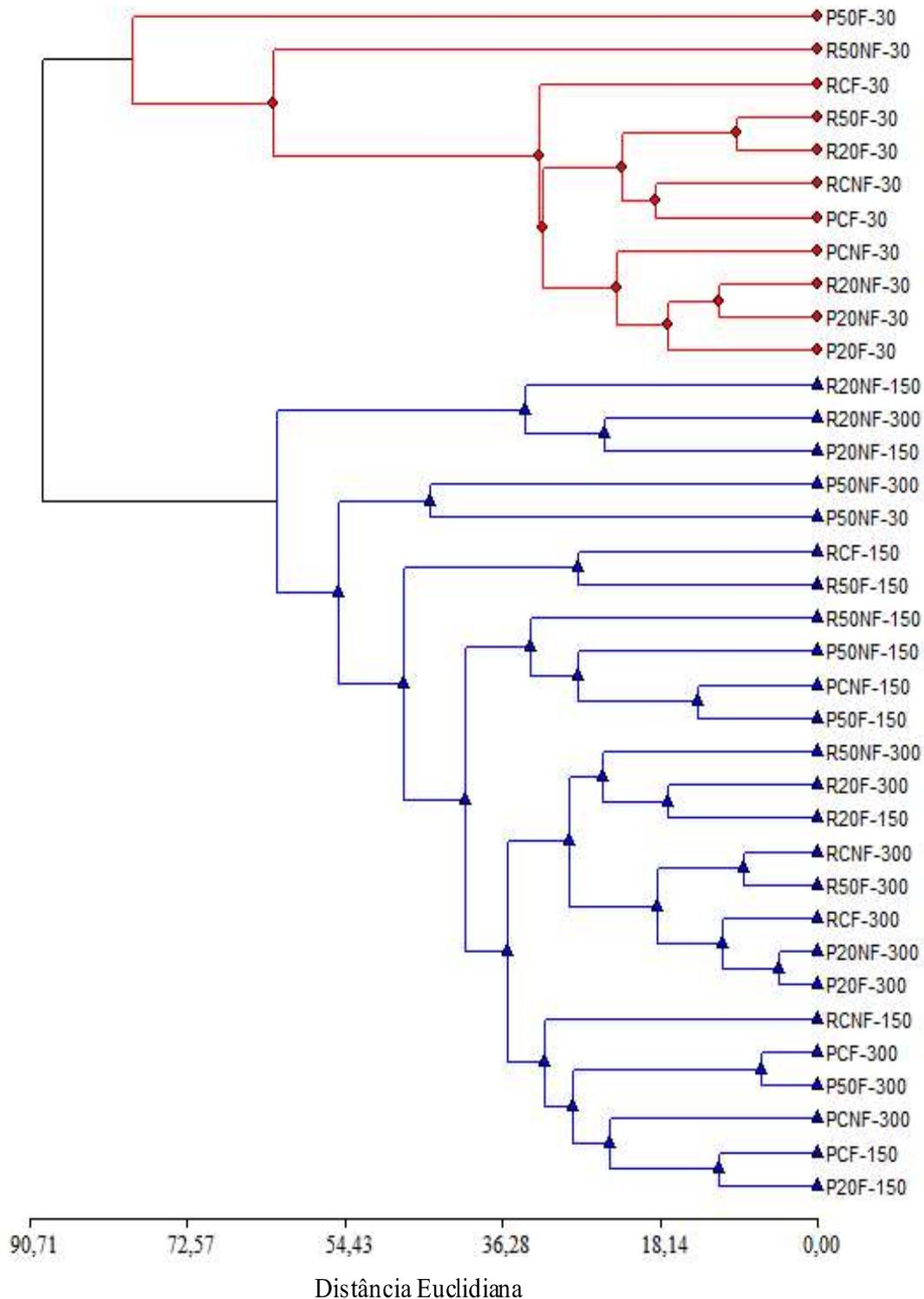


Figura 29: Dendrograma da análise de agrupamentos hierárquicos para as respostas fisiológicas das cultivares Palmer e Rosa nos períodos de 30, 150 e 300 dias após o início da fertilização.

7. DISCUSSÃO

As diferentes cultivares de mangueira avaliadas neste trabalho obtiveram sua produção e desenvolvimento inicial submetidas a diferentes concentrações de RM. Durante a fase de muda, estas plantas foram cultivadas em um viveiro comercial no Norte do Espírito Santo, onde as manutenções e a irrigação das plantas eram realizadas continuamente. Esperava-se então, que estas mesmas plantas teriam comportamento fisiológico diferente do que foi observado por Freitas (2018). Sendo que ao transplantá-las para o campo, possivelmente ocorreriam alterações fisiológicas, que poderiam ser resultantes das novas condições impostas pelo transplântio, onde as plantas estariam sujeitas a influências das características limitantes do local do experimento e não somente pelas antigas concentrações de RM.

De fato, as plantas de manga no presente trabalho tiveram comportamentos diferentes do que foi observado por Freitas (2018), a cultivar Rosa mostrou maior aptidão fisiológica em vários aspectos, e uma recuperação mais rápida, independente do antigo estresse e das condições de fertilização. Enquanto a cultivar Palmer teve menor aptidão fisiológica em algumas avaliações, e uma recuperação mais lenta quando não fertilizada. No estudo realizado por Freitas (2018), as plantas da cultivar Rosa foram mais afetadas pelo cultivo em solo contendo RM, e de contrapartida, Palmer foi uma das cultivares mais tolerante ao estresse durante o desenvolvimento inicial no viveiro.

O termo “aptidão fisiológica” citado acima, foi empregado levando em consideração as respostas fotoquímicas e bioquímicas avaliadas neste experimento, além das comparações diretas com o trabalho de Freitas (2018), que de certa forma antecedeu este estudo. Em termos comparativos com o referido trabalho, as respostas fotoquímicas fornecidas pela análise da fluorescência da clorofila *a*, foram fundamentais para a realização de contrapontos entre o estudo de Freitas (2018) e presente estudo, em relação ao desempenho fisiológico destas plantas.

Freitas (2018), em seu trabalho relata que danos fotoquímicos comprometeram principalmente o aparato fotossintético das plantas de Rosa. Esses danos por sua vez, foram evidenciados pela maior cinética de indução de fluorescência nestas plantas, demonstrado através das curvas OJIP, que durante as análises do autor, apresentaram maior amplitude de emissão, o que se traduziu como um maior prejuízo fotoquímico. Ao derivar os dados obtidos nas curvas OJIP para o Teste JIP, o autor descreve que estas plantas tiveram um menor aproveitamento energético, evidenciado por

comportamentos específicos em determinados parâmetros que foram avaliados por ele, aumento nos valores de da fluorescência inicial (F_0), reduções nos índices de desempenho fotoquímico (PI_{ABS} e PI_{TOTAL}), diminuição nas eficiências e rendimentos quânticos envolvendo o transporte de elétrons (ΨE_0 e ϕE_0). Como mencionado anteriormente, durante o experimento desenvolvido por Freitas, a cultivar Palmer obteve melhor desempenho fisiológico, independente das concentrações de rejeitos de minério em que foi produzida. Nestas plantas, o autor identificou uma menor indução de cinética da fluorescência, evidenciando curvas OJIP com amplitudes negativas, o que indicou um melhor aproveitamento energético. Esta melhor aptidão fotoquímica foi refletida nos parâmetros do teste JIP, que desmontavam comportamento fisiologicamente normal. O autor em seu trabalho relatou variações nos índices de clorofila, com diminuições nas plantas de Rosa. Estes resultados permitiram que o pesquisador conclui-se que a cultivar Rosa foi mais susceptível aos estresses causados pelo cultivo em substratos contaminados por rejeitos de mineração.

Apesar de este estudo obter resultados contrários dos que foram encontrados por Freitas (2018), deve ser recapitulado que para realização do mesmo, novos fatores experimentais foram empregados, que foram o cultivo em campo destas plantas e o tratamento com o fertilizante organomineral.

Neste estudo não houve diferenças significativas nos teores de clorofilas em função das antigas concentrações de RM. As diferenças significativas se deram devido à fertilização organomineral, o que possivelmente está relacionado à base de composição do fertilizante. A adubação organomineral proporcionou uma maior disponibilidade de Nitrogênio (N) para as plantas, visto que, as concentrações deste nutriente estavam acima do recomendado para a cultura da mangueira, essa disponibilidade está atribuída a sua composição, por ser tratar de um produto organomineral feito com esterco de aves domésticas. O nitrogênio é um dos macronutrientes de grande importância no metabolismo vegetal, por participar ativamente de diversos processos fisiológicos, como, síntese de aminoácidos e proteínas, produção de metabólitos secundários, participação do processo fotossintético e na biossíntese de pigmentos (OYAHAMA, 2010). É de conhecimento a importância dos teores de clorofilas para o processo fotossintético, no entanto, estes teores nem sempre expressam de forma precisa a estrutura do aparato fotossintético (KALAJI et al. 2012). Diversos autores apontam a análise de fluorescência da clorofila *a* como uma ferramenta simples e não destrutiva, e

de maior eficácia na determinação de panorama estrutural do aparato fotossintético (KALAJI et al. 2017).

As análises de fluorescência da clorofila *a*, revelaram possíveis efeitos derivados do estresse inicial. De modo geral as plantas analisadas neste trabalho evidenciaram comportamentos fotoquímicos similares ao decorrer do experimento, estas similaridades obedeceram de certa forma uma tendência, de acordo com antigas concentrações de 20% e 50% de RM, por exemplo, nos diferentes períodos avaliados, 30, 150 e 300 DAF as plantas N-Fert comportaram-se da mesma forma, apresentando amplitudes positivas ou negativas, com tendências parecidas entre as plantas que haviam passado pela mesma concentração de RM (P50-R50 e P20-R20), sendo então caracterizado um comportamento que seguiu as antigas concentrações de RM. De outro ponto de vista, as plantas que foram fertilizadas demonstraram estabilidade através das similaridades fotoquímicas ou até mesmo melhor desempenho. As alterações fisiológicas de maior expressividade foram registradas inicialmente, ou seja, aos 30 DAF.

Aos 30 DAF padrões envolvendo as antigas concentrações de RM, demonstraram menor aptidão fotoquímica nas plantas que não foram fertilizadas e que continham 50% de RM em seu substrato. P50-NF e R50-NF respectivamente tiveram maior amplitude de cinética entre os passos O e P, visto que, o aumento de intensidade de fluorescência, demonstrado nas curvas OJIP, possivelmente esta atribuído ao equilíbrio redox dos aceptores e receptores da cadeia de transporte de elétrons, sendo assim, este incremento na dissipação energética via fluorescência, pode ser um reflexo direto do menor aproveitamento dos elétrons absorvidos (STRASSER, 2004). O que de fato foi demonstrado nos valores de Absorção por centro de reação e o fluxo de transporte de elétrons, ABS/RC e ET_0/RC respectivamente, que em todas as plantas avaliadas estavam com área de porcentagem elevada em ABS/RC, e com uma área inferior em ET_0/RC , demonstrando a menor mobilidade dos elétrons absorvidos neste período. Em alguns estudos, nota-se que a diminuição da taxa de fluxo de elétrons é comum em plantas em condições ambientais desfavoráveis, sendo atribuído principalmente à equação cumulativa da quinona primária (Q_A), uma vez que, os processos de oxidação e redução deste receptor estão desequilibrados geram conseqüentemente uma menor dinâmica energética por centro de reação (RC), prejudicando a passagem de elétrons para os aceptores de fora do FSII (TSIMILLI, 2019). Esta instabilidade equacional envolvendo a Q_A é identificada comumente durante

a etapa O-J, que neste estudo se mostrou com amplitudes positivas em todas as plantas, com exceção das plantas de Rosa Fertilizada, que em particular se mostraram com melhor desempenho fotoquímico envolvendo alguns parâmetros do teste-JIP.

Danos aos aceptores e receptores iniciais da CTE influenciam diretamente em parâmetros do teste-JIP, como TR_0/RC , ET_0/RC , ΨE_0 e ϕE_0 . Neste trabalho, estes parâmetros de modo geral apresentaram reduções nas plantas P50-NF e R50-NF aos 30 DAF, as demais P20-NF e R20-NF neste mesmo período tiveram menores prejuízos energéticos. Todos estes parâmetros citados estão relacionados a diferentes regiões dentro do FSII, a interrupção energética pode desencadear um efeito cascata dentre as subunidades deste fotossistema, causando inibição total ou parcial da eficiência quântica (TSIMILLI, 2019). As alterações registradas nas curvas OJIP e no teste JIP aos 30 DAF, permitiram presumir que nas plantas de P50-NF e R50-NF, os possíveis danos concentraram-se no FSII, visto que, todos os parâmetros afetados demonstram relação direta com este fotossistema.

Freitas (2018) em seu estudo relatou que a lama causou compactação do solo, e conseqüentemente, menor infiltração da água e restrição de raiz. Essa compactação inicial possivelmente pode ter gerado um estresse hídrico indireto, durante a fase de muda, e que continuou no início do cultivo em campo, afetando principalmente o FSII. Como observado nos resultados, que demonstraram a menor aptidão fotoquímica concentrando-se nos parâmetros ligados aos componentes do FSII, se deu devido ao alto grau de sensibilidade do FSII aos estresses abióticos (STIRBET, et al, 2018).

Em outra perspectiva, nota-se uma estabilidade nos valores de ϕP_0 , apesar dos possíveis efeitos sobre o FSII, este parâmetro seguiu sem diferenças expressivas entre as plantas durante o experimento. De acordo com Tisimilli-Michael e Strasser (2013), o rendimento quântico do FSII (ϕP_0) é um dos parâmetros fornecido pelo teste JIP de maior sensibilidade as alterações ambientais, sendo derivado direto dos valores expressos em F_0 e F_M . Em paralelo com a estabilidade vista em ϕP_0 , observa-se que os valores de F_0 e F_M também se mantiveram similares ou iguais. Essas estabilidades de valores demonstradas nestes parâmetros sugerem que as plantas de Palmer e Rosa em ambas as condições de fertilização, possuíam mecanismos de manutenção que evitavam o colapso quântico, o que pode estar relacionado à atividade evidenciada por mecanismos dissipatórios, como demonstrado em DI_0/RC , que inicialmente tinha alta

atividade (área em %) na dinâmica energética destas plantas. Estes mecanismos de proteção e manutenção foram observados por Faria-Silva et al., (2017) no qual, ao avaliarem o efeito sobre uma cultivar de *Mangifera indica* (L.), identificaram possíveis ações fotoprotetivas, proporcionadas pelo DI_0/RC , resultando na estabilidade funcional do FSII, evidenciado pelo ϕP_0 . Este fenômeno fotoprotetor mediado pela atividade de DI_0/RC mostrou que as reduções iniciais não desencadearam um “efeito cascata” na CTE, visto que, P20-NF, P50-NF, R20-NF e R50-NF, mostraram pequena amplitude positiva durante os passos J-I-P, que permitem intuir uma estabilidade energética partindo da plastoquinona até os receptores finais presentes no FSI.

A fertilização proporcionou maior e melhor desempenho fotoquímico nas plantas de Palmer e Rosa, os resultados obtidos aos 30, 150 e 300 DAF evidenciaram maior atividade nos índices de performances, sendo respectivamente o PI_{ABS} e PI_{TOTAL} . Estes parâmetros fornecidos pelo teste JIP são indicativos biofísicos do processo de transporte de elétrons, indicando paralelamente o status fisiológico da planta na maioria das vezes (TSIMILLI, 2019). O PI_{ABS} juntamente com o ΔR_0 produz o PI_{TOTAL} , parâmetro este que fornece um panorama da eficiência quântica do transporte de elétrons até os aceptores finais do FSI, ou seja, indica o trânsito de elétrons por toda extensão da cadeia de transporte (STRASSER et al., 2010). Para Chen et al. (2017) o PI_{TOTAL} é dos principais parâmetros fornecido pelo teste JIP, por predizer indiretamente o *status* estrutural dos componentes da CTE, quando os valores deste parâmetros são baixos, pode se traduzir em danos estruturais ao longo da CTE até o FSI, sendo estes danos altamente severos, devido a maior tolerância do FSI quando comparado ao FSII. Em contrapartida, quando os valores deste parâmetro são altos, indicam melhor aptidão fotossintética, assumindo-se que o transporte de elétrons se manteve eficiente até os aceptores finais do FSI.

Aos 150 e 300 DAF também foram registradas alterações na atividade fotoquímica, apresentando curvas OJIP positivas e negativas. No teste-JIP foram descritos reduções e acréscimos em determinados parâmetros, porém ficou subentendido que essas alterações não estavam ligadas as antigas concentrações de RM, e sim a características ecofisiológicas limitantes do cultivo em campo. As hipóteses sobre estas alterações registradas aos 150 e 300 DAF são diversas, sobretudo, deve ser levado em consideração a ferramenta de análise utilizada neste trabalho, a re-emissão da fluorescência da clorofila *a* tem se mostrado como um mecanismo fisiológico altamente

sensível e influenciável pelas condições sazonais e climáticas do cultivo em campo. BUSSOTTI et al. (2020) em seu trabalho, destacam o uso dos parâmetros biofísicos fornecidos pelo teste-JIP como excelentes indicadores de status ecofisiológico.

Ainda discutindo o processo fotossintético destas plantas, os parâmetros de trocas gasosas de maneira geral demonstraram uma crescente fisiológica de acordo com o tempo de experimento. Com distinções claras entre as primeiras medidas (30 DAF) e as últimas medidas (300 DAF). Em relação às antigas concentrações de RM e as condições de fertilização, é observado comportamento similar em ambos os grupos experimentais de cada cultivar. Sendo assim, os resultados que serão discutidos a partir deste ponto, diferem-se das atribuições em que os resultados de fluorescência da clorofila *a* foram vinculados, ou seja, as antigas concentrações de RM na qual as plantas foram produzidas não afetaram os processos de trocas gasosas, as alterações mais significativas vistas nestes parâmetros se deram em escala temporal, o que possivelmente está vinculado ao estresse provocado choque pelo transplântio desta mudas, é observado uma tendência de recuperação, indicando uma estabilidade fisiológica a partir dos 150 DAF até os 300 DAF.

Para alguns autores o estresse pós-plantio, resulta em um retardo no crescimento e atraso no desenvolvimento da planta, afetando principalmente a taxas fotossintéticas e manutenção hidráulica. Podendo condicionar a planta para um estágio de recuperação mais longo (LI et al. 2016; CHENXING et al. 2020). Nas taxas de fotossíntese líquida (A) juntamente com eficiência do uso da água (A/E) as plantas N-Fert, tiveram a recuperação ao longo do período experimental. Nas plantas Fert, nota-se uma recuperação mais rápida destes parâmetros, esta recuperação possivelmente está associada ao enriquecimento do solo via adubação organomineral, resultando em uma melhora nas taxas fotossintéticas. Para Percival, et al. (2005) a recuperação das taxas fotossintéticas após o choque do transplântio, influencia diretamente na produção de fotoassimilados, como, glicose, sacarose e amido. E para estes autores, o metabolismo destes compostos orgânicos é de fundamental relevância para a realização da estabilização fisiológica da planta sob a nova condição de cultivo.

Os resultados dos teores de carboidratos não estruturais, assim como os resultados da análise de fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas, evidenciaram padrões, mas diferentemente do que foi observado na análise da fluorescência, os

padrões não foram influenciados pelas antigas concentrações de RM, e sim pelo o período amostral. De certa forma foi observado que os teores de AST e AMI aumentavam ao decorrer do experimento, enquanto os teores de SAC diminuía à medida que o experimento avançava. Este balanço nos teores dos carboidratos não estruturais revelou uma dinâmica que possivelmente pode estar associada à repartição de carbono e a manutenção metabólica, resultantes diretos das demandas de crescimento e desenvolvimento das mangueiras.

Para alguns autores como, Souza et al. (2012) e Engela (2016), os teores dos carboidratos solúveis são indicadores fisiológicos que fornecem um panorama indireto sobre desempenho metabólico como um todo. Além de serem altamente influenciáveis pelas condições ambientais, estes carboidratos, que reúnem açúcares redutores (glicose e frutose) e não redutores (sacarose), desempenham diversas funções fisiológicas, através da respiração e de outros processos metabólicos, participando também da manutenção e sinalização redox da célula. Ao comparar os resultados de AST obtidos aos 30 DAF com os resultados descritos por Oliveira et al. (2018), percebe-se que as plantas de Palmer e Rosa tinham valores menores do que foram encontrados pelos autores, que ao avaliarem o teor de AST em folhas de uma cultivar de *Mangifera indica* (L.), constataram que em condições ótimas para o crescimento da mangueira, os AST concentram-se entre 40 mg g⁻¹MS a 70 mg g⁻¹MS, Neste estudo, estes valores só foram registrados a partir dos 150 e 300 DAF. Antes de iniciar este experimento as plantas de Palmer e Rosa estavam em vasos de polietileno de 18 litros, onde estavam sob restrição de raiz, em vista disso, esperava-se então que ao transplantá-las para o solo, estas mesmas plantas ao decorrer do experimento iriam se desenvolver e conseqüentemente crescer. Andriolo et al. (2003) em seu trabalho destacaram um processo de retomada energética após o transplântio uma vez que, segundo os autores, as plantas desenvolvem mecanismos metabólicos que auxiliam na tolerância fisiológica em função da nova condição de cultivo, a partir do crescimento em paralelo da raiz e parte aérea, envolvendo uma dinâmica compensatória entre os fotoassimilados, os açúcares solúveis e amido. Neste estudo foi considerada a idéia de retomada energética, para auxiliar no desenvolvimento das mangueiras, pois nota-se um incremento substancial nos teores de AST à medida que as plantas vão se estabelecendo ao longo do tempo.

Ainda dentro da temática de crescimento e partição de carbono nas mangueiras, observa-se que os teores de SAC nas plantas estavam altos aos 30 DAF, em comparação

com os demais períodos amostrais. A sacarose está envolvida em processos de diferenciação celular, promovendo a expansão celular, juntamente com fitormônios (PAUL e DIJCK, 2011). Estes altos teores reforçam a idéia de que as plantas de manga inicialmente estavam utilizando-se de recursos metabólicos para a aclimatação em função das novas condições de cultivo. Resultados similares foram observados por Alecrim et al.(2019) e Loka et al.(2020), que identificaram que a sacarose exerce papel fundamental para a recuperação fisiológica de plantas que são submetidas a condições desfavoráveis, alterando seu metabolismo para síntese de novas moléculas de sacarose.

Uma das formas para se obter maior quantidade de sacarose, é a partir da remobilização do amido, resultante da quebra enzimática deste carboidrato (TAHLMAN & SANTELIA, 2017). A concentração de amido no tecido foliar se mostrou inversamente proporcional aos teores de sacarose na escala temporal (30, 150 e 300 DAF). Thalman e Santelia (2017) trazem em seu trabalho diversas informações envolvendo a plasticidade metabólica do amido. Estes autores relatam que em condições limitantes, o amido foliar pode ser degradado pela ação de enzimas β -amilase, contribuindo para a formação e liberação de glicose-1-fosfato, sendo que, essa molécula pode ser convertida em sacarose, através de reações promovidas pela enzima UDP-glicose-fosforilase. Com base nesta possibilidade, a remobilização do amido observada nas cultivares de mangueiras, reforça o pensamento de que inicialmente as plantas de Palmer e Rosa estavam em condições desfavoráveis. Devido a diversos atributos ecofisiológicos, no caso dos carboidratos, o estresse pós-transplante resultou em uma dinâmica metabólica que possivelmente auxiliaria na consolidação fisiológica destas plantas na lavoura.

Segundo Sami et al. (2016), os carboidratos solúveis também responsáveis por mediar reações metabólicas que envolvam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), possuindo íntima relação com o catabolismo e anabolismos destas moléculas, contudo, o presente trabalho não avaliou estes composto com este foco, e sim, na alocação de carbono ligada a aclimatação. Para se obter informações sobre “status” redox das células foram verificadas as atividades de algumas enzimas do sistema anti-oxidante.

Como nas demais análises, fica nítido um padrão fisiológico aos 30 DAF, envolvendo diferentes fatores, cultivar mais sensível, antigas concentrações de lama e o

fator fertilização, mas com passar do tempo essas diferenças foram diminuindo em algumas enzimas. É sabido que a espécie *Mangifera indica* (L.) possui diversas aplicações farmacológicas, devido à grande capacidade anti-oxidante, possuindo compostos específicos advindos do metabolismo secundário, como os polifenóis, por exemplo a mangiferina, que possui alta capacidade de retardar processos oxidativos através do sequestro de radicais livres, auxiliando diretamente na atividade de algumas enzimas (EMBRAPA, 2009; RIBEIRO & SCHIEBER, 2010)

Apesar do grande potencial anti-oxidante da mangueira, foram registradas atividades expressivas de determinadas enzimas. A CAT em particular, é uma das enzimas mais importantes para se manter o equilíbrio redox adequado, atua principalmente em organelas como peroxissomos, sem a necessidade de um agente redutor. O meio de ação desta enzima consiste na dismutação direta do H_2O_2 em H_2O e oxigênio molecular (GILL & TUTEJA, 2010). Nas plantas de Palmer e Rosa, foi possível identificar atividade mais intensificada no início do experimento. Aos 30 DAF as plantas de Palmer tinham maiores expressões desta enzima, o que pode estar relacionado com as características envolvendo a embriogênese somática desta cultivar, que é monoembriônica. As cultivares monoembriônicas possuem menos genes associados ao processo de aclimatação, quando comparado a cultivares de origem poliembriônicas (KRISHNA & SINGH, 2007). Sendo que, neste trabalho a cultivar Rosa teve respostas fisiológicas mais eficientes. Aos 150 e 300 DAF essa mesma enzima teve reduções de atividade, o que pode estar relacionado com a estabilização fisiológica ao longo do tempo.

Tendo em vista que os resultados fisiológicos descritos para catalase esperava-se que outras peroxidases, como a peroxidase do ascorbato (APX) e a peroxidase do guaiacol (POD) apresentassem o mesmo comportamento, ou seja, maior atividade aos 30 DAF e com normalização redox à medida que o experimento avançava (150 e 300 DAF).

A atividade da (APX), aos 30 DAF obteve maior expressão nas plantas de Palmer que haviam passado pelo estresse com 50% de lama em seu substrato, independente se eram fertilizadas ou não. Diferentemente da CAT, a APX está distribuída por algumas organelas dentro da célula vegetal, são encontradas no citosol, peroxissomo e cloroplastos, seu mecanismo de ação varia de acordo com sua isoforma,

mas basicamente consiste na degradação do H_2O_2 via oxidação do ascorbato (FOYER, 1994). Com base nos resultados vistos anteriormente, acredita-se que aos 30 DAF as plantas ainda estavam sobre influência fisiológica das antigas concentrações de lama. Freitas (2018) durante seu estudo determinou a densidade dos substratos, constatando que o substrato com 50% de lama se caracterizava como solo de alta densidade, devido sua composição. No entanto, poucos são os trabalhos na literatura que relacionam a densidade do solo com as respostas do sistema anti-oxidante. O que mais se tem reportado são trabalhos que associam este tipo de estresse ao provocado por alagamento, que causa hipóxia ou anóxia radicular, prejudicando o crescimento, interferindo no processo fotossintético e favorecendo processos catabólicos como a fotorrespiração e aumento da produção de ROS em diferentes organelas (ALVARENGA et al., 1996; GILL e TUTEJA, 2010).

Com base nestes fatos, presumem-se que os efeitos prejudiciais causados pelo estresse inicial afetaram diferentes compartimentos celulares, devido à sua extensão fisiológica e as características fisiológicas particulares das cultivares. A avaliação conjunta da APX e CAT permitiu uma visão mais ampla dos efeitos deste estresse, onde Palmer se mostrou menos tolerante inicialmente. A APX dentre as peroxidases, possui grande efetividade bioquímica na eliminação das ROS, capaz de promover a regeneração do ascorbato, após a produção da molécula de monodehidroascorbato. (DONALDSON, 2005). É uma homoproteína contendo um grupo protoporfirina IX, parecida com a peroxidase do guaiacol (POD) (ASSADA, 1992)

Para Hiraga et al. (2001) a POD é uma das enzimas de grande importância para manutenção do potencial redox da célula, atuando principalmente na parede celular e vacúolo. Basicamente para cada molécula de H_2O_2 reduzida, ocorre a oxidação de uma molécula de guaiacol. Nota-se que aos 30 DAF foi registrada atividade com maior intensidade nas plantas N-Fert de ambas as cultivares, o que sugere a influência da fertilização. Akula e Ravishankar (2011) relataram em seu trabalho que a adubação nitrogenada pode alterar a síntese de polifenóis, diminuindo a disponibilidade destes compostos na planta. Em vista disso, supõe que aos 30 DAF a disponibilidade de polifenóis era superior nas plantas N-Fert, e estes serviram de substrato de oxidação para esta peroxidase.

Diferentemente das demais enzimas, a polifenol oxidase (PPO) aos 30 DAF se mostrou sem atividade expressiva, mas aos 150 e 300 DAF demonstrou maior

expressão nas plantas fertilizadas. Para este comportamento diversas respostas metabólicas poderiam estar relacionadas, no entanto, as análises fisiológicas realizadas neste estudo só permitiram pressupor que aos 150 e 300 DAF a fertilização promoveu maior estabilização metabólica nas plantas, tanto nos teores de carboidratos como no sistema anti-oxidante e essa normalização metabólica possivelmente resultou na maior disponibilidade de agentes redutores para esta enzima. Além disso, a atividade registrada aos 150 e 300 DAF não configura necessariamente uma característica de estresse, visto que, o mecanismo de ação desta enzima consiste na oxidação de compostos fenólicos, levando a formação de quinonas, que eventualmente são polimerizadas formando pigmentos marrons e pretos nos tecidos foliares, diminuindo a eficiência fotoquímica (UNDERRHILL & CRITCHLEY, 1995). Portanto constata-se que a atividade da PPO registrada aos 150 e 300 DAF não se configurou como uma medida de tolerância redox, e sim uma eventualidade proporcionada pela fertilização.

Como dito anteriormente, as antigas concentrações de RM não tiveram influência sobre os teores dos carboidratos não estruturais, porém foi identificado que o fator fertilização influenciou nos teores destes compostos, visto que em algumas plantas fertilizadas os teores se mostraram estáveis em menor tempo. Este fenômeno também foi observado por Zahoor et al. (2017) e Tu et al. (2017), onde o enriquecimento do solo via fertilização proporcionou um incremento nos teores dos carboidratos solúveis e uma estabilização na concentração de amido foliar, devido a interação entre solo e planta, ou seja, ao proporcionar uma homeostase nutricional e conseqüentemente o equilíbrio metabólico.

As respostas fisiológicas descritas neste estudo foram discutidas sobre duas premissas fisiológicas. [1] a produção destas plantas em substrato contendo rejeitos de minério poderia acarretar em danos fisiológicos em longo prazo durante o cultivo em campo. A outra premissa [2] que os novos fatores experimentais promoveriam respostas fisiológicas mais direcionadas. As análises multivariadas realizadas neste trabalho confirmaram a segunda premissa, no entanto, vale ressaltar, que somente a análise da cinética da fluorescência da clorofila *a* foi capaz de fornecer respostas e padrões fisiológicos ligados ao histórico de produção destas plantas, devido sua altíssima sensibilidade fisiológica. As análises de PCA e HCA revelaram a presença de dois grandes grupos a partir das semelhanças fisiológicas, foi levado em consideração o período amostral, permitindo a identificação de uma distinção entre as respostas dos 30

DAF e as obtidas aos 150 e 300 DAF, tal agrupamento é um reflexo da estabilidade fisiológica das plantas a partir dos 150 DAF até os 300 DAF

8-CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo, conclui-se inicialmente que as plantas de Rosa tiveram melhor desempenho fisiológico quando comparada as plantas de Palmer. Estes resultados diferem-se dos resultados do trabalho que antecedeu este estudo, trabalho este que foi produzido por Freitas em 2018.

Este melhor desempenho na cv. Rosa foi comprovado principalmente pelas análises de indução da cinética da fluorescência da clorofila *a*, no qual as plantas desta cultivar, independentemente das antigas concentrações de RM nas quais foram produzidas, demonstraram maior aptidão fotossintética, por meio dos parâmetros ET_0/RC (Fluxo específico de transporte de elétrons), ΨE_0 (Rendimento quântico de transporte de elétrons) ϕE_0 (Rendimento quântico do FSII), os índices de performances, PI_{ABS} (Índice de desempenho do FSII) e PI_{TOTAL} (Índice de desempenho para a conservação de energia dos fótons absorvidos pelo FSII para a redução dos receptores finais do FSI).

As demais análises, trocas gasosas, carboidratos não estruturais e enzimas do sistema anti-oxidante tiveram um padrão fisiológico, sem diferenças expressivas entre as cultivares, onde as respostas mais expressivas foram registradas no início do experimento, aos 30 DAF. As análises de discriminação destes resultados, obtidas após as análises de PCA e HCA, permitiram concluir que as plantas avaliadas neste estudo sofreram com o choque pós-tranplantio em maior intensidade.

E por fim, conclui-se que a fertilização organomineral, promoveu de fato maior recuperação fisiológica em menor tempo, além de promover melhor desempenho fisiológico para as plantas de mangueira.

9- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados observados confirmam a hipótese deste estudo. Constatou-se várias respostas fisiológicas com uma relação direta com o histórico de produção e desenvolvimento inicial das mudas de *Mangifera indica* L., cv. Palmer e Rosa. De fato, foram obtidos resultados conexos com a hipótese inicial, no entanto, somente as respostas fotoquímicas foram capazes de diferenciar as plantas de acordo com as antigas concentrações de RM (0%, 20% e 50%) nas quais foram produzidas.

As alterações fotoquímicas mais relevantes envolveram maior cinética de indução de fluorescência OJIP nas plantas das cv. Palmer e Rosa, que foram produzidas em substrato contendo 50% de RM. Houve redução dos parâmetros do teste JIP como TR_0/RC , ET_0/RC , ΨE_0 e ϕE_0 , que representam a eficiência e rendimento quântico, afetando também os índices de desempenho fotoquímico destas plantas (PI_{ABS} e PI_{TOTAL}). Estes resultados demonstraram que as análises da Fluorescência da clorofila *a* pode ser utilizada como uma ferramenta fisiológica de alta sensibilidade e precisão no diagnóstico de estresse mineral.

A fertilização organomineral evidenciou uma ação benéfica, pois as plantas que receberam esse tratamento apresentaram uma recuperação da normalidade fisiológica em menor tempo.

As análises de trocas gasosas, carboidratos não estruturais e as enzimas do sistema anti-oxidante revelaram uma nova dinâmica fisiológica independente das antigas concentrações de RM. Foram observadas recuperação ao longo do experimento, sem distinção entre as cultivares. Esta recuperação temporal foi atribuída ao choque pós transplante e as plantas alcançaram estabilidade a partir dos 150 DAF.

Apesar destas constatações, este estudo baseou-se somente nas respostas fisiológicas obtidas no período vegetativo das cultivares Palmer e Rosa. Ainda se faz necessários estudos complementares envolvendo a fisiologia pós-colheita destas plantas, levando em consideração o possível acúmulo de elementos traços nos frutos que serão produzidos.

10. REFERÊNCIAS

- AKULA, R; RAVISHANKAR, G. A ALECRIN, A. O; GUIMARÃES, R. J; CASTANHEIRA, D. T; REZENDE, T. T; CARVALHO, M. A. F; VOLTOLINI, G. B. Sucrose in detoxification of coffee plants with glyphosate drift. In: Coffee Science, Lavras. v.14, n.1, p.48-54. 2019
- ALCRIM, A. O; GUIMARÃES, R. J; CASTANHEIRA, D. T; REZENDE, T. T; CARVALHO, M. A. F; VOLTOLINI, G. B. Sucrose in detoxification of coffee plants with glypgosate drift. In: Coffe Science. v.14 p.48-54. 2019
- ANDRIOLO, J. L; ESPINDOLA, M. C. G; STEFANELLO, M. O. Crescimento e desenvolvimento de plantas de alface provenientes de mudas com diferentes idades fisiológicas. In: Ciência Rural. v.33, n.1, p.35-40, 2003.
- ARAUJO, L; BISPO, W. M. S; RIOS, J. A; FERNANDES, S. A; RODRIGUES, F. A. Alkaloids and phenolics biosynthesis increases mango resistance to infection by *ectocystis fimbriata*. In: Plant Protection. v.75. p. 199-211. 2016
- ASSADA, K. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. In: Physiologia Plantarum. n.85, p.235-241, 1992
- BALLY, I. S. E; DILLON, N. L. Mango (*mangifera indica*L.) Breeding. In: Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits. Capitulo: 1. 2018
- BALLY, I.S.E.Advances in research and development of mango industry. Revista Brasileira de Fruticultura. v.33. p.14-21, n.1, 2011.
- BAMNIYA, B. R; KAPOOR, C. S; KAPOOR, K. Searching for efficient sink for ain pollutants: studies on *Mangifera indica* L. In: Clean Technologies and En vironmental Policy. v.14 p. 107-114.2012
- BASSO, J. P; FALEIRO, F. G; OLIVEIRA, J. S; GUIMARÃES, T. G; BRAGA, M. F; FONSECA, K. G; JUNQUEIRA, N. T. V; NETO, F. P. L. Variabilidade genética de cultivares e híbridos elite de mangueira com base em marcadores moleculares. In: Agrotrópica. v.30, n.1, pag. 49-56. 2018
- BLAIN, G. C. Mudanças climáticas e a Fruticultura. In: Revista Brasileira de Fruticultura. volume especial. p.07-12. 2011
- BRADFORD, M.A. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BREUSEGEM, F. V; VRANOVA, E; DAT, J. F; INZÉ, D. The role of active oxygen sprecies in plant signal transduction. In: Plant Science. v. 161. p. 405-414. 2001

CAKMAK, I. STRBOE, D. e MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxidescavenging enzymes in germinating wheat seeds. *Journal of Experiment Botany*, v. 44, p. 127-132, 1993.

CAÑAL, M.J.; TAMÉS, R.S. e FERNÁNDEZ, B. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in *Cyperus esculentus* leaves following glyphosate applications. *Plant Physiology*, v. 74, p. 125-130, 1988

CHEN, S.; YANG, J.; ZHANG, M.; STRASSER, R. J.; QIANG, S. Classification and characteristics of heat tolerance in *Ageratina adenophora* populations using fast chlorophyll a fluorescence rise OJIP. *Environmental and Experimental Botany*. v. 122, p. 126-140, 2016.

DIAS, M. S; MARQUES, D. J; BIANCHINI, H. C. Fertilization With silicon in sweet pepper improved plants grown under salt stress. In: *Jornal of experimental Agriculture International*. v.42. p.1-12. 2019

DILLON, L. N; BALLY, I. S. E; WRIGHT, C. L; HUCKS, L; INNES, D. J; DIETZGEN, R. G. Genetic diversity of the Australian national genebank. In: *Scientia Horticulturae*. v.150, n.1, pag. 213-226, 2013

DONALDSON, R. P; KARYOTOU, K. Ascorbate peroxidase, a scavenger of hydrogen peroxide in glyoxysomal membranes. In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. v.434. p.248-257. 2005

DONG, C; WANG, G; DU; M; NIU, C; ZHANG, P; ZHANG, X; MA, D; MA, F; BAO, Z. Biostimulants promote plant vigor of tomato and strawberry after transplanting. In: *Scientia Horticulturae*. v.267 n.1. 2020

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A. e SMITH, F. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, n. 28, p: 350-356, 1956.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Economia ecológica e institucionalidade ambiental em tempos de crise. XII encontro nacional da sociedade brasileira de economia ecológica. n.16, v.22, p.44-55, 2017

EMBRAPA (Empresa Brasileiro de Pesquisa Agropecuária). Produção de Mudas: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras. 1º Ed. Planaltina-DF. Embrapa Cerrados. p.54. 2010.

EMBRAPA (Empresa Brasileiro de Pesquisa Agropecuária). Propriedade Químicas e Farmacológicas de mangiferina: um composto Bioativo de manga (*Mangifera indica* L.). EMBRABA Semi Arido. Petrolina. 1º Ed. p.05-29. 2009

ENGELA, M. R. G. S. Variações no conteúdo e na composição de carboidratos solúveis e de compostos fenólicos em espécies arbóreas de Floresta Estacional Semidecidual em

resposta a poluente aéreos. Dissertação de mestrado. Instituto de botânica da secretaria do meio ambiente do Estado de São Paulo. 63p. 2016

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). The state of food and agriculture. p.12-13, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/018/i3300e/i3300e00.htm>>.

FARIA-SILVA, L.; GALLON, C. Z.; PURGATTO, E.; SILVA, D.M. Photochemical metabolism and fruit quality of Ubá mango tree exposed to combined light and heat stress in the field. *Acta Physiologiae Plantarum*. v. 39, p.238, 2017.

FAVERO, L. A. A Cultura da Manga no São Francisco: Posicionamento, Limites, Oportunidades e Ações Estratégicas. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, p.232, 2008.

FOYER, C. H; LELANDAIS, M; KUNERT, K. J. Photooxidative stress in plants. In: *Physiologia Plantarum*. n.92, p.696-717, 1994

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.

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.

FRYDENVANG J, VAN MAARSCHALKERWEERD M, CARSTENSEN A, MUNDUS S, SCHMIDT SB, PEDAS PR, LAURSEN KH, SCHJOERRING JK, HUSTED S .Sensitive detection of phosphorus deficiency in plants using chlorophyll a fluorescence. *Plant Physiol* 169: 353–361, 2015

FRYDEVANG, J; MAARCHALKEERWEERD, M. V; ANDREAS, C; MUNDUS, S; SIDSEL, B; PEDAS, P. R; LAURSEN, K. H; SCHJOERRING, J. K; HUSTED, S. Sensitive. Detection of phosphorus deficiency in plants using chlorophyll a fluorescence. In: *Breakthrough Technologies*. V169. P. 353-361. 2015.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010

GUPTA BHATTACHARJEE, S. Sites of Generation and Physicochemical Basis of Formation of Reactive Oxygen Species in Plant Cell. In GUPTA, S.D. (Ed.). *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants*

HELALY, M. N., EL-HOSEINY, H., EL-SHEERY, N. I., RASTOGI, A., AND KALAJI, H. M. Regulation and physiological role of silicon in alleviating drought stress of mango. *Plant Physiol. Biochem.* 118, 31–44. (2017).

- HIRAGA, S; SASAKI, K; ITO, H, OHASHI, Y; MATSUI, H. A large Family of class III plant peroxidases. In: *Plant cell physiology*. v.42. p. 462-468. 2001
- KRISHNA H; SINGH, S. K. Biotechnological advances in mango (*Mangifera indica* L.) and their future implication in crop improvement – A review. In: *Biotechnology Advances*. v.27. p.223-243. 2007
- LI, X; ZHONG, Q; LI, Y; LI, G; DING, Y; WANG, S; LIU, Z; TANG, S; DING, C; CHEN, L. Triaccontanol reduces transplanting shock in machine-transplanted rice by improving the growth and antioxidant systems. In: *Frontiers. Plant Science*. v.7 n.1. 2016
- LOKA, D. A; OSTERHUIS, M. D; BAXEVANOS, D. NOULAS, C; HU, WEI. Single and combined effects of heat and water stress and recovery on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf physiology and sucrose metabolism.
- MARTINEZ-BALLESTA, M; ALCARAZ-LÓPEZ, C; MURIES, B; CADENAS-MOTA, C; CARVAJAL, M. Physiological aspects of rootstock-scion interactions. In: *Scientia Horticulturae*. v. 127, n.1, pag. 112-118. 2010.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.
- MCCREADY, R.M., GUGGOLZ, J., SILVEIRA, V. e OWENS, H.S. Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas. *Analytical Chemistry*. 22: 1156-1158, 1950.
- MCCREADY, R.M., GUGGOLZ, J., SILVEIRA, V. e OWENS, H.S. Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas. *Analytical Chemistry*. 22: 1156-1158, 1950.
- MELO, H. F; SOUZA, E. R; CUNHA, J. C. Fluorescence of chlorophyll a and photosynthetic pigments in *Atriplex mummularia* under abiotic stresses. In: *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. v.21. p.232-237. 2017
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach Chloroplast. *Plant Cell Physiology*. v. 22, p. 867-880, 1981.
- OLIVEIRA, G. P; SIQUEIRA, D. L; CECON, P.R; SALOMÃO, L. C. C. Teore de carboidratos em mangueira “Ubá” submetida a diferentes doses de paclobutrazol. In: *Revista de Ciências Agrárias*. v. 41. p.749-756. 2018
- PAUL, M., DIJCK, P. How do sugars regulate plant growth? In: *Front. Plant sci.* 2, 70. 2011
- PERCIVAL, G. CRISELDA AND GILLIAN FRASER. Use of sugars to improve root growth and increase transplant success of Birch (*Betula pendula* Roth). 2005.

RIAZI, A., MOTSUDA, K. e ARSLON, A. Water – stress induced changes in concentrations of prolines and other solutes in grower regions of young barley leaves. *Journal of Experimental Botany* 172: 1716-1725, 1985.

RIBEIRO, S. M.R; SCHIEBER, A. Bioactive Compounds in mango (*Mangifera indica* L.). In *Bioactive foods in promoting health: Fruits and vegetables – Capítulo 5*. Elsevier Inc. 2010

SAMIR F, YUSUF M, FAIZAN M, FARAZ A, HAYAT S . Role of sugars under abiotic stress. In: *Plant Physiol Biochem* 109: 54–61. 2016

SBCS (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIENCIAS DO SOLO). A ciência do solo e o desastre de Mariana. *Boletim informativo issn 1981-979x*. v.42 n.1, 2016.

SEMIDA, W. M; EL-MAGEED, T. A; HOWLADAR, S. M. A Novel organomineral fertilizer can alleviate affects of salinity stress for eggplant production on reclaimed saline calcareous soil. In: *Growing Media & Soilless Cultivation*. v.xxx. 2014

SHARMA, D; AWASTHI, M. D. Uptake of soil applied paclobutrazol in mango (*Mangifera indica* L.) and its persistence in fruit and soil. In: *Chemosphere*. v.60. p. 164-169. 2005

SOUZA DIAS, M., MARQUES, D., & BIANCHINI, H. Fertilization with Silicon in Sweet Pepper Improved Plants Grown under Salt Stress. *Journal of Experimental Agriculture International*, 40(2), 1-12 2019

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, 2018.

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., 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

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. (Ed.), *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation*. Taylor and Francis. London. cap. 25. p. 443 – 480. 2000.

THALMANN, M; SANTELIA, D. Starch as determinat plant fitnes under abiotic stress. In: *New Phytologist*. v.214. pag.943-951. 2017

TSIMILLI-MICHAEL, M.. Revisiting JIP-test: An educative review on concepts, assumptions, approximations, definitions and terminology. In: *Photosynthetica*. 57. 90-107. 10.32615/ps.2019.150. 2019

TU, B; LIU, C; ZHANG, Q; LIU, X; HEBERT, S. Reduced Abscisic acid content is responsible for enhanced sucrose accumulation by potassium nutrition in vegetable soy bean seeds. In: *Jornal Plant Reserach*. v.xxx. 2016

UNDERHILL, S. J. R; CRITCHLEY, C. Cellular localisation of polyphenol oxidase and peroxidase activity in *Licthi chinensis* Sonn pericarp. In: *Jornal Plant Physiology*. v.22. pag 627-632.

VALADÃO, F. C. A., O. L. S. WEBER, D. D. VALADÃO JUNIOR, A. SCAPINELLI,

VIANA, J. H. M.; COSTA, A. M. da A ciência do solo como instrumento para a recuperação das áreas afetadas pelo desastre de Mariana e dos solos na Bacia do Rio Doce. Embrapa Milho e Sorgo. *Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 42, n. 1, p. 24-27, 2016.

VIANA, J. H. M.; COSTA, A. M. da A ciência do solo como instrumento para a recuperação das áreas afetadas pelo desastre de Mariana e dos solos na Bacia do Rio Doce. Embrapa Milho e Sorgo. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 42, n. 1, p. 24-27, 2016.

VIECCELLI, J. C; ARAUJO, L; LOPES, U. P; SIQUEIRA, D. L; RODRIGUES, F. A. Development of mango wilt in mango cultivars submitted to salt stress. In: *Basic Areas*. v.76. p. 372-377. 2017

WAYZKOWSKA, J; BOROWIK, A; KUCHARSKI, M; BACMAGÁ, M; TOMKIEL, M; LAJSZNER, E. The effect of organic fertilizers on the biochemical properties of soil contaminated with zinc. In: *Plant soil Environmetral*. v.59. p.500-504.

WEIDLICH, E. W. A; PESCADOR, R; UHUMANN, A. Alocação de recursos (carboidratos) no desenvolvimento inicial de plântulas de *Schizolobium parahyaba* (Vell.) S. F. Blake (FABACEAE – CAESALPINOIDAE). In: *Revista Arvore*. v.34. p.627-635. 2010

ZAHOOR, R; DONG, H; MUHAMMAD, A; ZHAO, W. WANG, Y; ZHOU, Z. Potassium fertilizer improves drought stress alleviation potential in cotton by enhancing photosynthesis and carbohydrate metabolism. In: *Environmental and experimental botany*. v.xxx. p.xxx. 2017.

