CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
CEFET MG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PRODUTOS E PROCESSOS

TÁRSSIA ALVES FERREIRA

NICHOS CONSTRUÍDOS COM BIOCOMPOSITO DE BIOMASSA FÚNGICA:
avaliação da propriedade mecânica, biorreceptividade e ecotoxicidade.

BELO HORIZONTE

2024

TÁRSSIA ALVES FERREIRA

NICHOS CONSTRUÍDOS COM BIOCOMPOSITO DE BIOMASSA FÚNGICA: avaliação da propriedade mecânica, biorreceptividade e ecotoxicidade.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Produtos e Processos, do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Produtos e Processos.

Orientadora: Profª. Drª. Andréa Rodrigues Marques
Coorientadora: Profª. Drª Fernanda Badotti
Coorientadora: Profª. Drª Patricia Sueli de Rezende

Agência Financiadora: Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais

BELO HORIZONTE
2024

AGRADECIMENTOS

Seria impossível descrever em poucas linhas a importância de todas as pessoas que participaram desta jornada. Ainda assim, gostaria de registrar meu reconhecimento e minha eterna gratidão especialmente:

Ao CEFET-MG pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa de mestrado, que foi essencial para a realização deste curso.

Aos professores que me orientaram durante essa jornada, especialmente às minhas orientadoras Andréa Rodrigues Marques, Patrícia Sueli de Rezende e Fernanda Badotti, pelo ensinamento, suporte, carinho e paciência ao longo de todo o processo.

Minha gratidão à professora Raquel Mambrini, coordenadora do programa, por seu apoio constante, incentivo e inestimável colaboração.

Agradeço também aos departamentos de Química do CEFET-MG e da UFMG, ao Departamento de Ciências Biológicas do CEFET-MG e a todos os seus colaboradores.

Ao Intechlab, laboratório de prototipagem do CEFET-MG, especialmente à Ingrid e Ítalo, pelo suporte nos ensaios de compressão.

Aos meus amigos de curso, Brenda, Laíza, Marcos, Sávio e Jéssica, agradeço por tornarem essa jornada mais leve e agradável e pelos bons momentos que passamos juntos.

Ao meu esposo, Lucas, agradeço a paciência e por compreender minha ausência durante essa fase.

Ao meu irmão, Bruno, meu companheiro de vida.

À minha inseparável companheira de quatro patas, Pretinha, com sua presença torna meus dias mais leves.

Aos meus mestres de vida, meus amados pais, Carlos e Glória, que, embora não estejam mais presentes neste plano, continuam a ser minha força e guia, com seu amor que extrapola as barreiras.

Por fim, agradeço a Deus e à espiritualidade por me fortalecerem nos momentos em que pensei que não conseguiria seguir em frente.

"Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si e levam um pouco de nós. "

Pequeno príncipe. Saint Exupéry

RESUMO

O Nicho Construído (NC) é uma alternativa ecológica proposta para a recuperação ambiental de áreas degradadas pela mineração de ferro. Essa abordagem envolve a criação de um ambiente que possa ser colonizado por diversos organismos, mimetizando nichos ecológicos pré-existentes. O NC é constituído por solo da área a ser restaurada, rejeito de minério de ferro e um agente aglomerante, que pode ser argila, cimento ou biocompósitos produzidos por microrganismos, os quais têm se mostrado uma escolha sustentável. O presente estudo teve como objetivo confeccionar Nichos Construídos com compósito de massa fúngica e avaliar sua resistência mecânica, biorreceptividade e ecotoxicidade. A biorreceptividade foi avaliada através do crescimento de organismos em amostras incubadas em câmara germinadora, por um período de até 180 dias. A resistência mecânica dos NCs foi avaliada por meio de ensaios de compressão. Os testes de ecotoxicidade foram realizados através de testes de germinação utilizando diversos lixiviados aquoso e ácidos (ácido acético, ácido clorídrico e extrator de Mehlich) dos materiais constituintes do NC (topsoil, rejeito de minério de ferro e biocompósito), com o objetivo de produzir lixiviados que simulassem condições ambientais capazes de liberar metais no solo. Os lixiviados gerados foram analisados por espectrometria de absorção atômica para quantificar a presença de elementos como Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn. Utilizou-se para os testes de germinação sementes de *Lactuca sativa*, *Brassica oleracea*, *Oryza sativa* e *Cucumis sativus*. Os resultados indicaram o crescimento de organismos fotobiontes, como algas, gramíneas (Fabaceae), briófitas e protalos de pteridófitas, somente no *topsoil* e na mistura *topsoil* e rejeito. Os ensaios de resistência mecânica mostraram que os NCs com diferentes proporções de biocompósito (5%, 10% e 15%) é baixa e não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre eles. A lixiviação dos metais foi inferior a 2% da concentração total do solo de referência da região do Quadrilátero Ferrífero, o que indica a ausência de risco de contaminação associado ao NC. Além disso, os teores desses metais não afetaram significativamente a germinação das sementes de hortaliças, pois as porcentagens de germinação foram superiores a 70%. Para o lixiviado com ácido acético (pH 2,74) observou-se uma inibição da germinação e um aumento no tempo de germinação atribuídos às características ácidas do lixiviado. As análises de biorreceptividade e ecotoxicidade confirmaram que não há risco de contaminação para o ambiente com o uso de rejeito de minério de ferro no NC. O compósito de massa fúngica diminuiu a resistência do NC em relação ao uso do cimento e, possivelmente, inibiu o crescimento de fotobiontes. O Nicho Construído é um produto promissor e seguro para a restauração de áreas degradadas pela mineração nos Campos Rupestres Ferruginosos, mas são necessários mais estudos com outros aglomerantes sustentáveis.

Palavras-chave: Nichos construídos; Biocompósito; Fitoxicidade; Rejeito de minério de ferro; Campo Rupestre Ferruginoso, Recuperação ambiental.

ABSTRACT

The Constructed Niche (CN) is an ecological alternative proposed for the environmental recovery of areas degraded by iron mining. This approach involves the creation of an environment that can be colonized by various organisms, mimicking pre-existing ecological niches. The CN consists of soil from the area to be restored, iron ore tailings and a binding agent, which can be clay, cement or biocomposites produced by microorganisms, which have shown to be a more sustainable choice. The present study aimed to manufacture Constructed Niches with fungal mass composite and evaluate their mechanical resistance, bioreceptivity and ecotoxicity. Bioreceptivity was evaluated through the growth of organisms in samples incubated in a germination chamber for a period of up to 180 days. The mechanical resistance of the CNs was tested by means of compression tests. Ecotoxicity tests were performed through germination tests using various aqueous and acidic leachates (acetic acid, hydrochloric acid and Mehlich extractant) of the constituent materials of the NC (topsoil, iron ore tailings and biocomposite), with the aim of producing leachates that simulated environmental conditions capable of releasing metals into the soil. The leachates generated were analyzed by atomic absorption spectrometry to quantify the presence of elements such as Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn. Seeds of *Lactuca sativa*, *Brassica oleracea*, *Oryza sativa* and *Cucumis sativus* were used for germination tests. The results indicated the growth of photobiotic organisms, such as algae, grasses (Fabaceae), bryophytes and pteridophyte prothalli, only in the topsoil and in the topsoil and tailings mixture. Mechanical strength tests showed that NCs with different proportions of biocomposite (5%, 10% and 15%) were low and did not present statistically significant differences between them. Metal leaching was less than 2% of the total concentration of the reference soil in the Iron Quadrangle region, which indicates the absence of contamination risk associated with NC. Furthermore, the levels of these metals did not significantly affect the germination of vegetable seeds, since the germination percentages were higher than 70%. For the leachate with acetic acid (pH 2,74), an inhibition of germination and an increase in germination time were observed, attributed to the acidic characteristics of the leachate. Bioreceptivity and ecotoxicity analyses confirmed that there is no risk of contamination to the environment from the use of iron ore tailings in NC. The fungal mass composite decreased the resistance of NC in relation to the use of cement and possibly inhibited the growth of photobionts. The Constructed Niche is a promising and safe product for the restoration of areas degraded by mining in the Campo Rupestre Ferruginoso, but further studies are needed with other sustainable binders.

Keywords: Constructed Niches; Biocomposite; Phytotoxicity; Iron ore tailings; Campo Rupestre Ferruginoso, Environmental recovery.

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 : Matérias-primas dos Nichos Contruídos e as porcentagens (%) utilizadas respectivamente. 23

Quadro 2 : Condições de operação do Instron EMIC 23-20. 24

Quadro 3 : Condições de operação do Spectra AA 55B 25

Quadro 4 : Informações comerciais das sementes. 27

Tabela 1: Resistência mecânica à compressão (MPa) dos nichos construídos com biocompósito fúngico (BCF) e cimento durante o tempo de incubação. 31

Tabela 2: Concentração de elementos no *topsoil* e rejeito de algumas regiões do Quadrilátero Ferrífero. 37

Tabela 3. Teores de Al, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn extraídos a partir de ensaios de lixiviação com diferentes extratores 38

Tabela 4. Teor Al, Fe, Mn e Zn extraídos a partir de ensaios de lixiviação 55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa geral do Quadrilátero Ferrífero e sua inserção no estado de Minas Gerais. 6

Figura 2: Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa. 18

Figura 3: Área de estudo na Serra da Piedade.....20

Figura 4: Etapas da produção do biocompósito fúngico 21

Figura 5: Nichos Construídos nas formas dos corpos de prova. 23

Figura 6: Esquema do delineamento experimental dos testes de germinação com vários lixiviados. 28

Figura 7: Aspecto dos Nichos Construídos com biocompósito fúngico (BCF) após o processo de cura por 10 dias. 31

Figura 8: Desenvolvimento de organismos em NCs contendo Biocompósito Fungico..32

Figura 9: Desenvolvimento de organismos em NCs contendo Biocompósito.....33

Figura 10: Desenvolvimento de organismos ao longo do período de incubação com 40 dias no topsoil e topsoil+ rejeito 34

Figura 11: Crescimento de organismos durante o período de incubação.....35

Figura 12. Porcentagem de germinação (G%) das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água e lixiviados aquosos. 43

Figura 13. Tempo médio de germinação (TMG) em dias das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água e lixiviados aquosos. 44

Figura 14. Porcentagem de germinação (G%) de sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 4,55 e lixiviados ácidos (ácido acético pH 4,55). 46

Figura 15. Tempo médio de germinação (TMG) em dias das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 4,55 e lixiviados ácidos (ácido acético pH 4,55).47

Figura 16. Porcentagem de germinação (G%) das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 3,5 e lixiviados ácidos (ácido acético pH 3,5). 49

Figura 17. Tempo médio de germinação (TMG) em dias das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 3,5 e lixiviados ácidos (ácido acético pH 3,5). ...50

Figura 18. Porcentagem de germinação (G%) das sementes de (*Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz); *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 2,74 e lixiviados ácidos (acético pH 2,74).....52

Figura 19. Tempo médio de germinação (TMG) em dias das sementes de *(Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz); *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 2,74 e lixiviados ácidos (acético pH 2,74).....53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BC	-	Biocompósito
BCR	-	*Bureau Communautaire de Référence*
BDA	-	Batata Dextrose Ágar
BP	-	Biopolímero
BCF	-	Biocompósito fúngico
CR	-	Campo Rupestre
CRF	-	Campo Rupestre Ferruginoso
CBS	-	Crosta biológica do solo
EPT	-	Elemento potencialmente tóxico
LD	-	Limite de Detecção
NBR	-	Norma Brasileira
NC	-	Nicho Construído
OECD	-	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
QF	-	Quadrilátero Ferrífero
R	-	Rejeito
SPE	-	Substância Polimérica extracelular
T	-	*Topsoil*
TR	-	*Topsoil*, Rejeito
TRC	-	*Topsoil*, Rejeito, Cimento
TRB	-	*Topsoil*, Rejeito, Biocompósito
TMG	-	Tempo Médio de Germinação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

2. OBJETIVOS 3

2.1 OBJETIVO GERAL 3

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 3

3 REFERENCIAL TEÓRICO 4

3.1 A ATIVIDADE DE MINERAÇÃO: UMA PREOCUPAÇÃO AMBIENTAL NO QUADRILÁTERO FERRÍFERO 4

3.2 O CAMPO RUPESTRE FERRUGINOSO E A RELEVÂNCIA DE SUA CONSERVAÇÃO 5

3.3 NICHOS CONSTRUÍDOS COMO UMA ALTERNATIVA DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS 8

3.4 BIOPOLÍMEROS COM PROPRIEDADES LIGANTES 10

3.5 METAIS NO SOLO: IMPACTOS NA QUALIDADE AMBIENTAL 12

3.6 AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE METAIS 13

3.6.1 Determinação de metais por extração 14

3.6.2 Ensaios de fitotoxicidade 15

4. MATERIAIS E MÉTODOS 17

4.1 COLETA DAS AMOSTRAS 19

4.2 CONFECÇÃO DO AGLOMERANTE DO NC DE BIOCOMPÓSITO FÚNGICO 21

4.3 CONFECÇÃO DOS NICHOS CONSTRUÍDOS 22

4.4 ENSAIO DE RESISTÊNCIA MECÂNICA À COMPRESSÃO 24

4.5 INCUBAÇÃO DOS NICHOS CONSTRUÍDOS EM LABORATÓRIO 24

4.6 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS NOS LIXIVIADOS 25

4.6.1 Extração parcial empregando ácido clorídrico diluído 25

4.6.2 Extração empregando Reagente de Mehlich-1 26

4.6.3 Extração empregando ácido acético 0,11 mol L-1 26
4.6.4 Extratores brandos: Simulação ambiental 26
4.7 TESTES DE GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE HORTALIÇAS IRRIGADAS COM OS LIXIVIADOS 27
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA 29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 30
5.1 RESISTÊNCIA MECÂNICA E BIORRECEPTIVIDADE DOS NCS 30
5.1 AVALIAÇÃO DOS ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS (EPT) NOS NICHOS CONSTRUÍDOS E SEUS CONSTITUINTES 36
5.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS LIXIVIADOS NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE HORTALIÇAS 42
6. CONCLUSÃO 56
7. REFERÊNCIAS 57
ANEXO 69

1. INTRODUÇÃO

A indústria de mineração é um dos pilares da economia brasileira, no entanto, interfere diretamente na qualidade do solo, do ar, da água e da biodiversidade, além de gerar uma quantidade considerável de resíduos, tornando-se um desafio o descarte destes (Farjana *et al*., 2019). Um dos ambientes mais degradados no Brasil em função da extração de minério de ferro é o Campo Rupestre (CR), o qual está associado aos depósitos de hematita, que formam afloramentos rochosos, e alta biodiversidade endêmica (Skirycz *et al*., 2014; Schaefer *et al*., 2016). O CR no Quadrilatero Ferrífero é encontrado tanto em substratos não-ferruginosos quanto nos ferruginosos (localmente conhecidos como canga) amplamente distribuídos nos planaltos e altitudes acima de 900 e até 2.000 m (Mendonça *et al*., 2019, Fernandes-Filho *et al*., 2022).

Os Campos Rupestres Ferruginosos (CRF) constituem o ecossistema de canga, formado por conglomerados de micro-habitats distintos, demonstrando uma notável biodiversidade, abrigando espécies de plantas rupestres naturais e endêmicas em suas superfícies rochosas (Azevedo *et al*., 2011; Jacobi *et al*., 2007; Skirycz *et al*., 2014). Cada um desses micro-habitats abriga uma comunidade de plantas distintas, cuja distribuição está relacionada à micro-topografia da área, aos substratos presentes, à estrutura do solo superficial, à profundidade e à umidade. Os CR estão expostos a condições climáticas extremas, como flutuações diárias significativas de temperatura, intensa radiação ultravioleta, ventos fortes e uma estação seca acentuada. Os solos são rasos, com baixos teores de nutrientes e de matéria orgânica, além de pouca capacidade em reter e disponibilizar água para as plantas (Skirycz *et al*., 2014; Fernandes *et al*., 2014).

Diante da dificuldade em restaurar essas áreas degradadas pelas atividades minerárias, Marques *et al*. (2017), propuseram uma ferramenta potencialmente promissora, denominada Nicho Construído (NC). Este pode ser capaz de criar um ambiente colonizável por diversos organismos da região degradada ou trazerem consigo componentes bióticos capazes de reabilitar espécies nesse ambiente. Os NCs são constituídos pelo *topsoil* (camada superficial do solo) da área a ser restaurada, rejeito de minério de ferro e aglomerante, que confere estrutura para o material. Chase e Leibold (2009) definem nicho ecológico, como o conjunto de requerimentos de uma espécie para viver em um dado ambiente e seus efeitos sobre este ambiente. Diferentemente de um habitat, um nicho considera, não somente o espaço, mas também variáveis ambientais e as interações bióticas. Dessa forma, em um habitat podem-se encontrar muitos nichos (Booget *et al*., 2006). Torna-se importante então, trazer a biota natural

do ambiente e, por isso, propõe-se usar o solo da região que será restaurada (Marques *et al*., 2017; Couto, 2020).

Outra questão importante para a funcionalidade do NC é ter características físico-químicas semelhantes às do solo da canga, que é rico em óxido de ferro com pouca sílica, baixos teores de fósforo e micronutrientes (Schaefer *et al*., 2015). Marques *et al*. (2017) e Couto (2020) usaram como constituinte do NC o rejeito de minério de ferro com o objetivo de dar uso a este resíduo que, atualmente, é acumulado em barragens (Farjana *et al*., 2019) e trazer as características típicas de um solo de canga. No entanto, existem várias controvérsias sobre a toxicidade do rejeito de minério de ferro e seu uso em áreas naturais ou em processo de recuperação ambiental, devido a presença de possíveis elementos potencialmente tóxicos (EPT). Silva *et al*. (2022), ressaltaram que os rejeitos da mineração de ferro são caracterizados por altas concentrações de óxidos de ferro e manganês, além de poder conter outros metais potencialmente tóxicos. Porém, devido ao pH elevado, esses metais tornam-se indisponíveis, mas, caso ocorra a acidificação dos rejeitos, devido a processos químicos e bioquímicos, os poluentes e metais podem se tornar mais disponíveis.

Uma vez que os componentes principais (*topsoil* e rejeito de mineração de ferro) foram determinados, existia a necessidade de dar forma aos NCs e, para tanto, Marques *et al*. (2017) e Couto (2020) utilizaram cimento como uma substância aglomerante. Porém, cabe mencionar que o uso do cimento pode aumentar o pH do solo, além de ser um agente estranho e poluente no ambiente. Uma alternativa ecologicamente amigável são os biopolímeros, que têm sido relatados como aglomerantes cimentícios (Chang *et al*., 2020) e podem ser interessantes na fabricação dos NCs. Esses polímeros naturais são compostos por polissacarídeos, proteínas e DNA, que são produzidas por sistemas biológicos como plantas, animais, microrganismos (Costa *et al*., 2018; Luft *et al.* 2020). Santos (2022), demonstrou que a utilização de micélio fúngico na produção de biocompósito (micocompósito) representa uma alternativa promissora à substituição do cimento, embora requeira mais estudos.

Devido à biodiversidade endêmica dos CRF, existe a necessidade de preservá-los. Portanto, este estudo tem como objetivo aprimorar os NCs para auxiliar na recuperação de ambientes degradados pela mineração no ecossistema de canga dos CRF. Algumas questões foram levantadas: 1) Os Nichos Construídos com biocompósito de biomassa fúngica em diferentes proporções alteram sua resistência mecânica e a biorreceptividade (capacidade de suportar e promover o crescimento de organismos vivos)? 2) Os constituintes do Nicho Construído (*topsoil*, rejeito de minério de ferro) e suas combinações com cimento e biocompósito apresentam teores elevados de elementos potencialmente tóxicos? 3) Os

lixiviados produzidos por extração aquosa e ácida do *topsoil*, rejeito de minério de ferro e dos Nichos Construídos afetam a germinabilidade de sementes de hortaliças?

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Confeccionar Nichos Construídos (NCs) com compósito de biomassa fúngica e avaliar características mecânicas, biorreceptividade e sua ecotoxicidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Confeccionar Nichos Construídos tendo como constituinte biocompósitos de biomassa fúngica em diferentes proporções;
- Realizar ensaios de compressão mecânica nos Nichos Construídos com diferentes proporções de biocompósito;
- Observar a biorreceptividade através da colonização de organismos macroscópicos na superfície dos Nichos Construídos, *topsoils* e rejeito de minério de ferro durante 180 dias de incubação;
- Determinar os teores de Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn em lixiviados de amostras de rejeito de minério de ferro, *topsoil* e NCs;
- Realizar testes de ecotoxicidade através da germinação com sementes de *Lactuca sativa* (alface), *Brassica oleracea* (Couve), *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) com diferentes lixiviados aquosos e ácidos do *topsoil*, rejeito de minério de ferro e NCs.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A ATIVIDADE DE MINERAÇÃO: UMA PREOCUPAÇÃO AMBIENTAL NO QUADRILÁTERO FERRÍFERO

A extração de minério é uma atividade econômica essencial para o desenvolvimento de muitos países, sendo fundamental para vários segmentos industriais, desde a agricultura até o desenvolvimento de tecnologia de ponta. Esse setor desempenha um papel crucial no crescimento geral do produto interno bruto de diversos municípios brasileiros que têm sua economia fortemente baseada na exploração mineral (Farjana *et al*., 2019). Segundo dados do Ministério de Minas e Energia, em 2022 o segmento de mineração e indústria da transformação mineral representava quase 2,5% do PIB do Brasil. O setor faturou cerca de 250 bilhões de reais e gerou 2,25 milhões de empregos ao longo da cadeia e mercado (Brasil, 2022; Ibram, 2022).

As maiores jazidas de minério de ferro do mundo estão localizadas no Brasil, Austrália, China, Índia, Rússia e Estados Unidos (Caxito; Dias, 2017). O Brasil e a Austrália assumem posição de destaque na produção mundial de minério de ferro (USGS, 2017). No território brasileiro, as principais regiões produtoras de minério de ferro incluem o Quadrilátero Ferrífero (QF) de Minas Gerais (Brumadinho, Congonhas, Itabirito, Mariana, Nova Lima e Ouro Preto), a Província Mineral de Carajás no Pará e a região de Corumbá (Urucum) no Mato Grosso do Sul (Brasil, 2022; Ibram 2022).

Apesar do grande interesse econômico, a mineração interfere diretamente na qualidade do solo, do ar, da água e da biodiversidade, além de gerar uma quantidade considerável de resíduos (Mandai *et al*., 2021). O descarte de uma quantidade tão expressiva de rejeitos torna-se um desafio, pois pode ser prejudicial para diversos compartimentos ambientais (Farjana *et al.*, 2019). Estima-se que no Brasil a geração de rejeitos de minério de ferro corresponda a cerca de 20-40%, em massa, do total da mineração de ferro (Carmignano *et al.*, 2021). Os rejeitos de mineração podem ser dispostos de diferentes formas, dependendo do tipo de mineral e do processo de extração. Elaw (2010), destacou que os rejeitos podem ser armazenados em minas subterrâneas, em empilhamento a seco, disposição em pasta ou em barragens de contenção. A disposição de rejeitos em barragens é a mais comum no Brasil, método de descarte que ocasionou duas grandes tragédias no Estado de Minas Gerais. Em 2015 cerca de 60 milhões de toneladas de rejeito de minério de ferro devastou Bento Rodrigues, no distrito de Mariana, sendo considerado o desastre industrial de maior impacto ambiental do mundo envolvendo barragens de rejeitos (Almeida *et al.*, 2018). O segundo desastre ocorreu em 2019, na cidade de

Brumadinho, quando aproximadamente 13 milhões de toneladas de rejeito foram liberadas no ambiente. Os impactos humanos, sociais e ambientais destas catástrofes são imensuráveis (Vergilio; Lacerda; Oliveira, 2020).

Estudos indicam que os rejeitos de minério de ferro são compostos principalmente por Fe_2O_3, SiO_2, Al_2O_3, MnO e elementos traço (Cr, Pb, Zn, Cd, As e Cu) (Ferreira *et al*, 2021; Queiroz *et al.*, 2018). A dominância destes elementos está associada às características do minério extraído (por exemplo, rochas itabiríticas). No entanto, não foram detectadas concentrações de metais potencialmente tóxicos no rejeito proveniente da mineração do Quadrilátero Ferrífero que ultrapassassem os valores de referência estabelecidos pela Resolução CONAMA 420/09 (Quadra *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022; Queiroz *et al.*, 2018). Alguns autores, ressaltaram que a alcalinidade (pH em torno de 8) do rejeito tende a resultar em uma menor disponibilidade dos cátions metálicos, devido à predominância de superfícies carregadas negativamente (onde os íons metálicos tendem a serem atraídos, passando de uma forma dissolvida, para uma forma sólida) e à possibilidade de ocorrência de precipitação de metais nessas condições (Silva *et al.*, 2022; Quadra *et al.*, 2019). No entanto, caso ocorra acidificação dos rejeitos devido a diversos processos químicos e bioquímicos, entre eles alteração do pH, reações de oxirredução, força iônica, competição de metais por sítios de adsorção, ação dos microrganismos, dentre outros fatores, podem tornar esses elementos mais disponíveis (Pierangeli *et al*., 2005). Isso ocorre devido à liberação de parte dos metais que estavam adsorvidos em óxidos de ferro e outros materiais coloidais, quando ocorre uma redução do pH (Queiroz *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2022).

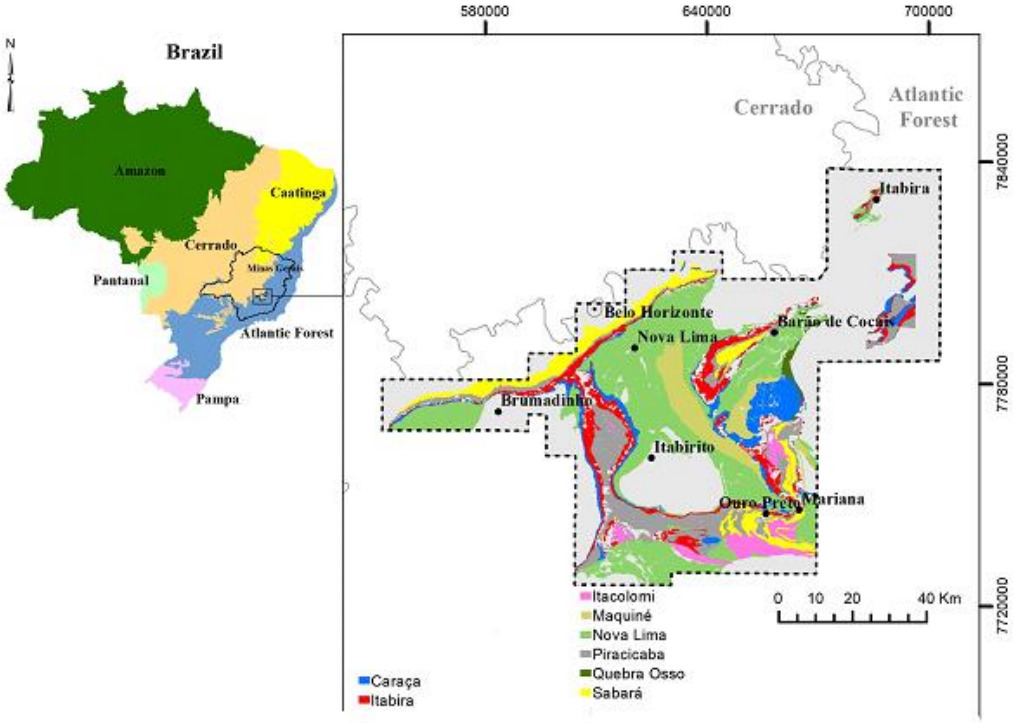
3.2 O CAMPO RUPESTRE FERRUGINOSO E A RELEVÂNCIA DE SUA CONSERVAÇÃO

A degradação ambiental causada pela construção e manutenção de barragens de resíduos é um dos impactos mais significativos oriundos da mineração. Quando se avalia essa degradação no Quadrilátero Ferrífero (QF), percebe-se que é ainda mais impactante. Essa perspectiva se deve ao fato de ser uma área que abriga uma vegetação única ameaçada de extinção conhecida como Campo Rupestre (CR), um mosaico de vegetação gramínea-arbustiva com afloramentos rochosos caracterizados pela alta riqueza florística e endêmica (Skirycz *et al*., 2014; Fernandes-Filho *et al.*, 2022).

O QF está situado na porção sul da Cadeia do Espinhaço, corta o Estado de Minas Gerais no sentido Norte-Sul (Figura 1) e é reconhecido nacional e internacionalmente por sua

significativa produção mineral. A exploração mineral nessa região teve início com a extração de ouro durante o século XVII. Além de abrigar importantes operações de mineração de ferro e ouro, a região também abriga diversos empreendimentos que exploram jazidas de rochas e minerais variados, tais como topázio e bauxita (Marent *et al.*, 2011).

Figura 1: Mapa geral do Quadrilátero Ferrífero e sua inserção no estado de Minas Gerais.



Fonte: Fernandes-Filho *et al.*, 2022

O Campo Rupestre do QF é encontrado tanto em substratos não ferruginosos quanto em ferruginosos. Os substratos ferruginosos apresentam alta concentração de óxidos ricos em ferro, que formam sobre o relevo capas duras e escuras, que são altamente resistentes aos processos de erosão. Esse ambiente edáfico é conhecido como *canga*, que se originou há milhões de anos como resultado do processo de intemperismo de rochas ferríferas subjacentes (itabiritos e diamictitos) e posteriormente enriquecimento de ferro, resultando em extensas couraças que podem atingir dezenas de metros de espessura, abrangendo áreas que se estendem por milhares de hectares (Fernandes-Filho *et al*., 2022; Caxito; Dias, 2018; Jacobi, 2007).

No Brasil, ecossistemas de *canga* são mais expressivos no QF, mas também ocorrem na Serra dos Carajás (Pará), no Caetité (Bahia), na Morraria de Urucum (Mato Grosso do Sul) e na Flona de Carajás (Amazonas) (Coelho *et al.*, 2017; Skirycz *et al*., 2014). Segundo Fernandes-

Filho *et al.* (2022), diferentes termos têm sido usados para descrever a vegetação associada às cangas, como campos ferruginosos, savanas, campos rupestres ferruginosos e vegetação laterítica. Neste trabalho o termo adotado será Campo Rupestre Ferruginoso (CRF).

A cobertura vegetal do CRF é partilhada entre os biomas do Cerrado e da Mata Atlântica (Azevedo *et al*., 2011; Jacobi *et al.*, 2007; Skirycz *et al*., 2014). O ecossistema do CRF é formado por conglomerados de micro-habitats distintos, demonstrando uma notável biodiversidade, abrigando espécies de plantas rupestres naturais e endêmicas em suas superfícies rochosas. Independente do substrato, os ecossistemas presentes nos CRs, são adaptados à alta exposição solar, ventos constantes, baixa precipitação pluviométrica, amplitudes térmicas diárias acentuadas, baixa retenção de água, solos rasos, baixa fertilidade, além de incidência frequente de fogo (Jacobi *et al*., 2007). A alta taxa de transpiração e a baixa capacidade do solo em reter água representam desafios significativos para as plantas durante períodos de escassez hídrica (Skirycz *et al*., 2014). Adicionado a essas características, os solos que formam o CRF conservam as características herdadas do próprio substrato ferrífero. Esses solos apresentam composição mineralógica predominante de óxidos de ferro, com baixa presença de sílica e resíduos de alumina, geralmente na forma de gibbsita. Os solos de *canga* exibem teores significativamente baixos de silício, fósforo e micronutrientes, além de conter níveis tóxicos de alumínio e alguns outros metais (Cu, Ni, Zn, Cr e Pb). É importante destacar que a toxicidade do metal é agravada pelo baixo pH do solo (pH~ 4,0), o que aumenta sua mobilidade e, portanto, a disponibilidade para absorção pelas raízes das plantas (Schaefer *et al*., 2015; Skirycz *et al*., 2014).

A vegetação dos CRF apresenta uma variedade de adaptações anatômicas, morfológicas, fisiológicas e reprodutivas que permitem sua sobrevivência em um ambiente com condições abióticas severas (Schaefer *et al*., 2015; Skirycz *et al*., 2014; Jacobi *et al*., 2007). A alta diversificação, adaptação e endemismo vegetal, provavelmente ocorre devido à combinação singular de altitude e condições geomorfológicas de relevo no QF, podendo induzir ao isolamento genético. Exemplos notáveis são a tolerância aos metais e o desenvolvimento de características xeromórficas nas plantas, que atuam na proteção contra a desidratação (Skirycz *et al*., 2014). Estima-se que o CRF abrigue cerca de 5.000 espécies de plantas nativas, representando aproximadamente 15% de toda a flora vascular brasileira em uma área menor que 1% do território brasileiro (Colli-Silva *et al.*, 2019).

O CRF sofre impactos expressivos devido à extração de minério de ferro e depósitos de rejeitos, e, portanto, demandam atenção para conservação e recuperação (Marques *et al*., 2017). A restauração desse ecossistema é de fundamental importância para a reintrodução dos

microrganismos que desempenham um papel crucial no ciclo biogeoquímico do ferro, além de promover o reestabelecimento das espécies vegetais, como destacado por Gagen *et al*. (2019). No entanto, a implementação de programas de reabilitação para os ecossistemas de *canga* tem se revelado uma tarefa extremamente desafiadora, principalmente devido à lacuna de conhecimento que envolve esse ecossistema (Skirycz *et al.* 2014). A condução de estudos pedológicos específicos na região do QF demonstra ser de grande importância para o desenvolvimento de técnicas específicas voltadas à restauração da vegetação nativa e para o entendimento mais profundo da interação entre o ambiente e a vegetação em áreas impactadas pela atividade mineradora (Vieira, 2010).

3.3 NICHOS CONSTRUÍDOS COMO UMA ALTERNATIVA DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS

É evidente que os CRF apresentam uma alta biodiversidade endêmica, sendo importante sua preservação e restauração. Porém, restaurar esses ecossistemas é uma tarefa desafiadora para a ciência, uma vez que não existem técnicas consagradas que possam ser empregadas para recuperar atributos florísticos dessas áreas (Fernandes *et al*., 2016; Pilon *et al.*, 2018). Diante deste cenário, Marques *et al*. (2017) propuseram uma alternativa para recuperação ambiental denominada Nicho Construído (NC), reconhecendo a complexidade intrínseca na restauração de áreas com características tão singulares.

A teoria de construção de nicho, também conhecida como engenharia de ecossistemas, destaca que os organismos, por meio de seu metabolismo e comportamento, são capazes de modificar seus ambientes, alterando as pressões de seleção às quais eles e outros organismos estão expostos (Boogert *et al.*, 2006). Diante desse conceito, a criação de sítios para a reconstituição de áreas degradadas pode ser considerada como “construção de nicho artificial”, que seria o primeiro a ser colonizado em áreas degradadas (Marques *et al.*, 2017).

Ao contrário de um habitat, que se refere apenas ao espaço físico ou geográfico ocupado por uma espécie, o conceito de nicho é uma representação mais ampla da posição ecológica de uma espécie dentro do seu habitat. Englobando também as variáveis ambientais, tais como inclinação do terreno, exposição à luz solar, fertilidade do solo, densidade de vegetação, presença e interação com outros organismos, entre outros. Como resultado, um habitat pode conter uma diversidade de nichos, ocupado por diferentes espécies que se adaptaram às condições específicas encontradas (Odling-Smee, 1988; Boogert *et al*., 2006)

De acordo com Marques *et al.* (2017), os módulos conhecidos como Nicho Construídos (*Construction-Niche*) são estruturas que imitam os nichos naturais de espécies específicas e têm a capacidade de serem recolonizados por organismos encontrados nos habitats naturais circundantes. Isso sugere que as condições oferecidas pelos NCs são semelhantes às dos nichos naturais, a ponto de proporcionar suporte para o crescimento das mesmas espécies encontradas na comunidade local (Whiting *et al.*, 2004; Marques *et al.*, 2017). Portanto, os NCs apresentam um grande potencial de aplicação em ambientes degradados, visando promover o início da reabilitação das espécies nesse ambiente (Couto, 2020).

Os módulos dos NCs são construídos empregando solo da área a ser restaurada (*topsoil*), rejeito de minério de ferro e material aglomerante (confere estrutura para o material). A utilização de rejeito de minério é interessante, uma vez que possui uma diversidade microbiana, abrangendo espécies aeróbias e anaeróbias (Liu *et al*., 2014), além da possibilidade de diminuir a estocagem do resíduo em barragens, proporcionando sua realocação no meio ambiente de forma sustentável, e potencializando a reabilitação de espécies no CRF (Couto, 2020). O desenvolvimento de organismos nos módulos do NCs é possível devido à utilização do *topsoil* ou solo superficial, que é composto por banco de sementes e macrofauna/flora, agentes importantes na ciclagem dos nutrientes, na reestruturação e fertilização do solo (Santos, 2010).

Os NCs apresentam uma característica importante que é a biorreceptividade, ou seja, possui uma capacidade de ser colonizado e de sustentar o desenvolvimento de organismos vivos (Guillitte; Dreesen, 1995). Segundo Marques *et al.* (2017), a presença de componentes bióticos nos NCs confere a esses ambientes uma maior biorreceptividade em comparação a locais altamente impactados, como áreas degradadas por atividades minerárias. Além disso, os NCs são formados a partir dos minerais presentes nas rochas, uma vez que são compostos por solo e rejeitos resultantes da mineração de minério de ferro. De acordo com Miller *et al*. (2012), todo material que tem como base de formação minerais encontrados em rochas possui características de biorreceptividade, o que implica que, em certa medida, é capaz de ser colonizado por organismos vivos.

Os materiais aglomerantes desempenham um papel fundamental para proporcionar coesão e resistência aos módulos dos NCs, sendo de grande importância para sua composição. Diversas proporções e tipos de materiais aglomerantes têm sido investigados com o intuito de encontrar soluções adequadas. Entre os materiais testados, destaca-se o uso de cimento (Couto, 2020), argila bentonita e biocompósito de micélio fúngico (Santos, 2022). O uso do biocompósito para esse fim é o mais recente, e requer mais estudos, como por exemplo, testes com composições diferentes e maior tempo de incubação. Estudos realizados por diversos

autores demonstraram que a incorporação desses materiais aglomerantes possibilitou o desenvolvimento de comunidades biológicas, incluindo cianobactérias, hifas fúngicas, algas, briófitas e pteridófitas (Marques *et al.*, 2017; Couto, 2020; Santos, 2022).

3.4 BIOPOLÍMEROS COM PROPRIEDADES LIGANTES

Os biopolímeros (BP) têm sido relatados como uma alternativa para reações químicas de aglomerantes cimentícios para obter um efeito de fortalecimento, melhorando as ligações interpartículas e obstruindo os poros. Geralmente cimento, cal, argila e géis hidrofílicos são usados para essa finalidade. Porém, estes aglomerantes podem impactar quimicamente (toxicidade e lixiviação) o ambiente em que forem incorporados. Além disso, o uso do cimento pode aumentar o pH do solo (Chang *et al*., 2020).

Os BPs são polímeros ou copolímeros naturais, que apresentam alta massa molecular, constituído de unidades monoméricas ligadas entre si por meio de ligações covalentes. Essas moléculas são produzidas por sistemas biológicos como plantas, animais, microrganismos ou podem ser extraídas a partir de matérias-primas provenientes de fontes renováveis (Luft *et al*, 2020). O termo "biopolímero" também é utilizado para descrever moléculas sintetizadas quimicamente, mas que têm origem em materiais biológicos, como aminoácidos, açúcares, gorduras naturais ou óleos (Chanchal *et al.*, 2014) Os biopolímeros apresentam uma diversidade significativa em termos de composição, estrutura e função (Luft *et al*, 2020). Sob uma perspectiva biotecnológica, esses compostos desempenham funções importantes em diversas aplicações devido às suas propriedades funcionais distintas, incluindo solubilidade em água, capacidade de retenção de água/óleo, intumescimento, porosidade, formação de espuma, emulsificação, densidade aparente, viscosidade, características de gelificação e aglomeração, entre outras (Dehnad *et al.*, 2016)

Os microrganismos desempenham um papel significativo na produção de BP, destacando-se vantagens em relação aos biopolímeros de origem vegetal e animal, tais como capacidade de reproduzir de forma consistente e a estabilidade das propriedades físico-químicas (Borges *et al*., 2004). Os BPs microbianos podem ser obtidos por meio do cultivo de microrganismos, como bactérias, leveduras ou fungos, ou, na sua ausência, por meio de processos enzimáticos que envolvem a inativação e lise celular, utilizando enzimas purificadas (Luft *et al.*, 2021). Os microrganismos sintetizam uma grande variedade de substâncias poliméricas extracelulares (SPE), intracelulares e estruturais.

As SPEs são metabólitos extracelulares de células microbianas, altamente associados com funcionalidades, adaptação e sobrevivência. Esses compostos podem estar associados à superfície das células ou serem excretados para o meio extracelular, formando uma substância viscosa. Os compostos constituintes das SPE são proteínas, polissacarídeos, ácidos nucléicos e alguns orgânicos ou inorgânicos adsorvidos da solução aquosa. A produção desses metabólitos depende de fatores físicos (temperatura, agitação e aeração) e fatores químicos (composição do meio, fonte, concentração de carbono e nitrogênio, pH e oxigênio dissolvido) (Costa *et al.*, 2018; He *et al*., 2022, Cottet *et al*., 2020).

Os polissacarídeos são os metabólitos mais abundante de biopolímero e desempenham um papel importante em diversos processos biológicos (Costa *et al*., 2018). São compostos caracterizados por cadeias longas contendo unidades repetidas e ramificações compostas por açúcares ou seus derivados, tais como glicose, frutose, manose, galactose, entre outros. Os polissacarídeos fúngicos, conhecidos também como gomas, são substâncias hidrofílicas que apresentam a capacidade de se dissolver ou dispersar em água, resultando no aumento da viscosidade de um sistema (Luft *et al*, 2021). Os exopolissacarídeos de origem fúngica podem ser empregados na fabricação de biocompósitos fúngicos. O micélio consiste em uma densa rede de filamentos conhecidos como hifas, que crescem e se entrelaçam em substratos orgânicos como cascas de café, serragem, farelo de trigo, palha e bagaço de cana-de-açúcar. O crescimento do micélio resulta na formação de autoaglomerações e em uma extensa rede de fibras brancas, que degradam o substrato, colonizando a matéria orgânica e promovendo a união em materiais sólidos com uma estrutura tridimensional. Ao degradar o substrato de lignocelulose, o micélio pode se unir e formar uma estrutura semelhante a um bloco (Alemu *et al.*, 2022).

Os materiais à base de micélio, como os biocompósitos (BC), são recicláveis, renováveis (Alemu *et al*., 2022) e têm o potencial de substituir outros materiais convencionais, como o cimento no NC, por exemplo (Santos, 2022). Ivanov e Chu (2008) destacam a capacidade dos biocompósitos de atuar como aglomerante, promovendo a ligação entre os grãos de areia e, assim, aumentando a resistência de cisalhamento do solo. Maximino *et al.* (2020) demonstraram a viabilidade de produzir tijolos utilizando biocompósitos de origem fúngica como aglomerante, em substituição à argila. Os BCF podem ser usados em diversas aplicações, como indústrias automobilísticas, aeroespaciais, de embalagens, construção e instrumentos esportivos (Rafiee; Kaur; Brar, 2021).

Attias *et al.* (2019) ressaltaram que as espécies fúngicas desempenham um papel significativo na colonização do micélio e nas propriedades físico-mecânicas do biocompósito

final. A taxa de colonização, a espessura das hifas, a tendência de ramificação e a topografia da superfície variam dependendo da espécie de fungo selecionada. Na literatura, foram indicadas cerca de nove espécies de fungos, entre essas espécies, *Ganoderma lucidum* e *Pleurotus ostreatus*, foram as mais comumente encontradas. Todas as espécies relatadas na revisão da literatura pertencem à divisão *Basidiomycota*, devido à propriedade adesiva natural do micélio e à sua capacidade de degradar a lignocelulose, além de apresentarem duas características importantes: septos e anastomoses. Os septos, são paredes celulares transversais que dividem as hifas em compartimentos distintos. Eles possuem uma válvula de abertura e fechamento que permite a passagem de organelas e nutrientes entre as células fúngicas. Essa característica dos septos é importante para a integridade estrutural do micélio. A anastomose refere-se à fusão entre duas hifas distintas ao se encontrarem. Esse processo resulta na formação de uma extensa rede, possibilitando o transporte mais eficiente de nutrientes através dessa rede expandida. Consequentemente, o micélio desenvolve-se de forma rápida, vigorosa e densa. É pela presença dessas características que os basidiomicetos se destacam na produção de biomateriais, conferindo-lhes singularidade (Alemu *et al.*, 2022).

3.5 METAIS NO SOLO: IMPACTOS NA QUALIDADE AMBIENTAL

Naturalmente, os metais são liberados no ambiente através de processos pedogenéticos, como intemperismo. No entanto, as ações antrópicas têm contribuído significativamente para o aumento da deposição desses elementos em diversos compartimentos da biosfera (Araújo; Pinto Filho, 2010). Alguns metais como, por exemplo, Fe, Zn, Cr, Cu e Mn são essenciais para permitir o funcionamento normal de algumas rotas metabólicas (Aguiar; Novaes; Guarino, 2002). Outros elementos como o Pb, Cd, Ni, Cr são reconhecidos por sua toxicidade, mesmo em concentrações baixas (Seneviratne *et al*., 2019). De maneira geral, todos os metais e seus compostos possuem algum grau de toxicidade que está relacionado com o tempo de exposição e concentração do elemento. Quando ultrapassam os níveis requeridos como nutrientes ou interferem na absorção de outros elementos essenciais, podem causar uma série de efeitos adversos no organismo (Leite; Zampieron, 2012). Devido à sua natureza essencialmente não biodegradável, esses metais tendem a se acumular nos tecidos dos organismos vivos (bioacumulação) e suas concentrações podem aumentar de um nível trófico para o outro ao longo da cadeia alimentar (biomagnificação), representando risco para a saúde ambiental e humana (Ali; Khan; Sajad, 2013).

Devido à sua natureza persistente, os metais permanecem na camada arável do solo por longos períodos e tornam-se disponíveis para as plantas que os absorvem pelas raízes. Nesse processo, não há distinção entre os metais em termos de sua essencialidade para as plantas. Consequentemente, são translocados para as partes aéreas, sementes e grãos das plantas, onde podem exercer efeitos tóxicos. Estes efeitos incluem o desencadeamento de estresse oxidativo, o desequilíbrio na homeostase dos metais essenciais, danos a biomoléculas e interferências no desenvolvimento das plantas (Kabata-Pendias, 2001; Nawab *et al*., 2018).

A persistência de contaminantes no solo excede significativamente a de outros compartimentos da biosfera, e a contaminação especialmente por metais, manifesta-se como um fenômeno de longa duração. Os solos são reservatórios desses elementos devido à presença de vários constituintes, como matéria orgânica do solo, oxi-hidróxidos de alumínio (Al), ferro (Fe) e manganês (Mn), argilas e outros minerais amorfos (Kaninga *et al.,* 2020). Os metais depositados no solo são gradualmente removidos por processos como lixiviação, absorção pelas plantas, erosão ou deflação (Kim *et al.*, 2015; Kabata-Pendias, 2001).

Frequentemente, o pH é citado como um dos fatores que mais afeta a mobilidade de metais, podendo influenciar tanto a precipitação quanto a solubilização dos compostos metálicos, assim como modificar o equilíbrio químico das reações envolvendo esses metais. O pH pode influenciar diretamente, através da interação com compostos metálicos, quanto indiretamente, por meio das variações nas cargas superficiais resultantes da presença dos íons H^+ e OH^- nos argilominerais e óxidos de carga variável (Alloway, 1990).

Devido aos inúmeros efeitos adversos que estes metais podem induzir, a condução de estudos e o estabelecimento de sistemas de monitoramento são necessários. Órgãos reguladores como o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) têm estabelecido critérios e valores (ANEXO 1) para a avaliação da qualidade do solo em relação à presença de substâncias químicas, além de elaborar diretrizes para o gerenciamento desse recurso.

3.6 AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE METAIS

A avaliação da qualidade dos materiais constituintes (*topsoil*, rejeito de minério de ferro e aglomerante) do NC é essencial. Alguns autores destacam a importância de avaliar o grau de contaminação do solo, especialmente quando se pretende utilizar o *topsoil* para uma finalidade específica ou determinar o uso mais apropriado para uma determinada área (Bunemann *et al.*, 2018; Bone *et al.*, 2010).

A determinação da biodisponibilidade de metais no solo abrange várias técnicas e abordagens, tais como: i) o uso de técnicas químicas baseadas em extrações simples que podem ser usadas para determinar os teores de metais no solo; ii) ensaios com organismos vivos, através das observações dos efeitos causados por metais e/ou seu acúmulo; iii) Aplicação de modelos matemáticos que prevêem a disponibilidade de metais, levando em conta as características do solo (Lago-Villa *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2015).

3.6.1 Determinação de metais por extração

Diversos métodos foram desenvolvidos com o objetivo de avaliar a disponibilidade ambiental de contaminantes em diferentes matrizes. Dentre esses métodos, os ensaios de lixiviação se destacam por sua simplicidade e eficácia, sendo amplamente utilizados para prever o transporte de contaminantes presentes em materiais sólidos (Reis, 2016). Essas ensaios têm como finalidade determinar a quantidade de contaminantes que pode ser liberada do material de origem. As metodologias de extração química podem ser sequenciais ou em passo único, sendo esta relativamente barata, fácil de realizar, interpretar e reproduzir (Lago-Villa *et al.*, 2019).

De modo geral, os extratores utilizados para quantificar elementos disponíveis são classificados em seis categorias: água ou extrato de saturação, soluções salinas, soluções ácidas, soluções complexantes, soluções oxidantes/redutoras e combinações de dois ou mais reagentes dessas categorias. A eficiência da extração de elementos do solo por essas soluções depende de fatores como a concentração dos componentes da solução extratora, tempo de extração, razão solo: solução, temperatura, tipo de agitação, entre outros. Variações nessas condições resultam em diferenças significativas na quantidade de elementos extraídos por um método específico (Assis, 2010).

As soluções extratoras ácidas mais testadas para extração de metais são o HCl, CH_3COOH (ácido acético) e reagente de Mehlich-1. Por causa das muitas variações nos procedimentos de execução desses métodos os resultados entre trabalhos podem não ser comparáveis (Assis, 2010). O princípio da extração com soluções ácidas baseia-se na dissolução de minerais, o que pode dificultar a definição exata das formas químicas extraídas. A quantidade de metais solubilizados por essas soluções dependerá de parâmetros como a concentração do ácido, tempo de extração e a proporção solo (Ferreira, 2014).

Snape *et al.* (2004), avaliaram o uso de HCl 1,0 mol L^{-1} como agente extrator para avaliar a disponibilidade ambiental de diversos elementos em sedimento marinho da Antártica.

A escolha do HCl foi baseada em sua capacidade de atacar as principais fases lábeis presentes na matriz sedimentar (Yu *et al.*, 2021). Já o método Mehlich-1 (HCl 0,05 mol L^{-1} + H_2SO_4 0,0125 mol L^{-1}) amplamente utilizado na agricultura com o objetivo de avaliar as frações de metais assimiláveis pelas plantas, tendo sido originalmente desenvolvido para extração de fósforo e posteriomente estendido para a extração de cátions trocáveis de solos ácidos (Tavares; Oliveira; Salgado, 2013; Reis, 2016).

O ácido acético (0,11 mol L^{-1}) é o primeiro extrator do método de extração sequencial BCR (*Bureau Communautaire de Référence*) e é capaz de de extrair metais potencialmente disponíveis, também denominados trocáveis, os quais encontram-se retidos na matriz solo/sedimento por adsorção não específica, ocorrendo exclusivamente por atração eletrostática. Esses elementos são suscetíveis a alterações de pH e podem ser liberados em condições ambientais mais ácidas, visto que a alteração do pH afeta as cargas superficiais e consequentemente causa deslocamento do equilíbrio químico. Devido às suas ligações mais fracas com a matriz sólida, eles representam a fração de maior risco para o meio ambiente (Anju; Banerjee, 2010; Filgueiras *et al.*, 2002).

Os elementos extraídos nas chamadas frações trocáveis constituem uma parte importante dos elementos-traço potencialmente disponíveis para a biota, sendo, portanto, um indicador da bioacessibilidade ou uma estimativa da biodisponibilidade potencial. Os elementos extraídos dessas frações são liberados a partir da dupla camada elétrica formada na superfície das partículas do solo, processo que é controlado principalmente pelo pH superficial e pela força iônica do meio (Ferreira, 2014).

3.6.2 Ensaios de fitotoxicidade

As análises físico-químicas nem sempre são suficientes para avaliar a toxicidade dos materiais, uma vez que diversos contaminantes podem interagir entre si. Portanto, métodos ecotoxicológicos são amplamente empregados, os quais envolvem organismos em diversos níveis tróficos, tais como plantas, (Niva; Brown, 2019), microrganismos do solo (Gallego; Olivero-Verbel, 2021), ácaros (Buch *et al.*, 2021) e organismos aquáticos, entre eles *Daphnia magna*, peixes e bactérias (Ceschin; Bellini; Scalici, 2021). Enquanto as análises químicas são capazes de identificar e quantificar as concentrações das substâncias tóxicas presentes, os testes de toxicidade visam avaliar os efeitos dessas substâncias sobre os sistemas biológicos. Dessa maneira, as análises químicas e os testes de toxicidade se complementam, proporcionando uma

compreensão mais abrangente dos potenciais riscos ambientais associados aos resíduos (Costa *et al*., 2008).

Um dos tipos de testes de ecotoxicidade utilizados é o teste de fitotoxicidade, que se baseia no uso de sementes de plantas (Mendes *et al.*, 2021). Nesses testes, parâmetros como germinação, crescimento radicular e/ou taxa de crescimento das plantas são avaliados. Ao avaliar o potencial tóxico dos resíduos em vegetais, é comum realizar testes com o lixiviado, uma vez que nutrientes e poluentes podem ser absorvidos pelas plantas diretamente de soluções aquosas na forma dissolvida. Os contaminantes presentes no lixiviado podem afetar diretamente a germinação das sementes e o desenvolvimento das mudas, uma vez que o crescimento das plantas depende diretamente do meio (Bozym, 2020).

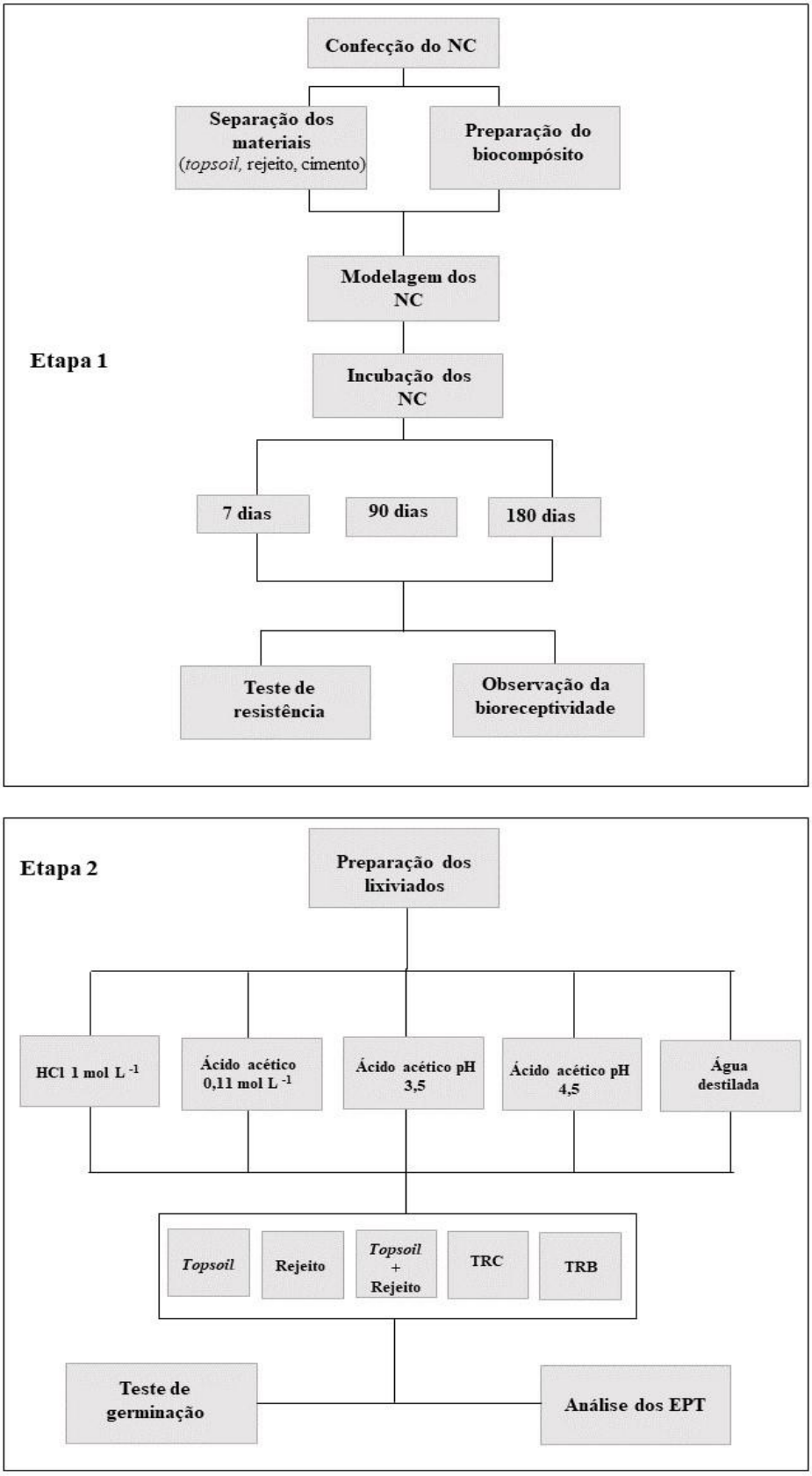
Os testes fitotoxicológicos permitem avaliar a presença de componentes tóxicos em um composto, mas não identificam o elemento que confere essa característica. Porém, permitem a comparação dos níveis de toxicidade entre os compostos estudados através da germinação de sementes (Barral; Paradelo, 2011). A germinação é inversamente proporcional ao grau de toxicidade das amostras testadas, ou seja, quanto maior a toxicidade do composto analisado, menor será a germinação, justamente porque inibe parcial ou totalmente o crescimento das radículas das sementes que são utilizadas como organismos teste (Guevara *et al*., 2019; Mendes *et al.*, 2021).

As diretrizes da OECD (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) fornecem uma lista abrangente de espécies de plantas terrestres frequentemente utilizadas para a avaliação da fitotoxicidade. Entre essas espécies, incluem-se a alface (*Lactuca sativa*), a couve (*Brassica oleracea L*), o arroz (*Oryza sativa L*), o pepino (*Cucumis sativus*) entre outras (OECD, 2006). As vantagens associadas a essas espécies residem na disponibilidade de sementes, no rápido crescimento e na sensibilidade a diversos fatores ambientais, incluindo a presença de metais (Seneviratne *et al.*, 2019).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em duas etapas, conforme ilustrado no fluxograma da Figura 2. Na primeira etapa, ocorreu a preparação das amostras constituintes dos NCs e a confecção dos mesmos utilizando diferentes proporções do biocompósito de massa fúngica como aglomerante. Posteriormente, os NCs foram incubados em condições laboratoriais para avaliar o crescimento dos organismos macroscópicos heterotróficos e autotróficos e sua resistência à compressão. Na segunda etapa, foram realizadas as análises químicas e testes de toxicidade dos lixiviados do *topsoils*, rejeito de minério de ferro e dos NCs.

Figura 2: Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa.

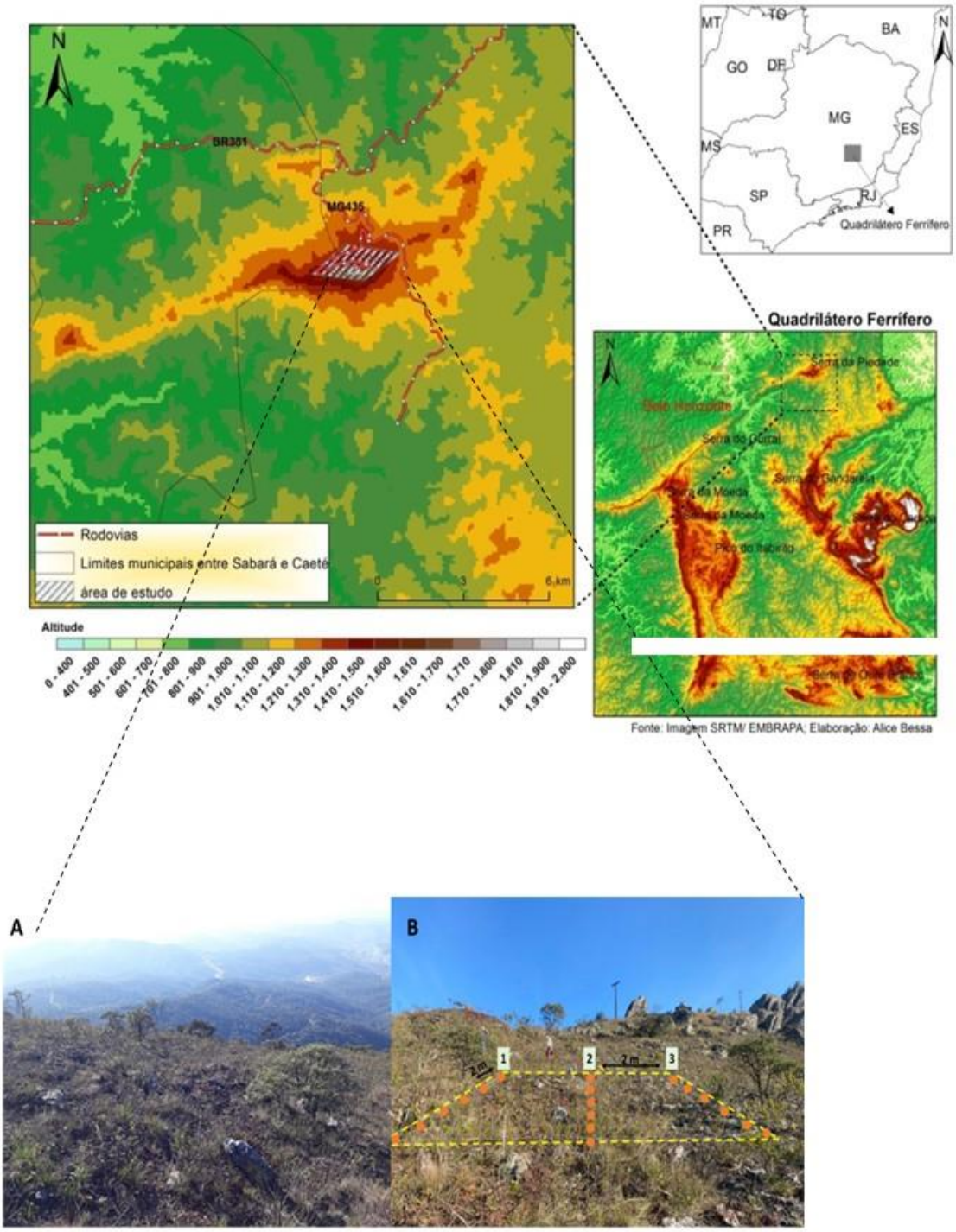


Legenda: TRC: *topsoil*, rejeito, cimento; TRB:*topsoil*, rejeito, biocompósito; EPT: Elementos potencialmente tóxico.

4.1 COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras de *topsoil* foram coletadas no campo rupestre ferruginoso da região da Serra da Piedade coordenada 19° 49' 21,51” S e 43° 40' 38,22” O. O local da coleta está inserido em uma região especificamente tombada como Monumento Natural Estadual da Serra da Piedade (MONAESP) (Figura 3), que abrange os municípios de Caeté e Sabará, dentro da região metropolitana de Belo Horizonte, no setor norte do Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais (licença de coleta n°004/2021) (Santos, 2022). A coleta foi realizada em uma profundidade de 10 cm, em seis pontos diferentes de três transectos distintos, com distanciamento de 2 metros, dentro de uma mesma área. Após coleta foram removidos os detritos e raízes visíveis, as amostras foram homogeneizadas e peneiradas através de uma malha fina de 2 mm e, posteriormente, acondicionadas em sacos plásticos (Santos, 2022). O rejeito de minério de ferro foi coletado após flotação na barragem de Bocaina, em Ouro Preto (Couto, 2020). Todas as amostras foram passadas por processo manual de quarteamento com o objetivo de uma melhor homogeneização e melhor amostragem do todo.

Figura 3: Área de estudo na Serra da Piedade

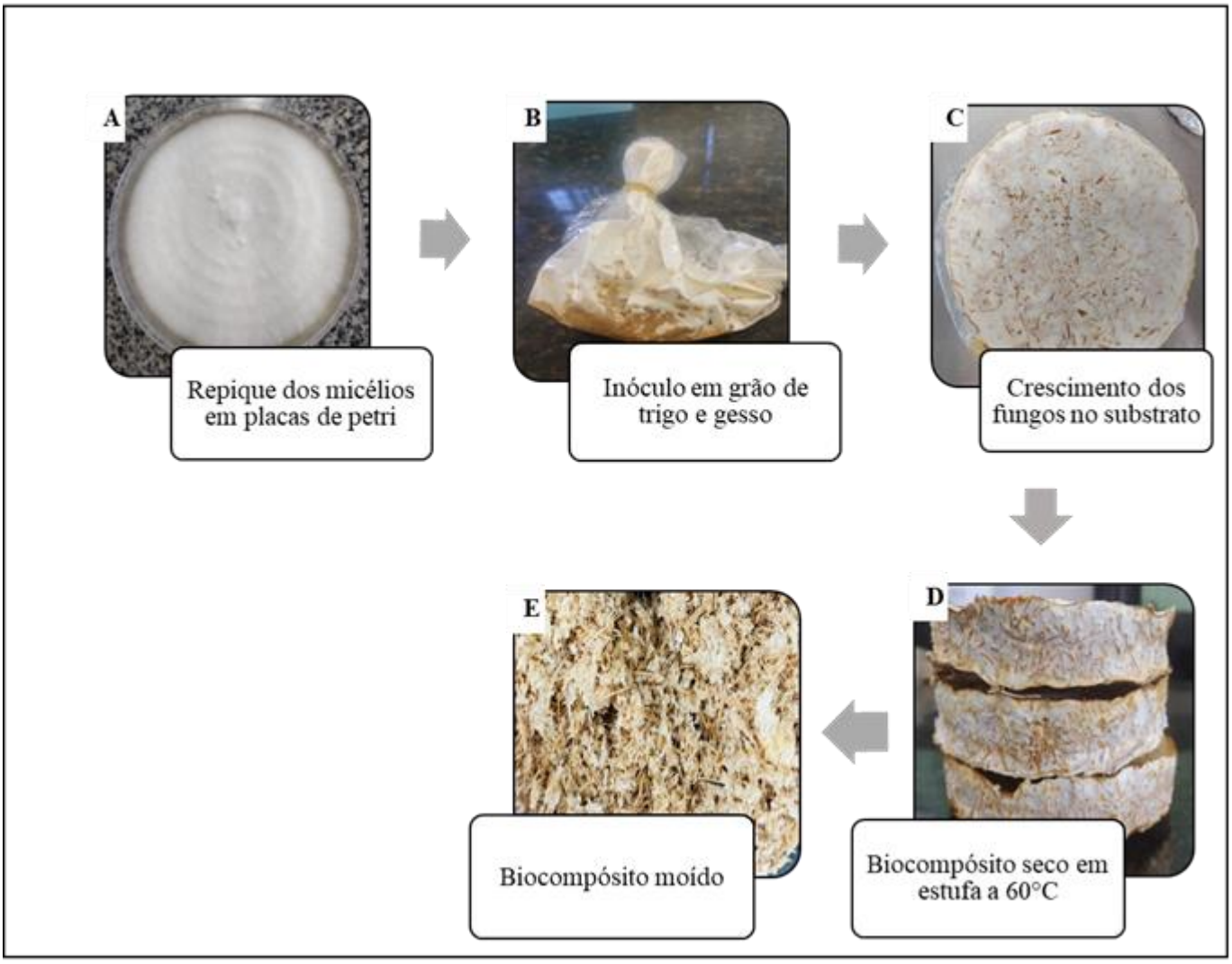


Fonte: Adaptado de Pereira *et al*, 2015 e Santos, 2022. **(A)** Área de campo da coleta. **(B)** Demarcação da área de coleta do *topsoil*.

4.2 CONFECÇÃO DO AGLOMERANTE DO NC DE BIOCOMPÓSITO FÚNGICO

A produção dos biocompósitos fúngicos (BCF) foi adaptada da metodologia de Santos (2022) (Figura 4). As etapas da confecção do BCF estão enumeradas abaixo:

Figura 4: Etapas da produção do biocompósito fúngico.



Etapa 1: Realizou-se o repique do fungo basidiomiceto *Ganoderma lucidum* a partir de um *plug* de micélio conservado em Castelani em placa de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) (veja Figura 4A). A placa foi incubada a 30°C no escuro por 7 dias.

Etapa 2: A preparação do meio para os inóculos dos micélios fúngicos foi realizada acondicionando-se 6 g de grãos de trigo cozidos e 2 g de gesso agrícola (sulfato de cálcio) em sacos plásticos de polipropileno autoclaváveis (Figura 4B). Posteriormente, os sacos foram autoclavados por 20 minutos e resfriados por 30 minutos dentro de um fluxo laminar com

radiação ultravioleta. No ambiente asséptico do fluxo laminar foram realizados inóculos de 6 *plugs* de micélio nos meios dentro dos sacos, e incubados a 30°C no escuro por 10 dias.

Etapa 3: Fibras de bagaço de cana foram fragmentadas e secas em estufa de circulação (Marconi MA 035) a 60°C por 48 horas ou até estarem totalmente secas (peso constante). Seguidamente, foi realizada a trituração e peneiração em peneiras com granulometria de 4 mesh. Em sacos transparentes de polipropileno, foram colocados 20% da fibra de bagaço de cana (40 g) e aproximadamente 120 mL de água destilada para deixar toda fibra úmida. Em seguida, os sacos contendo o material foram autoclavados por 20 minutos.

Etapa 4: O BCF foi produzido a partir do material obtido na 2ª etapa (massa fúngica) e 3ª etapa (fibra de bagaço de cana). Nesta etapa foram utilizados anéis de PVC de 15 cm de diâmetro e 2,7 cm de altura previamente desinfectados com hipoclorito de sódio (2 a 2,5 % m/m), sendo a base e tampa confeccionadas utilizando papelão envolto com papel alumínio. Todo o processo da montagem foi realizado no ambiente estéril do fluxo laminar. Em cada anel de PVC foi colocado, a fibra de bagaço de cana (40 g) e a massa fúngica produzida em cada saco incubado. Ambos foram homogeneizados com auxílio de uma pinça estéril para uma distribuição igual de todo material dentro do anel. Os anéis foram fechados com os papelões recobertos com o papel alumínio, colocados em sacos transparentes estéreis com um chumaço de algodão estéril umedecido e levados para câmara de germinação tipo BOD (Marconi MA 403) a temperatura de 25°C, na ausência de luz por 30 dias. A cada 5 dias, o material foi observado para acompanhamento do crescimento do fungo (Figura 4C).

Etapa 5: Após o período de 30 dias de incubação, o BCF foi retirado da forma e desidratado em estufa de ventilação (Marconi MA 035) a 60°C por 48h, para interromper o crescimento fúngico (Figura 4D). Posteriormente, o material foi triturado (Figura 4E), inicialmente em processador doméstico e posteriormente, em moinho de facas da marca Solab SL-30. O material foi armazenado em potes transparentes limpos, a temperatura ambiente até a montagem dos NCs.

4.3 CONFECÇÃO DOS NICHOS CONSTRUÍDOS

Para a confecção dos nichos foi adotada a metodologia adaptada dos estudos de Couto (2020) e Santos (2022). No Quadro 1, são apresentadas as composições utilizadas para cada tratamento na construção dos NCs e dos controles experimentais (*topsoils*, *topsoil* + rejeito e rejeito de minério de ferro) para fins de comparação. Os ensaios foram realizados em triplicata. A moldagem do corpo de prova foi adaptada da norma 10833 (ABNT, 1989). As composições

de cada NC (Quadro 1) foram homogeneizadas, adicionando cerca de 17,5% em água da massa total dos demais constituintes. A mistura foi colocada em moldes cilíndricos com diâmetro interno de 6,5 cm e altura 2,5 cm (Figura 5), sendo preenchidos de alturas aproximadamente iguais e comprimidos manualmente. Os nichos foram expostos ao ar por 10 dias seguindo de incubação. Os controles (*topsoil*, *topsoil* + rejeito e o rejeito de minério de ferro) não foram moldados.

Quadro 1 - Matérias-primas dos Nichos Contruídos e as porcentagens (%) utilizadas respectivamente.

Composição	**Porcentagem (%)**
Topsoil + Rejeito	50:50
Topsoil + Rejeito + Cimento Portland CP V – Ari Max	65:30:5
Topsoil + Rejeito + Biocomposito Fúngico	65:30:5
Topsoil + Rejeito + Biocomposito Fúngico	60:30:10
Topsoil + Rejeito + Biocomposito Fúngico	55:30:15
Topsoil	100
Rejeito	100

Adaptado de Couto (2020) e Santos (2022)

Figura 5: Nichos Construídos nas formas dos corpos de prova.

4.4 ENSAIO DE RESISTÊNCIA MECÂNICA À COMPRESSÃO

Os ensaios de resistência mecânica dos corpos de prova dos NCs após períodos de 10 dias, 90 dias e 180 dias de incubação em câmara de germinação Marconi MA 403 foram realizados no equipamento Instron EMIC 23-20. Três triplicatas de corpos de prova de NC com cimento foram preparadas para fins de comparação e incubados à temperatura ambiente em um pote. Os parâmetros do equipamento estão expostos no quadro 2 e foram adaptados das normas NBR 12142 (ABNT, 2010), NBR 5739 (ABNT, 1994) e NBR 8491 (ABNT, 2012) tendo os NC com cimento usados como parâmetro de comparação. Amostras ensaiadas de tijolos solo-cimento conforme estabelecido na NBR 8491 não podem apresentar a média dos valores de resistência à compressão menor que 2,0 MPa e nem valores individuais inferiores à 1,7 MPa. Os ensaios foram realizados em triplicata, a carga de ensaio foi aplicada de forma contínua e sem choques.

Quadro 2 - Condições de operação do Instron EMIC 23-20.

Velocidade de carregamento	0,3 MPa s^{-1}
Tensão à Compressão	1,0 MPa min^{-1}
Tempo máximo	5 minutos

Fonte: Instron EMIC 23-20

4.5 INCUBAÇÃO DOS NICHOS CONSTRUÍDOS EM LABORATÓRIO

Os Nichos Construídos e os controles, foram incubados em frascos selados de 200 mL em uma câmara germinadora (Marconi MA 403) sob temperatura constante controlada (25 °C) e fotoperíodo de 12 h (alternando de luz e escuro). A umidade dos nichos foi controlada em torno de 60 % da capacidade de campo em relação à massa do NC (Couto, 2020). Para monitorar a umidade, as massas dos NC foram medidas durante todo período de incubação, com objetivo de manter sua massa inicial (60 % da capacidade de campo). Os potes foram abertos semanalmente para manter o ambiente aeróbico. Durante o período de incubação (7, 90 e 180 dias) foram realizados observações e registros do processo de colonização (bioreceptividade) por organismos macroscópicos hereterotróficos e autotróficos nos NCs. Os organismos que foram surgindo durante o processo foram fotografados em um estereomicroscópico (Astral Cientifica) e, quando necessário, em um fotomicroscópio (Olympus, BX 53), para auxiliar na

identificação dos grupos taxonômicos através das características morfológicas de cada um deles.

4.6 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS NOS LIXIVIADOS

Para avaliar riscos de liberação de metais no meio ambiente a partir dos NCs, foram consultados diversos trabalhos na literatura (Snape *et al.*, 2004; Tavares *et al.*, 2013; Canepari *et al.*, 2005; Geng *et al*., 2020) e selecionados os seguintes extratores: ácido clorídrico diluído 1 mol L^{-1}, Mehlich-1 (0,05 mol L^{-1} de HCl e 0,0125 mol L^{-1} de H_2SO_4), ácido acético (0,11 mol L^{-1}, em pH 3,5 e 4,5) e água destilada. Foram testadas amostras de *topsoil* (T) rejeito de minério de ferro (R), mistura *topsoil*/rejeito (TR), mistura *topsoil*/rejeito/cimento (TRC) e misturas *topsoil*/rejeito/biocompósito (TRB) (Figura 6A). As composições utilizadas para cada amostra estão dispostas no Quadro 1, exposto anteriormente.

A análise dos lixiviados foi realizada por espectrometria de absorção atômica em chama (Varian Spectra AA 55B), as condições instrumentais estão apresentadas no Quadro 3. Os experimentos foram realizados em triplicata. Todas as vidrarias e materiais utilizados foram descontaminados em banho ácido contendo HNO_3 10% v/v por no mínimo 24 h. Posteriormente, as vidrarias foram lavadas com água destilada.

Quadro 3 - Condições de operação do Spectra AA 55B

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Chama	Fenda (nm)	Corrente (mA)	Faixa de trabalho (mg L^{-1})
Cd	228,8	Ar-acetileno	0,5	4	0,02 - 3
Cr	425,4	Ar-acetileno	0,2	0,1	0,4 - 40
Cu	218,0	Ar-acetileno	0,2	0,1	0,3 - 80
Fe	386,0	Ar-acetileno	0,2	5	1,5 - 200
Mn	403,1	Ar-acetileno	0,2	5	0,5 - 60
Ni	352,4	Ar-acetileno	0,5	4	1 - 100
Zn	213,9	Ar-acetileno	1,0	5	0,01 - 2

Fonte: Manual Spectra AA 55B

4.6.1 Extração parcial empregando ácido clorídrico diluído

A extração parcial empregou ácido clorídrico diluído 1 mol L^{-1} sob agitação em mesa agitadora Cienlab. Para tanto, cerca de 0,5000 g de amostra de cada composição descrita no

Quadro 1 foram acuradamente medidos em balança analítica. Em seguida adicionou-se 20,00 mL de solução extratora em cada erlenmeyer contendo a massa medida, submetida à agitação por 4 horas em 220 rpm. Posteriormente, todas as amostras foram centrifugadas em centrífuga de bancada Nova Técnica 810 por 20 min a 3000 rpm e o sobrenadante foi transferido para outro frasco e mantido sob refrigeração, cerca de 10 ºC, até o momento da quantificação (Snape *et al.*, 2004). Os sobrenadantes das soluções resultantes foram transferidos para outro frasco, onde foram medidos os valores de pH final com um phmetro da marca Tecnal

4.6.2 Extração empregando Reagente de Mehlich-1

Amostras de 0,5000 g de cada composição descrita no Quadro 1 foram medidas e adicionou-se 25,00 mL de solução extratora de Mehlich-1 (HCl 0,05 mol L^{-1} + H_2SO_4 0,0125 mol L^{-1}). Em seguida, a mistura foi agitada por cinco minutos a 220 rpm em mesa agitadora Cienlab e o sobrenadante foi transferido para outro frasco e mantido sob refrigeração a 10ºC até o momento da quantificação (Tavares *et al.*, 2013). Após a quantificação, os sobrenadantes das soluções resultantes foram transferidos para outro frasco, onde foram medidos os valores de pH final com um phmetro da marca Tecnal.

4.6.3 Extração empregando ácido acético 0,11 mol L^{-1}

Nesta extração, submeteu-se 0,5000 g de cada composição descrita no Quadro 1 em 20,00 mL de ácido acético 0,11 mol L^{-1} com agitação por 16 h em mesa agitadora mesa agitadora Cienlab em 220 rpm. A seguir, todas as amostras foram centrifugadas por 20 min a 3000 rpm e o sobrenadante foi transferido para outro frasco e mantido sob refrigeração a 10 ºC até o momento da quantificação (Canepari *et al.*, 2005). Os sobrenadantes das soluções resultantes foram transferidos para outro frasco, onde foram medidos os valores de pH final com um phmetro da marca Tecnal e armazenados para os testes de ecotoxicidade.

4.6.4 Extratores brandos: Simulação ambiental

Para a simulação ambiental, duas soluções de valores de pH ~3,5 e ~4,5 foram preparadas. Amostras de 0,5000 g de cada composição descrita no Quadro 1 foram adicionadas em 20,00 mL de extratores de ácido acético assim como em água destilada. As soluções permaneceram sob agitação por 16 h em mesa agitadora Cienlab em 220 rpm. A seguir todas

as amostras foram centrifugadas por 20 min a 3000 rpm e o sobrenadante foi transferido para outro frasco e mantido sob refrigeração até o momento da quantificação (Canepari *et al*., 2005; Geng *et al*., 2020). Os sobrenadantes das soluções resultantes foram transferidos para outro frasco, onde mediu-se o valor de pH final com um phmetro da marca Tecnal e armazenados para os testes de ecotoxicidade.

4.7 TESTES DE GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE HORTALIÇAS IRRIGADAS COM OS LIXIVIADOS

Sementes dos cultivares comerciais de alface (*Lactuca sativa*), pepino (*Cucumis sativus*), arroz (*Oryza sativa*) e couve (*Brassica oleracea*) foram colocadas em placas de Petri forradas com papel de filtro e submetidas a diferentes lixiviados obtidos nos itens 4.7.3 e 4.7.4. Os dados das sementes fornecidas pelo fabricante estão expostos no quadro 4.

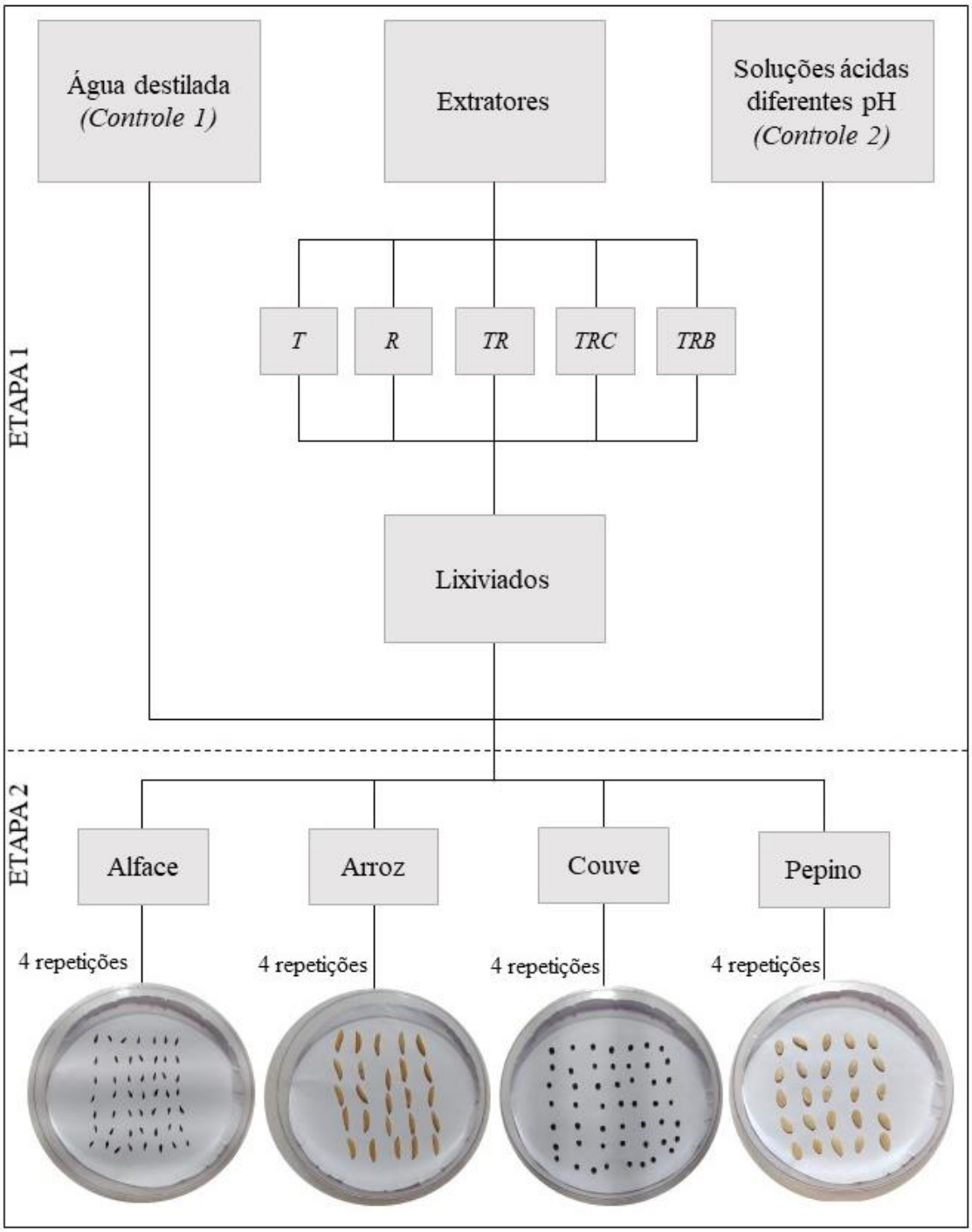
Quadro 4 – Informações comerciais das sementes.

Sementes	**Marca**	**Lote**	**% Germinação**	**Tempo de germinação**
Alface	Topseed	081700	85%	3 - 5 dias
Pepino	Topseed	087608	85%	4 - 14 dias
Couve	Topseed	085078	85%	3 - 5 dias
Arroz	EMBRAPA	*	*	*

* Dados não disponíveis.

O delineamento experimental dos testes de germinação para cada espécie de hortaliça em diferentes extratores químicos está exposto na Figura 06. Para o teste com alface e couve utilizou-se 50 sementes, para o arroz e pepino 25 sementes (a diferença da quantidade de sementes por espécie está relacionada com o tamanho de cada uma delas) (Figura 6- Etapa2). Os testes foram realizados em quatro repetições. As sementes foram dispostas em placas de Petri forradas com papel filtro e irrigadas com água destilada (controle 1), solução de ácido acético (pH = 2,74; 3,5 e 4,5) (controle 2) e os sobrenadantes (lixiviados) obtidos nos itens 4.7.3 e 4.7.4. As placas foram incubadas por 10 dias em câmara de germinação Marconi MA 403 com fotoperíodo de 12 h a temperatura constante de 25°C. As sementes foram avaliadas diariamente, sendo utilizada a emergência da radícula como critério de germinação (Bewley; Black, 1994; Balestri *et al*., 2019).

Figura 6: Esquema do delineamento experimental dos testes de germinação com vários lixiviados.



* Extratores: água, Ácido Acético 0,11 mol L^{-1} (pH 2,74), Ácido Acético (pH 3,5) ou Ácido Acético (pH 4,5). (T) *topsoil;* (R) rejeito de minério de ferro; (TR) mistura *topsoil*/rejeito; (TRC) mistura *topsoil*/rejeito/cimento; (TRB) e mistura *topsoil*/rejeito/biocompósito

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a avaliação dos efeitos dos lixiviados na germinação das sementes foram realizados o cálculo da porcentagem de germinação (G%), tempo médio de germinação (TMG) das sementes. Para o cálculo TMG, empregou-se a equação 1, segundo Labouriau e Valadares (1976):

$$\overline{T} = \sum_{i=1}^{K} n_i t_i \Big/ \sum_{i=1}^{K} n_i \qquad \text{(equação 1)}$$

Em que: n_i = número de sementes germinadas num intervalo de tempo; t_i = intervalo de tempo (dias).

Para as comparações estatísticas os valores de porcentagem foram transformados em arc. sen. √(%G/100). Os valores médios resistência à compressão dos NC (MPa), porcentagem de germinação (%) e TMG foram comparados através de ANOVA *one-way* seguido do teste *Tukey* HSD (P<0,005), usando o software PAST 4.03.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

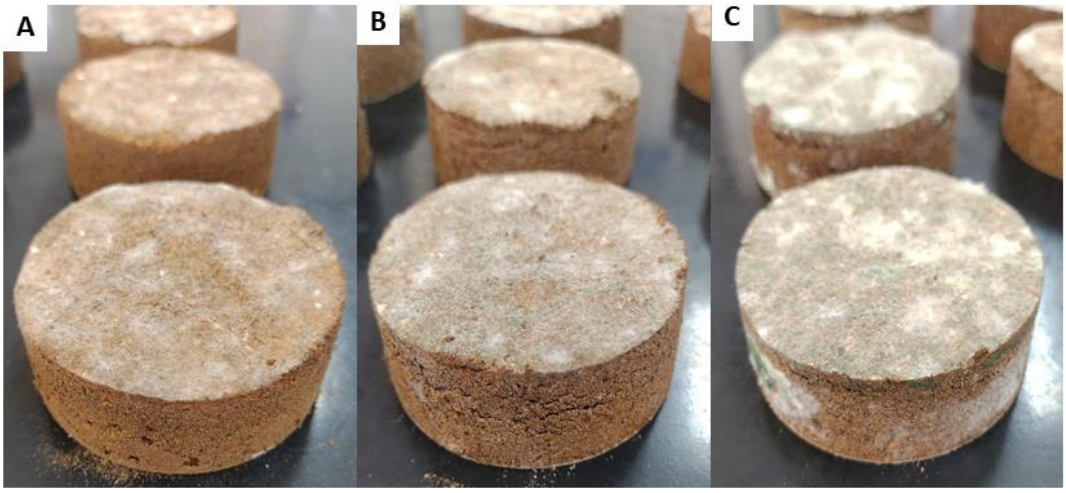
5.1 RESISTÊNCIA MECÂNICA E BIORRECEPTIVIDADE DOS NCS

Em estudo anterior (Couto, 2020), que avaliou a resistência mecânica dos NCs com cimento como aglomerante, foram observados valores bem próximos de um tijolo solo-cimento tradicional após 140 dias de incubação usando a proporção da 5% de cimento na massa do tijolo. Conforme o estabelecido na NBR 8491 (ABNT, 1984), todos os traços devem atingir o mínimo de 2,0 MPa. No entanto, o cimento é muito agressivo para o crescimento de organismos vivos. Pensando em uma alternativa mais sustentável, Santos (2022) usou a argila e um tipo de biocompósito fúngico como aglomerantes. Esses aglomerantes revelaram-se uma alternativa interessante, do ponto de vista ecológico, porém, não mantiveram os valores similares de resistência mecânica observados quando o cimento foi utilizado por Couto (2020). Santos (2022) propôs diferentes proporções do mesmo biocompósito fúngico (BCF) nos NCs.

Durante o processo de desmolde, foi observado que os corpos de prova com as diferentes proporções de BCF (5, 10 e 15%) estavam bem compactados. No entanto, foram observadas algumas rachaduras em alguns corpos de prova deles após os 10 dias de cura depois da desmoldagem. Com relação aos corpos de prova utilizados como controle (com o cimento como aglomerante) não foram observadas rachaduras e fragilidades após a desmoldagem.

Os NCs com 15% de BCF apresentaram maior fragilidade quando manipulados e todos os NCs com BCF tiveram em sua superfície o crescimento de fungos como mostra a Figura 7 após 10 dias de cura. Essa proliferação de fungos não foi observada no NC com cimento, possivelmente devido às propriedades do cimento que aumentam o pH do ambiente e aos componentes químicos que possuem efeito antifúngico, que inibem o crescimento microbiano (George *et al.*, 2013).

Figura 7: Aspecto dos Nichos Construídos com biocompósito fúngico (BCF) após o processo de cura por 10 dias.



A: NC com BCF 5%; B: NC com BCF 10%; C: NC com BCF 15%.

Os resultados obtidos nos ensaios de resistência mecânica nos períodos de 10, 90 e 180 dias estão dispostos na tabela 1. Durante os testes, observou-se que os NCs de BCF apresentaram menores valores de resistência mecânica (< 0,77 MPa) em relação aos dos NCs com cimento (>1,80 MPa). Durante o período de incubação, houve um aumento significativo da resistência mecânica de todos os NCs com biocompósito ($F = 8,445$; $P < 0,01$) após o período de 10 dias (Tabela 1). Segundo Santos 2020, durante o período de cura pode ocorrer porque a presença inicial da água no material reage com o aglomerante criando ligações mais fortes entre as partículas.

Tabela 1: Resistência mecânica à compressão (MPa) dos nichos construídos com biocompósito fúngico (BCF) e cimento durante o tempo de incubação.

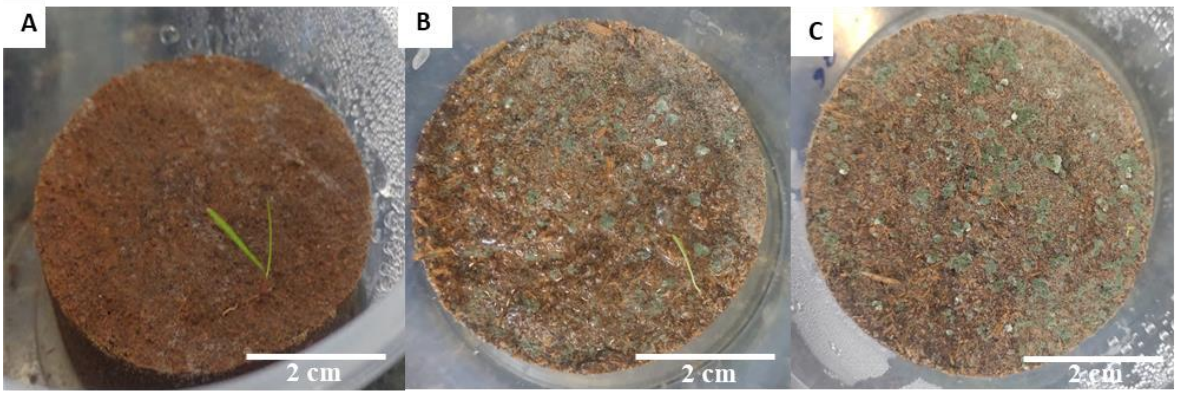
	10 dias	**90 dias**	**180 dias**
	Resistência mecânica (MPa)		
BCF 5%	$0,54 \pm 0,09^{A, a}$	$0,75 \pm 0,06^{B, a}$	$0,77 \pm 0,07^{B, a}$
BCF 10%	$0,49 \pm 0,08^{A, a}$	$0,75 \pm 0,11^{B, a}$	$0,68 \pm 0,08^{B, a}$
BCF 15%	$0,42 \pm 0,07^{A, a}$	$0,72 \pm 0,05^{B, a}$	$0,70 \pm 0,03^{B, a}$
Cimento	$1,80 \pm 0,13^{A, b}$	$1,95 \pm 0,14^{A, b}$	$1,98 \pm 0,09^{A, b}$

Letras maíusculas diferentes na mesma linha significam valores estatisticamente diferentes (ANOVA one-way, teste Tukey, $p < 0,005$) nos diferentes tempos de incubação. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam valores estatisticamente diferentes (ANOVA one-way, teste Tukey, $p < 0,005$) entre os tratamentos.

Couto (2020) e Santos (2022) obtiveram em seus ensaios com os NCs de cimento 5% uma resistência de compressão de aproximadamente 2,0 Mpa, valores próximos aos obtidos nesse estudo (Tabela 1). Couto (2020) ressaltou que a resistência mecânica é importante para viabilizar o transporte e disposição dos nichos construídos no local de uso sem que ocorra seu rompimento e perda de integridade física.

Os NCs com BCF durante o período de cura (10 primeiros dias após desmoldagem) (Figura 7) todos os nichos apresentaram desenvolvimento de fungos. No entanto, ao longo do período de incubação até completar os 180 dias, alguns NCs com BCF apresentaram o crescimento lento e pequeno de diversidade de organismos fotobiontes (Figura 8). Identificou-se a presença de uma espécie macroscópica de alga, musgo e duas espécies de angiosperma.

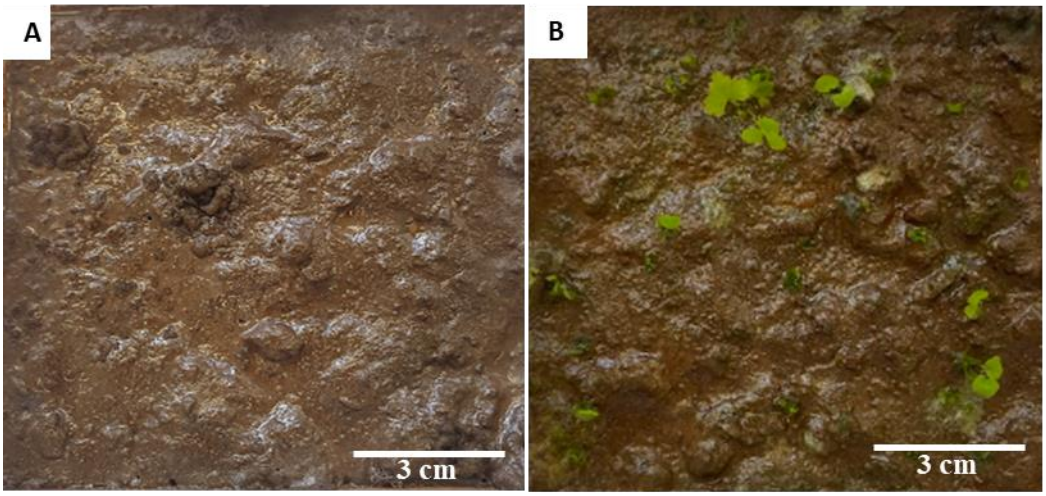
Figura 8: Desenvolvimento de organismos em NCs contendo Biocompósito Fungico



NCB 5% (A); NCB 10% (B); NCB 15% (C)

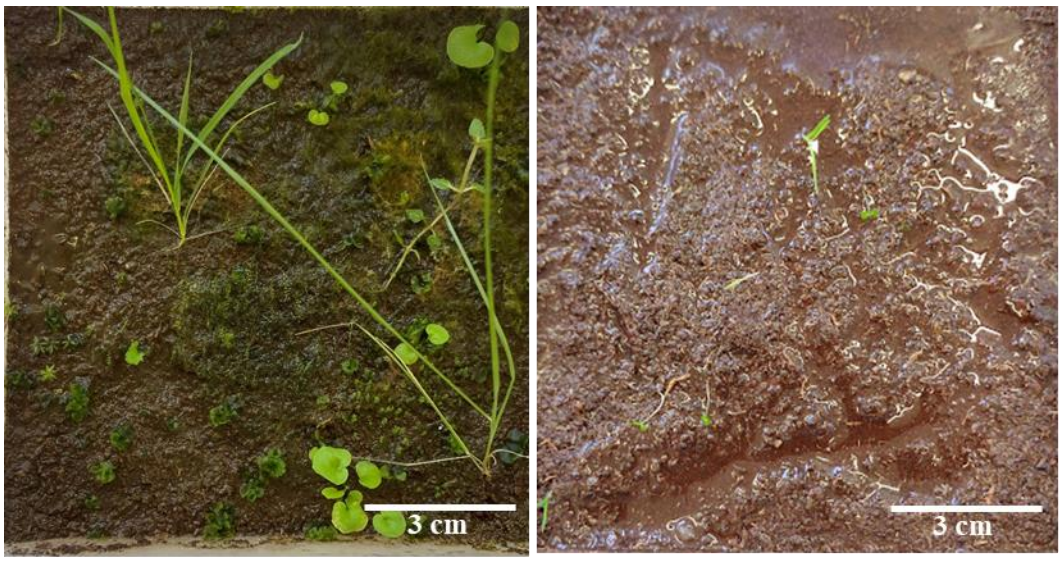
Para entender o processo de colonização durante os 180 dias foram incubadas, sem moldagem, massas iguais aos dos NCs, amostras controles de *topsoil*, *topsoil* + rejeito e de rejeito sem os aglomerantes saturadas com 60% de água. Nas amostras de rejeito não foi observado nenhum tipo de organismos durante o período determinado de incubação (Figura 9A). Contudo, quando misturado ao *topsoil* nativo, verificou-se o desenvolvimento de organismos fotossintetizantes (Figura 9B). Esses resultados assemelham-se aos observados por Marques *et al*. (2017) e Santos (2022).

Figura 9: Desenvolvimento de organismos em NCs contendo Biocompósito Rejeito (A); *topsoil* e rejeito (B)



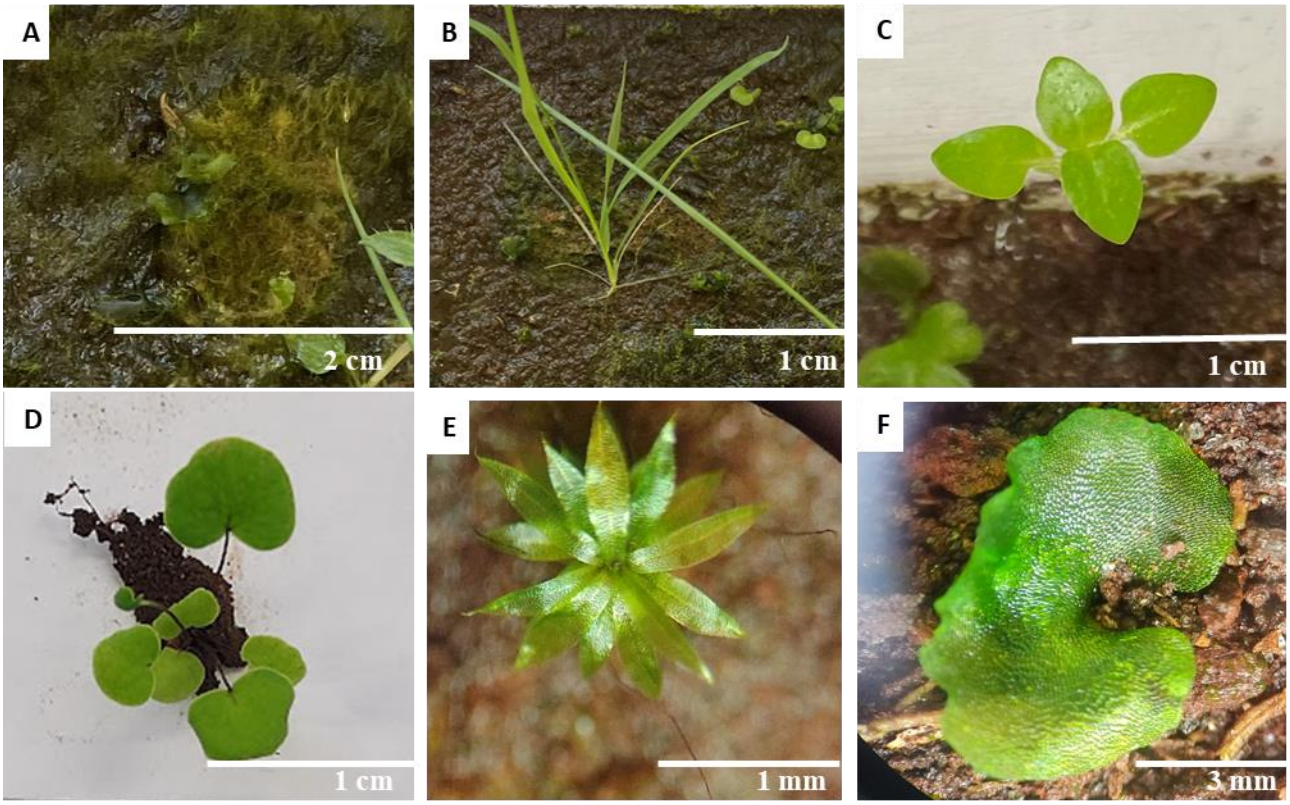
Tanto as amostras controles do *topsoil* quanto *topsoil*+rejeito apresentaram os primeiros sinais de formação de crosta biológica com 40 dias (Figura 10). As crostas biológicas do solo (CBSs) são o resultado de uma simbiose entre partículas do solo e uma variedade de organismos, que habitam os primeiros milímetros da superfície do solo ou logo acima dela (Belnap; Buldell; Lange, 2003). Tais crostas desempenham um papel significativo na regulação de processos primários dos ecossistemas (Maestre *et al*., 2011). O surgimento inicial de crostas biológicas no *topsoil* deste estudo sugere sua capacidade de fornecer elementos bióticos para a colonização e estabelecimento de um nicho ecológico. Essa colonização foi observada por Couto (2020) e Santos (2022) mesmo em condições de baixo teor de nutrientes e carbono orgânico.

Figura 10: Desenvolvimento de organismos ao longo do período de incubação com 40 dias no topsoil e topsoil+ rejeito



Durante as observações das amostras controle, identificou-se a presença de algas do gênero *Trentepohlia* sp. (conforme ilustrado na Figura 11A), três angiospermans, uma gramínea (*Fabaceae*) (Figura 11B) e outras duas não identificadas (Figura 11C-D). Ao longo do período de incubação (90-180 dias), observou-se aumento na diversidade de organismos fotobiontes, principalmente de briófitas pertencentes as famílias *Bryaceae* sp. (Figura 11E) e pteridófitas, com muitos protalos e plântulas da família Pteridaceae (Figura 11F).

Figura 11: Crescimento de organismos durante o período de incubação.



Algas verdes, família *Trentepohliaceae* (A); Gramínea *Fabaceae* (B); não identificado (C-D); Briófitas pertencentes as famílias, *Bryaceae* (E); Protalos de pteridófitas (F).

No nicho contendo cimento, não houve evidência de desenvolvimento de organismos; entretanto, nos estudos conduzidos por Couto (2020), observou-se o crescimento de algas do gênero *Trentepohlia* sp. nos corpos de prova expostos às condições naturais de campo. A incorporação de cimento resultou em um aumento do pH do material, o que pode ter criado um ambiente desfavorável para o crescimento e desenvolvimento de crostas biológicas. Entretanto, nos estudos realizados por Couto (2020), observou-se que os corpos de prova expostos no campo, apesar do elevado pH, estiveram sujeitos à biodiversidade do ambiente circundante, e possibilitou a colonização de uma variedade de organismos ali presentes. A detecção de fotobiontes no *topsoil*, na mistura de *topsoil* com rejeitos indica que o *topsoil* do Campo Rupestre proporciona os componentes bióticos necessários para o desenvolvimento dessa técnica.

Contudo, nos nichos TRB observou-se um desenvolvimento reduzido de fotobiontes quando comparados ao controle (*topsoil*). No entanto, os nichos TRB durante o período de cura (10 primeiros dias após desmoldagem) apresentaram uma rápida colonização por fúngica, visivelmente composta por fungos distintos do *Ganoderma lucidum* (Figura 7). Acredita-se que

o crescimento inicial desses microrganismos durante o processo de cura afetou o desenvolvimento posterior de fotobiontes. Isso porque, algumas espécies de fungos podem produzir micotoxinas, que são tóxicas para sementes e proliferação de outros organismos no solo (Winter; Pereg, 2019). O biocompósito de massa fúngica tem biomassa de fibras de cana-de-açúcar e de trigo, uma fonte de matéria orgânica em que muitas espécies de fungos podem crescer. Estudos demonstraram que os resíduos vegetais que permanecem no solo são uma fonte primária de entrada de micotoxinas no solo (Accinelli *et al.*, 2008*;* Hartmann *et al.*, 2008). No total, mais de 300 micotoxinas foram descritas, a maioria das quais são sintetizadas pelos gêneros bem conhecidos *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (Juraschek; Kappenberg; Amelung, 2022). Esses microrganismos ocorrem nos *topsoils* de CRF. Na canga, por exemplo, já foram isolados diversos fungos entre eles, *Aspergillus fumigatus, Trichoderma koningiopsis, Penicillium simplicimum Periconia, Curvularia e Alternaria, Mycosphaerella, Scytalidium e Talaromyces* (Ramos, 2016; Costa *et al.*, 2021) que podem produzir metabólitos secundários. Em rejeito de minério de ferro também já foram descritos alguns fungos, entre eles *Aureobasidium pullulans, Phaeosphaeria nodorum, Aspergillus fumigatus* e *Candida parapsilosis* (Williams; Cloete, 2008).

Em resumo, existe a hipótese de que o biocompósito de massa fúngica usado nos nichos construído seja um substrato para o crescimento inicial de fungos que liberam micotoxinas, desacelerando ou impendindo a colonização de fotobiontes nos TRBs. Estudos mais aprofundados são necessários, tais como a identificação dos fungos colonizadores e das possíveis micotoxinas produzidas por eles nos nichos TRBs, para confirmação da hipótese apresentada.

5.1 AVALIAÇÃO DOS ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS (EPT) NOS NICHOS CONSTRUÍDOS E SEUS CONSTITUINTES

Uma questão importante para a funcionalidade do NC levantada neste estudo foi se a presença do rejeito de mineração utilizado na construção do NC poderia representar algum risco químico para implementação deles nos campos rupestres. Na Tabela 2, são apresentadas as porcentagens e concentrações do ferro, manganês e alumínio no solo de algumas áreas do Quadrilátero Ferrífero (Serra da Piedade, Serra da Moeda e Brumadinho) e no rejeito de minério de ferro.

Tabela 2: Concentração de elementos no *topsoil* e rejeito de algumas regiões do Quadrilátero Ferrífero.

Metal	*Topsoil* [1]	*Topsoil* [2]	*Topsoil* [3]	Rejeito
Fe_2O_3 (%)	72,8	85,2	55	48,5
Mn mg kg^{-1})	-	627	1113	4664
Al (mg kg^{-1})	7941	-	2300	-
Cd (mg kg^{-1})	-	-	0,7	-
Cr (mg kg^{-1})	-	-	20	-
Cu (mg kg^{-1})	-	-	10	-
Ni (mg kg^{-1})	-	-	3	-
Pb (mg kg^{-1})	-	-	<2	-
Zn (mg kg^{-1})	-	-	191	-

[1]Serra da Piedade (Santos, 2022); [2]Serra da Moeda (Couto, 2020); [3]Diversas áreas do quadrilátero ferrífero (Mozart *et al.*, 2024).

Como era esperado, o teor de óxido de ferro é elevado nos solos do QF (superiores a 50%), incluindo a Serra da Piedade, área de coleta do topsoil do presente estudo, onde as concentrações totais de Fe são superiores a 72% (Tabela 2). No entanto, a quantidade deste metal liberado no meio ambiente por meio de processos de lixiviação com diferentes extratores foi baixa, conforme apresentado na Tabela 03. A quantidade de Fe liberada empregando os extratores HCl 1mol L^{-1} (396 mg kg^{-1}), Mehlich-1 (255 mg kg^{-1}), ácido acético pH 2,74 (9,9 mg kg^{-1}), ácido acético pH 4,55 (13 mg kg^{-1}) ou água (15 mg kg^{-1}) corresponde a menos de 1% da concentração total de Fe do topsoil da Serra da Piedade. Nas amostras de lixiviado de rejeito de minério de ferro, utilizando HCl (243 mg kg^{-1}), Mehlich-1 (108 mg kg^{-1}), ou ácido acético pH 2,74 (31 mg kg^{-1}), a concentração de Fe liberado foi ainda menor, correspondendo a menos de 0,5% da concentração total de Fe presente no rejeito.

Tabela 3. Teores de Al, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn extraídos a partir de ensaios de lixiviação com diferentes extratores.

		Concentração dos elementos (mg kg^{-1})								
Extrator	Amostra	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
HCl 1 mol L^{-1}	Branco	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	T	95 ± 3	< LD	< LD	< LD	396 ± 11	7 ± 1	< LD	< LD	3,9 ± 0,4
	R	175 ± 24	< LD	< LD	< LD	243 ± 13	70 ± 2	< LD	< LD	2,4 ± 0,2
	TR	131 ± 6	< LD	< LD	< LD	291 ± 22	54 ± 2	< LD	< LD	2,8 ± 0,4
	TRC	910 ± 44	0,5 ± 0,1	5,1 ±0,3	2,1 ± 0,1	1543 ± 121	148 ± 27	3,7 ± 0,1	6,3 ± 0,2	7,8 ± 0,4
	TRB	-	< LD	< LD	< LD	319 ± 11	73 ±14	< LD	< LD	2,5 ± 0,3
Mehlich-1	Branco	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	T	23 ± 1	< LD	< LD	< LD	255 ± 11	3,7 ± 0,2	< LD	< LD	0,8 ±0,1
	R	30 ± 5	< LD	< LD	< LD	108 ± 23	16 ± 1,19	< LD	< LD	1,4 ± 0,2
	TR	25 ± 2	< LD	< LD	< LD	137 ± 7	22 ± 3,66	< LD	< LD	0,9 ± 0,1
	TRC	3,9 ± 0,2	0,07 ±0,01	1,6 ± 0,4	< LD	271 ± 18	33 ± 3,54	< LD	< LD	1,5 ± 0,1
	TRB	-	< LD	< LD	< LD	171 ± 4	24 ± 2,35	< LD	< LD	0,8 ± 0,1
Ácido Acético 0,11 mol L^{-1}	Branco	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	T	46 ± 1	< LD	< LD	< LD	31 ± 4	5 ± 1	< LD	< LD	1,9 ± 0,3
	R	99 ± 36	< LD	< LD	< LD	15 ± 1	11 ± 2	< LD	< LD	2,4 ± 0,2
	TR	63 ± 6	< LD	< LD	< LD	3,5 ± 0,4	9 ± 2	< LD	< LD	2,3 ± 0,5
	TRC	164 ± 49	1,1 ± 0,3	< LD	< LD	28 ± 2	10 ± 15	5 ± 1	11 ± 2	8,6 ± 0,7
	TRB	-	< LD	< LD	< LD	22 ± 2	9 ± 2	< LD	< LD	2,4 ± 0,1
Ácido Acético pH 4,55	Branco	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	T	36 ± 3	< LD	< LD	< LD	13 ± 1	< LD	< LD	< LD	1,1 ± 0,1
	R	34 ± 2	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	0,9 ± 0,1
	TR	33 ± 1	< LD	< LD	< LD	< LD	7 ± 1	< LD	< LD	0,9 ± 0,1
	TRC	39 ± 2	< LD	2,4 ± 0,8	< LD	42 ± 2	11,1 ± 0,2	< LD	< LD	4,0 ± 0,1
	TRB	-	< LD	< LD	< LD	6,7 ± 0,1	4,3 ± 0,2	< LD	< LD	1,0 ± 0,2
Água	Branco	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	T	< LD	< LD	< LD	< LD	10 ± 2	< LD	< LD	< LD	0,7 ± 0,2
	R	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	TR	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	TRC	< LD	< LD	1,9 ± 0,3	< LD	< LD	< LD	< LD	8 ± 1	< LD
	TRB	-	< LD	< LD	< LD	10,3 ± 0,3	< LD	< LD	< LD	< LD

Legenda: T: *topsoil;* R: rejeito; TR: *topsoil* +rejeito; TRC: *topsoil* + rejeito + cimento; TRB: *topsoil* + rejeito + biocompósito; LD: Limite de Detecção

Entre os metais analisados, o alumínio é o segundo elemento mais abundante no solo da Serra da Piedade (Tabelas 2 e 3). A quantidade de alumínio liberada com os ensaios de lixiviação utilizando diferentes extratores corresponde a pouco mais de 1% da concentração total desse elemento no solo.

Estudos realizados em solos semelhantes ao da serra da Piedade, localizados também no Quadrilátero Ferrífero, indicam que os metais zinco e manganês estão presentes em pequenas quantidades (em níveis traço) (Mozart *et al.*, 2024; Soares *et al.*, 2017). Considerando essas concentrações, a quantidade de metais lixiviados para o ambiente ao se utilizar o extrator mais agressivo HCl 1 mol L^{-1} corresponderia a menos de 2% para o zinco e menos de 1% para o manganês da concentração total desses elementos no solo (Tabela 2 e 3).

O manganês é o terceiro elemento mais abundante nos rejeitos e suas concentrações estão relacionadas ao material de origem, principalmente óxidos de Mn (Carvalho Filho *et al.*, 2011). Além das elevadas concentrações de Mn provenientes de fontes geogênicas, o processo de extração de Fe também contribui para o aumento das concentrações de Mn. Isso ocorre devido à fragmentação e exposição dos minerais a condições de intemperismo, especialmente aquelas relacionadas ao processo de reação com o oxigênio, uma vez que os rejeitos são mantidos em barragens com grande quantidade de água (Silva *et al.*, 2022). No entanto, as concentrações de manganês liberadas para o meio ambiente ao se utilizar HCl 1 mol L^{-1} correspondem a menos de 1,5%.

Os elementos Cr, Cd, Cu, Ni e Pb, apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção para todas as amostras, exceto para o NC contendo cimento como aglomerante (Tabela 3), os quais são consideravelmente menores que os valores de referência para solos no nível de prevenção conforme resoluções a nível estadual e nacional (anexo 1). As concentrações de Mn, Fe e Al também foram superiores nos lixiviados de TRC para a maioria dos extratores utilizados. As concentrações desses elementos podem estar associadas aos constituintes do cimento, tais como escória de alto forno, resíduos de termo elétrica e carvão vegetal, clínquer (constituído de sílica, alumínio e ferro) conforme mencionado por SINIC (2019). No entanto, cabe destacar que os ensaios de lixiviação realizados demonstraram baixa liberação dos elementos analisados, indicando que mesmo os materiais de partida isolados não oferecem riscos de contaminação por esses metais quando utilizados na confecção dos NCs.

Em contrapartida, o biocompósito utilizado como constituinte aglomerante do NC, parece não alterar a composição química do NC, visto que as concentrações dos elementos analisados apresentaram valores próximos aos encontrados nas matérias-primas *topsoil* e rejeito

de minério de ferro, conforme indicado na Tabela 3. Essa característica “inerte” torna o biocompósito uma alternativa ecológica para ser empregado no meio ambiente.

As soluções extratoras utilizadas para avaliar a disponibilidade dos metais exibiram a seguinte ordem decrescente de capacidade de extração: HCl 1 mol L^{-1} > Ácido Acético 0,11 mol L^{-1} > Mehlich-1 > Ácido Acético pH = 4,55 > água, para a maioria dos elementos. Esta ordem indica que os extratores mais ácidos possuem maior capacidade de extração em comparação aos menos ácidos.

Entre as diversas técnicas de extração utilizadas, o HCl 1 mol L^{-1} demonstrou possuir o maior poder de extração, em virtude de seu elevado grau de acidez. Esse procedimento é amplamente aplicado por ser uma técnica rápida e acessível (Yu *et al.*, 2021). Snape *et al.* (2004) relatam que o uso do HCl 1 mol L^{-1} ataca as principais fases lábeis presentes na matriz do solo, como a fase solúvel, a fase trocável e a fase orgânica. Na fase solúvel, os nutrientes e metais estão dissolvidos na solução do solo, tornando-se prontamente disponíveis para as plantas. Na fase trocável, os elementos são retidos na matriz do solo por atração eletrostática (Anju; Banerjee, 2010; Filgueiras *et al.*, 2002). Nos solos de Campo Rupestre, a alta presença de óxidos de ferro e minerais estáveis, como o quartzo, influencia a fase trocável, limitando a disponibilidade de elementos (Schaefer *et al.*, 2015, 2016). A fase orgânica, por sua vez, é composta por matéria orgânica que pode liberar metais em formas disponíveis para as plantas, ou seja, quando estes estiverem adsorvidos na superfície da matéria orgânica também por interações eletrostáticas (adsorção física). No entanto, nos CRF, essa fase é encontrada em quantidades reduzidas, visto o baixo teor de matéria orgânica geralmente encontrado nestes tipos de solos (Machado *et al.*, 2013; Schaefer *et al.*, 2015).

O processo de extração utilizando ácido acético 0,11 mol L^{-1} é relativamente lento, com uma duração de aproximadamente 16 horas. Essa técnica corresponde à primeira fase do método de extração sequencial BCR (*Bureau Community of Reference*) – é um protocolo de extração sequencial de ampla aceitação internacional, que é destinado à extração da fração de metais associada à fase trocável e aos compostos solúveis em ácido (Canepari *et al.*, 2005). Essa fração é geralmente considerada a mais lábil e biodisponível, o que indica que os metais presentes nesta fase estão mais prontamente disponíveis para absorção por plantas e organismos (Bacon; Hewitt; Cooper, 2005). Este extrator demonstrou um poder de extração inferior ao do HCl 1 mol L^{-1}, especialmente para o ferro, indicando baixa labilidade dos elementos analisados ao ambiente.

O extrator Mehlich-1 apresentou um poder de extração comparável ao do ácido acético 0,11 mol L^{-1}. Esse extrator é amplamente utilizado na agricultura com o objetivo de avaliar as

frações de metais assimiláveis pelas plantas (Tavares *et al*., 2013). Quando aplicado em solos ácidos, de baixa capacidade de troca catiônica (CTC), altamente intemperizados e pobres em nutrientes, o Mehlich-1 demonstra boa capacidade preditiva (Reis, 2016). Dadas as características dos solos de Campo Rupestre Ferruginoso (CRF), os elementos avaliados estão predominantemente presentes na fase trocável do solo, o que torna o uso do extrator Mehlich-1 relevante. Esse método baseia-se na solubilização controlada pelo pH, que varia entre aproximadamente 2 e 3, permitindo que as amostras diluídas com ácido forte removam os metais trocáveis da fase sólida (Silva *et al.*, 2016).

O ácido acético diluído (pH 4,55) e água foram utilizados com o objetivo de simular condições ambientais normais e de chuva ácida. A chuva ácida tem o potencial de aumentar a liberação de elementos potencialmente tóxicos dos solos, contaminando tanto ecossistemas terrestres quanto aquáticos. Estudos destacam que o pH da chuva ácida é o principal fator que influencia a mobilidade e a especiação de metais no solo (Ding; Wang; Hu 2011; Li *et al*., 2015). No entanto, a quantidade de metais liberada por meio desses extratores foi menor que nos ensaios anteriores, abaixo do limite de detecção da técnica para a maioria dos elementos, o que demonstra a segurança dos NCs e seus constituintes.

A mobilidade e a disponibilidade dos metais no solo podem ser influenciadas por propriedades físico-químicas, como pH, capacidade de troca catiônica, teor de matéria orgânica, condições de oxirredução, quantidade e tipo de fração argila (argilas silicatadas e óxidos), além das características intrínsecas do elemento (Meurer, 2008). Nos Campos Rupestres Ferruginosos, os metais geralmente tendem a ser menos móveis devido a uma série de fatores específicos desse ecossistema. Desde a constituição do solo (Machado *et al*., 2013; Schaefer *et al*., 2015), as condições climáticas severas (Schaefer *et al*., 2016) até microrganismos que têm a capacidade de quelar o ferro, através da produção de moléculas, conhecidas por sideróforos (Camargo *et al*., 2023; Saha *et al.* 2016). Embora a liberação desses metais pudesse ocorrer na fração trocável do solo, os ensaios com os lixiviados (Tabela 3) demonstraram que menos de 2% da concentração total desses metais é liberada, indicando que a utilização dos NCs se mostra uma alternativa promissora e segura.

5.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS LIXIVIADOS NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE HORTALIÇAS

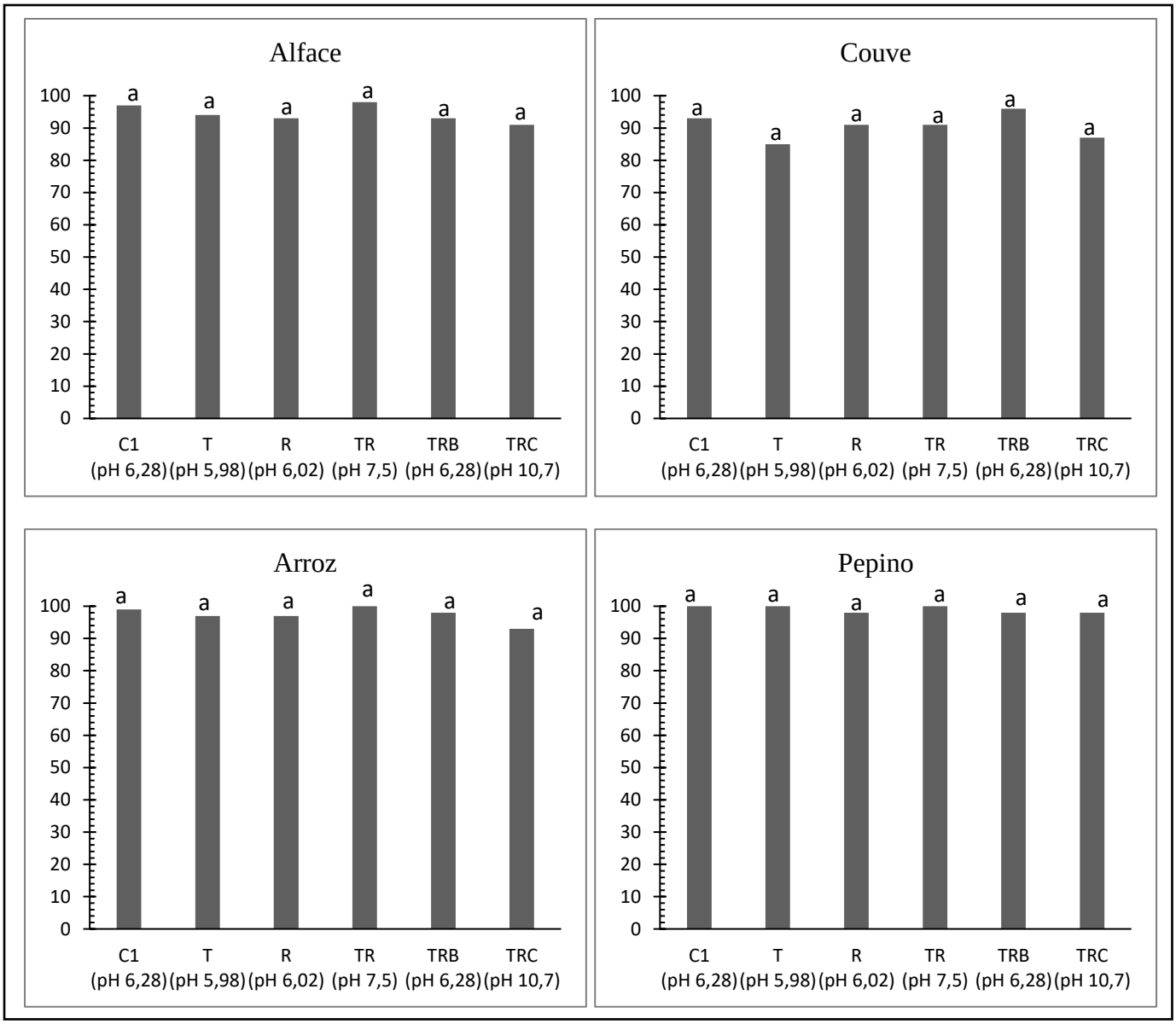
Assim como as análises químicas, os ensaios de ecotoxicidade desempenham um papel de grande relevância na avaliação dos potenciais impactos ambientais ocasionados por substâncias químicas (Costa *et al*., 2008). Essa avaliação é essencial para garantir a viabilidade da utilização dos NCs na recuperação de áreas degradadas. Os ensaios conduzidos buscaram simular condições análogas à chuva ácida por meio da utilização de extratores de caráter menos agressivo (ácido acético pH 4,55 e 3,55), água e ácido acético 0,11 mol L^{-1}. Segundo Bozym (2020), pode ocorrer a inibição da germinação e/ou escurecimento do tegumento da semente devido à alta concentração de alguns elementos (Cu, Cd, Ni, Pb, Zn e Fe) e o baixo pH do lixiviado.

Na Figura 12 são apresentadas as porcentagens de germinação das sementes de alface, couve, arroz e pepino umedecidas com água e com todos os lixiviados derivados da extração aquosa. Observou-se que a porcentagem de germinação final foi maior que 80% para todas as espécies de sementes. As análises estatísticas mostraram que não houve diferenças estatísticas entre as porcentagens de germinação para todas as espécies de sementes quando comparadas com o controle C1 e os demais lixiviados. Esse resultado indicou que não houve inibição do processo germinativo.

Os TMGs das sementes diferiram significativamente conforme o tipo de lixiviado em que foram umedecidas (Figura 13), exceto para a germinação das sementes do pepino, que não houve variação estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,005$). Observou-se que TMG das sementes de alface, couve e arroz umedecidas com o lixiviado de TRC foi estatisticamente maior (ANOVA, $p < 0,005$) em relação ao controle 1 (Figura 13).

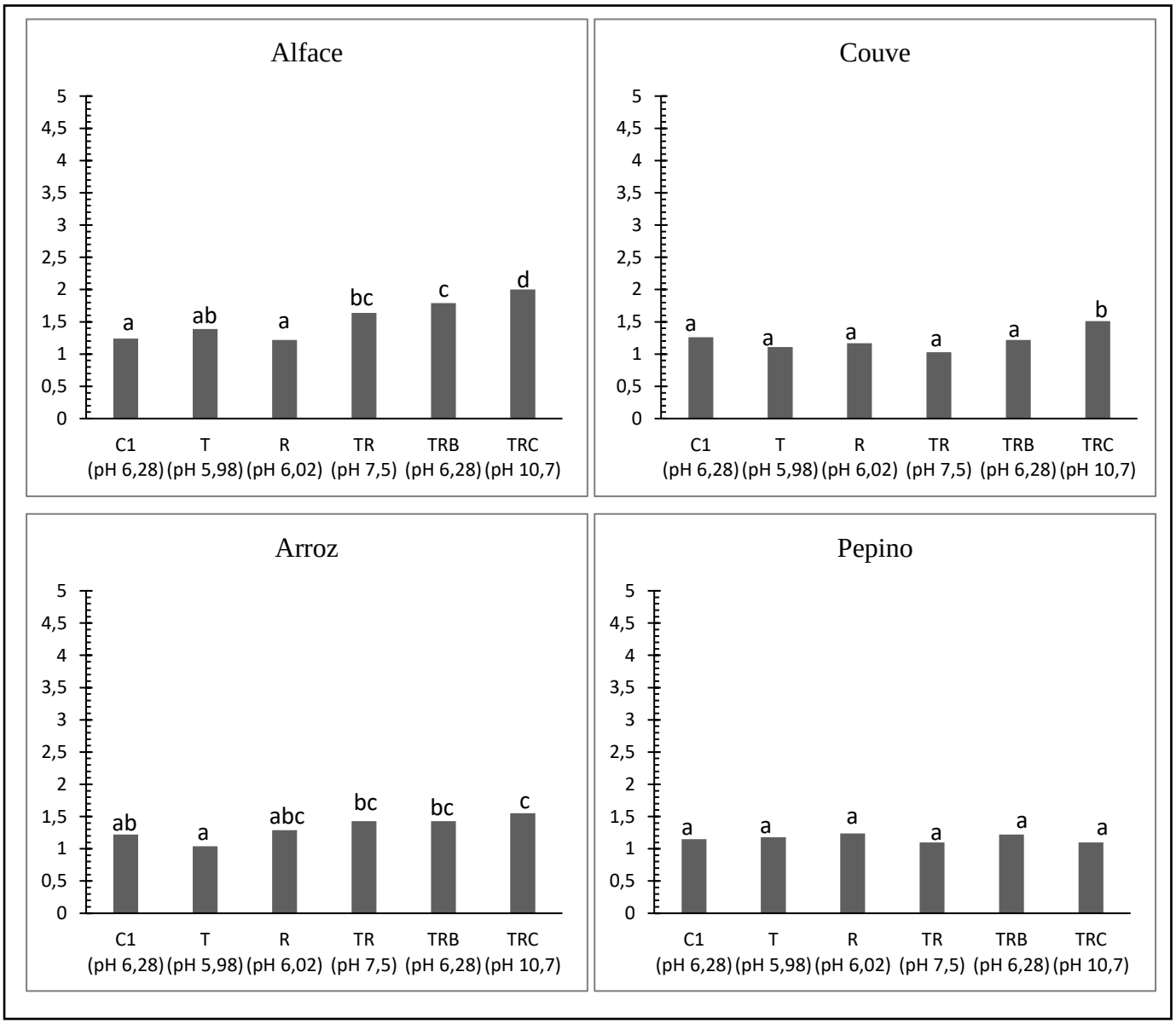
Acredita-se que o pH 10,7 do lixiviado do TRC tenha prolongado o tempo necessário para germinação da maioria das sementes, uma vez que algumas espécies apresentam maior tolerância à variação do pH do que outras, e a disponibilidade de certos nutrientes essenciais pode ser reduzida em meios alcalinos (Rymuza; Radzka, 2021; Fragallah *et al.* 2019). Chadha *et al* (2019) observaram que a variação do pH não afetou as porcentagens de germinação de sementes de alface, porém em pH 10, o tempo de germinação foi maior quando comparadas aos demais valores de pH, o que também foi observado nesta pesquisa.

Figura 12. Porcentagem de germinação (G%) das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água e lixiviados aquosos.



Legenda: T (Lixiviado do *topsoil*); R (Lixiviado do rejeito); TR (Lixiviado do *topsoil* e rejeito); TRC (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e cimento); TRB (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e biocompósito). Letras iguais no mesmo gráfico significam valores estatisticamente iguais segundo ANOVA *one-way*, teste Tukey, $p < 0,005$

Figura 13. Tempo médio de germinação (TMG) em dias das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água e lixiviados aquosos.

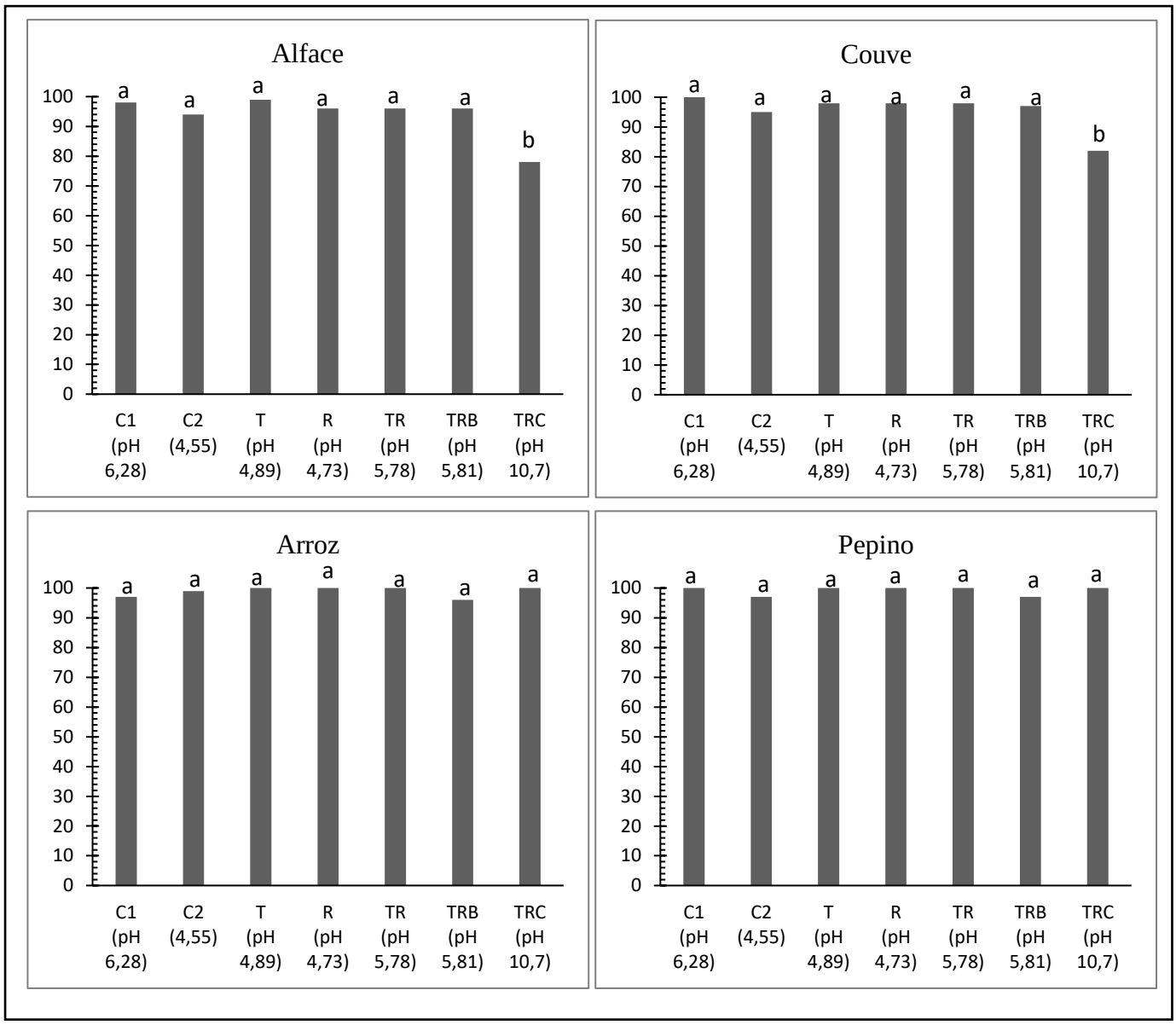


Legenda: T (Lixiviado do *topsoil*); R (Lixiviado do rejeito); TR (Lixiviado do *topsoil* e rejeito); TRC (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e cimento); TRB (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e biocompósito). Letras diferentes no mesmo gráfico significam valores estatisticamente diferentes segundo ANOVA *one-way*, teste Tukey, $p < 0,005$.

Na Figura 14 são apresentadas as porcentagens de germinação das sementes de alface, couve, arroz e pepino umedecidas com água (controle 1), ácido acético pH 4,55 (controle 2) e com todos os lixiviados derivados da extração ácida. Observou-se que a porcentagem de germinação final foi maior que 78% para todas as espécies de sementes. As análises estatísticas mostraram que não houve diferenças estatísticas entre as porcentagens de germinação para todas as espécies de sementes quando comparadas com o controle C1, controle C2 e os demais lixiviados, exceto para as sementes de alface e couve quando umedecidas com o lixiviado TRC. Esse resultado indicou que não houve inibição do processo germinativo.

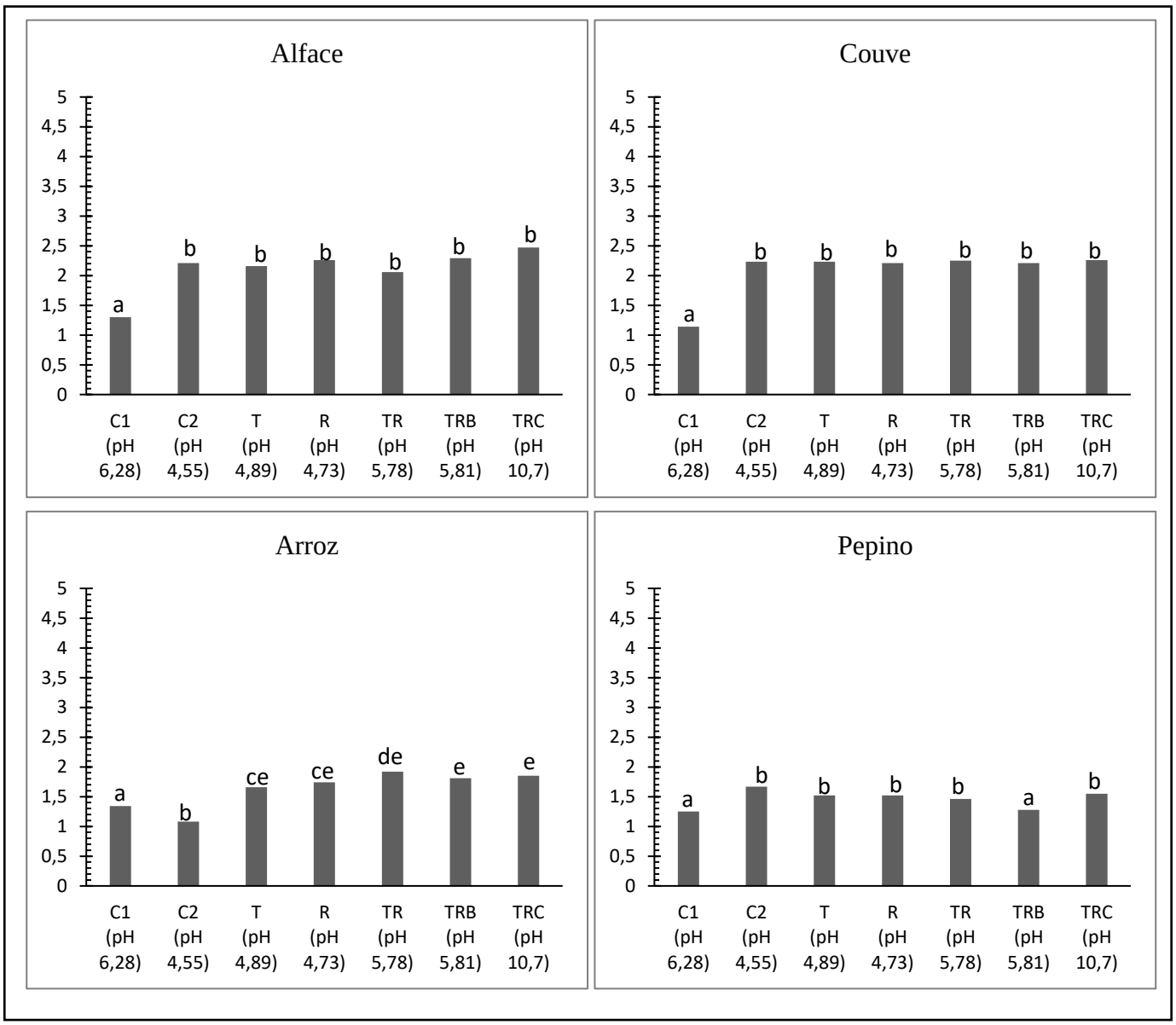
Os TMGs das sementes diferiram significativamente conforme o tipo de lixiviado em que foram umedecidas (Figura 15). Observou-se que TMG das sementes de arroz umedecidas com o lixiviado de TRC e TRB foram estatisticamente maiores (ANOVA, $p < 0,005$) em relação aos controles C1 e C2. O TMG das sementes de pepino umedecidas com TRB foi estatisticamente igual (ANOVA, $p < 0,005$) ao controle C1 (Figura 15). As sementes da alface e couve germinaram mais rápido na água (1,30 e 1,14 respectivamente) e estatisticamente diferente dos outros tratamentos (ANOVA, $p < 0,005$). No entanto, tiveram tempos germinação semelhantes ao controle C2 (ácido acético pH 4,55) e aos tratamentos T, R, TR, TRB, TRC (Figura 15).

Figura 14. Porcentagem de germinação (G%) de sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 4,55 e lixiviados ácidos (ácido acético pH 4,55).



Legenda: T (Lixiviado do *topsoil*); R (Lixiviado do rejeito); TR (Lixiviado do *topsoil* e rejeito); TRC (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e cimento); TRB (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e biocompósito). Letras diferentes no mesmo gráfico significam valores estatisticamente diferentes segundo ANOVA *one-way*, teste Tukey, $p < 0,005$.

Figura 15. Tempo médio de germinação (TMG) em dias das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 4,55 e lixiviados ácidos (ácido acético pH 4,55).



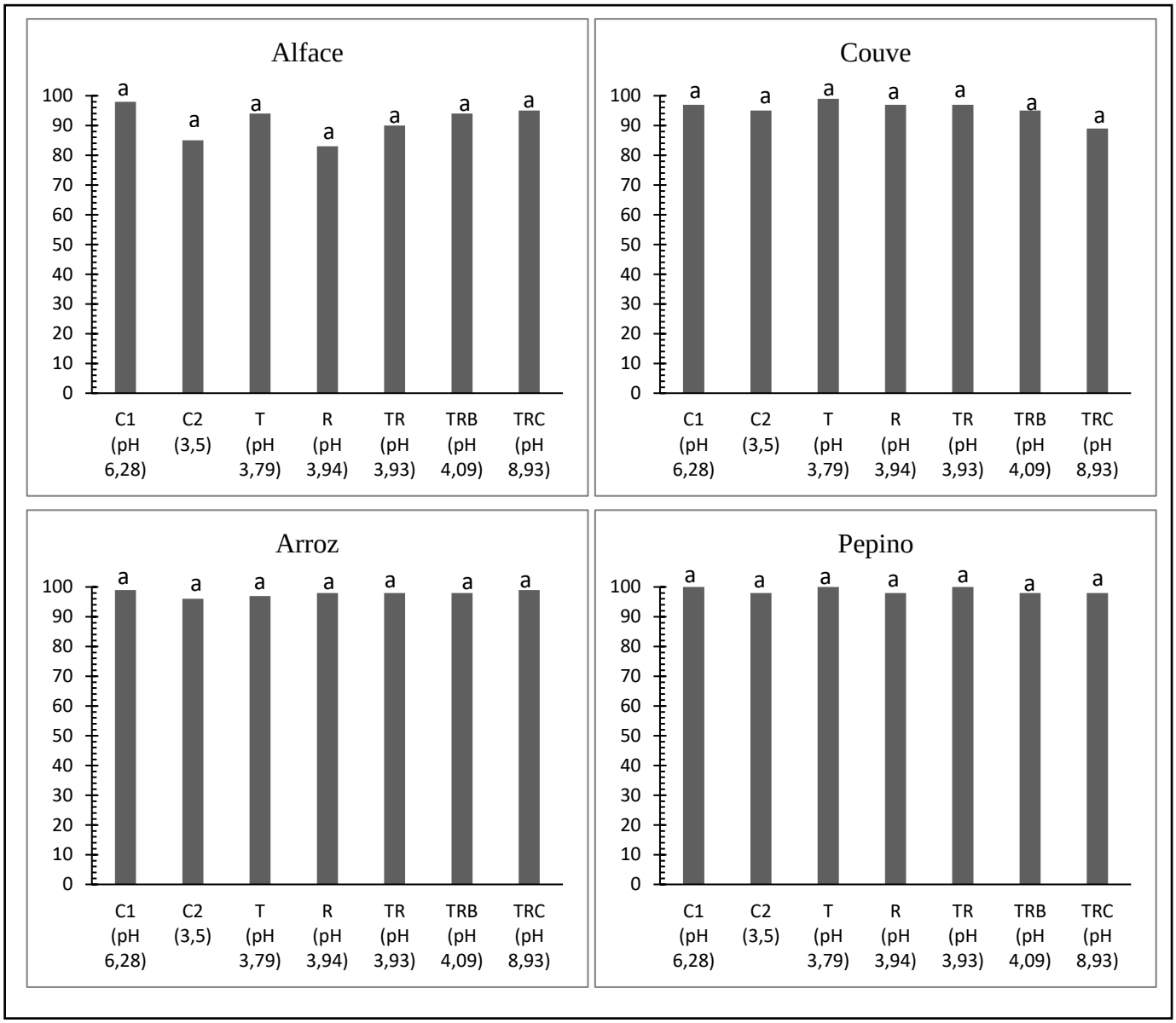
Legenda: T (Lixiviado do *topsoil*); R (Lixiviado do rejeito); TR (Lixiviado do *topsoil* e rejeito); TRC (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e cimento); TRB (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e biocompósito). Letras diferentes no mesmo gráfico significam valores estatisticamente diferentes segundo ANOVA *one-way*, teste Tukey, $p < 0,005$.

Na Figura 16 são apresentadas as porcentagens de germinação das sementes de alface, couve, arroz e pepino umedecidas com água e com todos os lixiviados derivados da extração ácida com ácido acético (pH 3,5). Observou-se que a porcentagem de germinação final foi maior que 83% para todas as espécies de sementes. As análises estatísticas mostraram que não houve diferenças estatísticas entre as porcentagens de germinação para todas as espécies de sementes quando comparadas com os controles (C1 e C2) e os demais lixiviados. Esse resultado indicou que também não houve inibição do processo germinativo como os dos lixiviados aquosos testados.

Independente do lixiviado em que foram umedecidas, os TMGs das sementes de alface, couve, arroz e pepino diferiram significativamente do controle C1 (água) (Tabela 6) (ANOVA, $p < 0,005$). No entanto, os TMGs dessas hortaliças não diferiram estatisticamente do controle C2, exceto para couve (ANOVA, $p > 0,05$). O TMG da couve foi significativamente maior (2,85 ± 0,19 dias) quando umedecidas com o extrator de ácido acético pH 3,5 quando comparado com os demais TMGs dessa hortaliça (Figura 17).

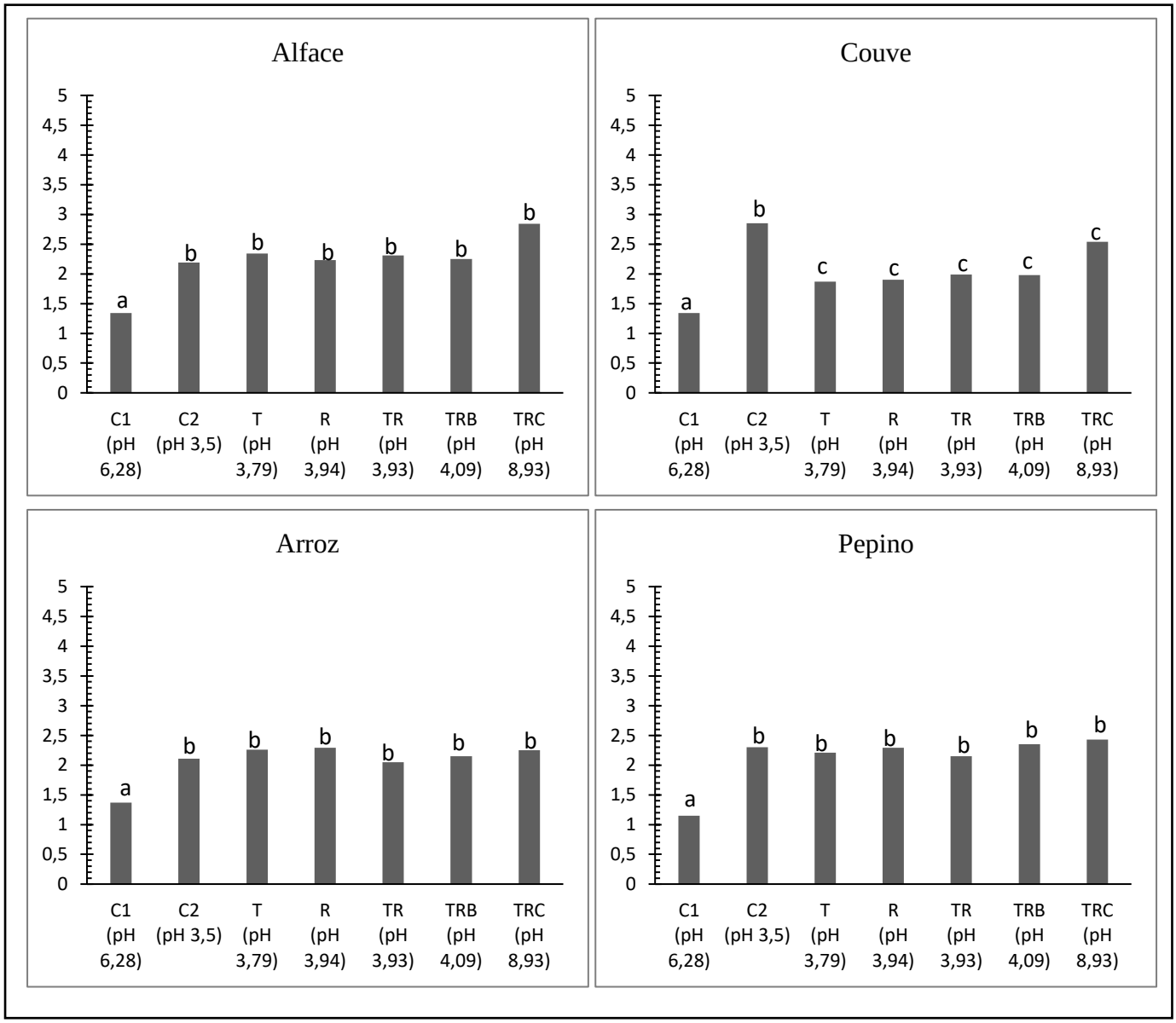
A análise dos dados apresentados nas Figuras 13, 15 e 17 revelam que o tempo médio de germinação aumentou à medida que o pH das soluções diminuiu (sequência água < ácido acético pH 4,55 < ácido acético pH 3,5), exceto para as sementes de couve. A relação entre o pH, o TMG e a porcentagem de germinação de sementes podem variar dependendo da espécie da hortaliça. Em geral, a germinação das sementes de alface é favorecida em um intervalo de pH entre 6,0 e 7,0 (Inoue *et al.*, 2000). Para as sementes de couve, o pH ótimo varia entre 6,0 e 7,5 (Yuan *et al.*, 2012). A faixa de pH ideal para sementes de arroz está entre 5,0 e 6,5 (Wang; Zhou, 2010). Já para as sementes de pepino, o pH ideal situa-se entre 5,5 e 6,5 (Krumrei, 2019).

Figura 16. Porcentagem de germinação (G%) das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 3,5 e lixiviados ácidos (ácido acético pH 3,5).



Legenda: T (Lixiviado do *topsoil*); R (Lixiviado do rejeito); TR (Lixiviado do *topsoil* e rejeito); TRC (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e cimento); TRB (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e biocompósito). Letras iguais no mesmo gráfico significam valores estatisticamente iguais segundo ANOVA *one-way*, teste Tukey, $p < 0,005$

Figura 17. Tempo médio de germinação (TMG) em dias das sementes de *Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz) e *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 3,5 e lixiviados ácidos (ácido acético pH 3,5).



Legenda: T (Lixiviado do *topsoil*); R (Lixiviado do rejeito); TR (Lixiviado do *topsoil* e rejeito); TRC (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e cimento); TRB (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e biocompósito). Letras diferentes no mesmo gráfico significam valores estatisticamente diferentes segundo ANOVA *one-way*, teste Tukey, $p < 0,005$.

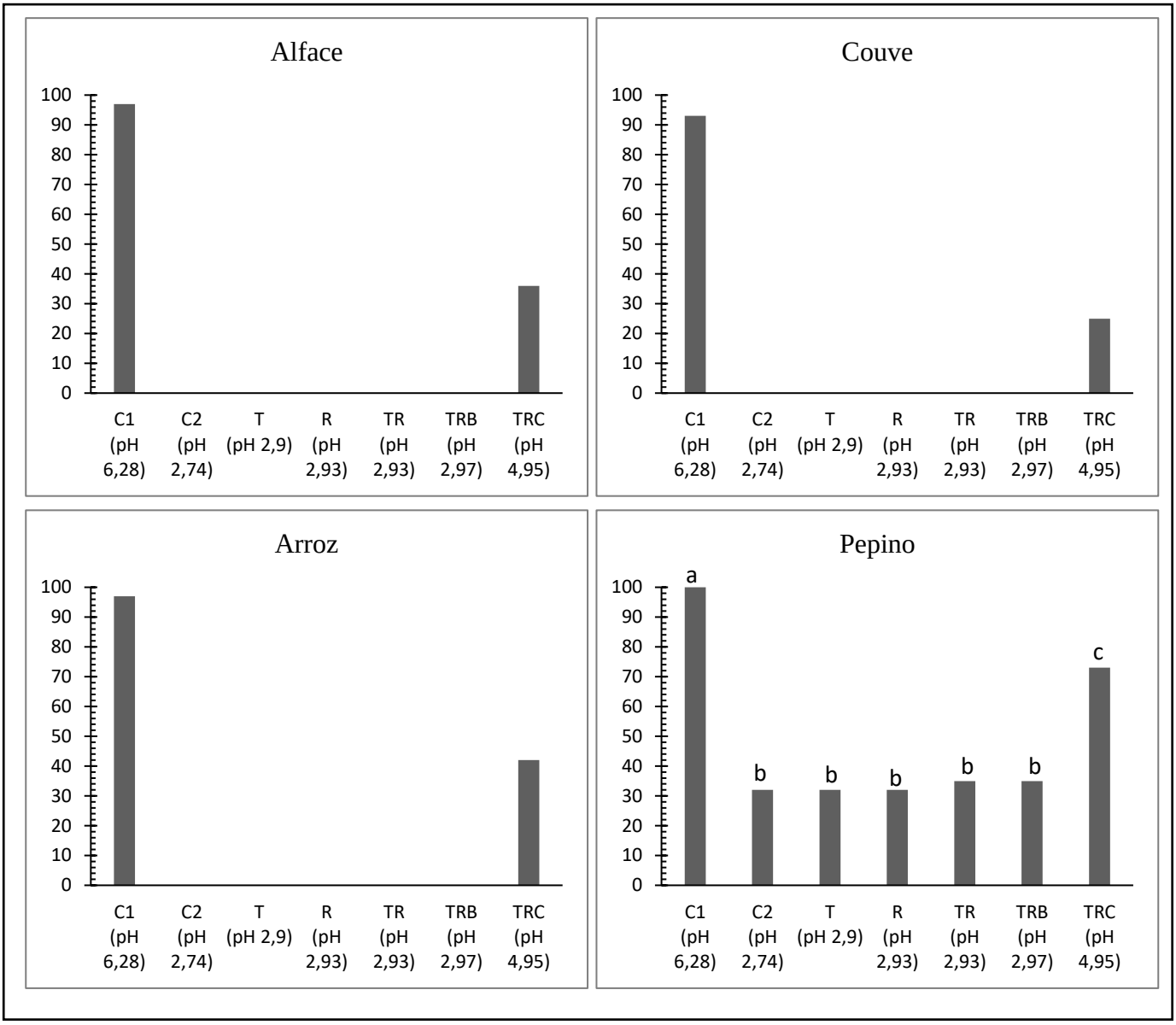
Aa aplicação de ácido acético 0,11 mol L^{-1} (pH 2,74) como agente extrator resultou em completa inibição na porcentagem de germinação das sementes de alface, couve e arroz em todos as condições experimentais, exceto no tratamento com TRC, conforme apresentado na Figura 18. As porcentagens de germinação das sementes umedecidas com o lixiviado com

cimento ficaram abaixo de 50%. Esse resultado pode ser atribuído ao pH mais elevado deste lixiviado (pH 4,95). Por outro lado, as sementes de pepino (Figura 18) germinaram em todos os tratamentos investigados, embora a porcentagem de germinação tenha permanecido abaixo de 40%, exceto no tratamento com TRC, nos quais excedeu 70%.

De acordo com Wagner Júnior *et al*. (2007), o pH exerce influência direta em diversos processos de desenvolvimento de um vegetal, devido ao seu efeito na disponibilidade de nutrientes, ainda ressaltam que valores de pH menores que 3,0 e superiores a 8,0 tem sido descrito como inibidores na maioria dos processos germinativos. Os resultados obtidos no ensaio com ácido acético pH 2,74 (0,11 mol L^{-1}) corroboraram com essas observações. Foi constatado que no grupo controle irrigado com água (C1), cujo pH estava próximo da neutralidade (pH 6,28), a taxa de germinação excedeu 90%. Nos tratamentos T, R, TR e TRB os valores de pH situaram-se em torno de 3, o que resultou em completa ausência de germinação e no escurecimento das sementes de alface, couve e arroz, assim como relatado por Bozym (2020).

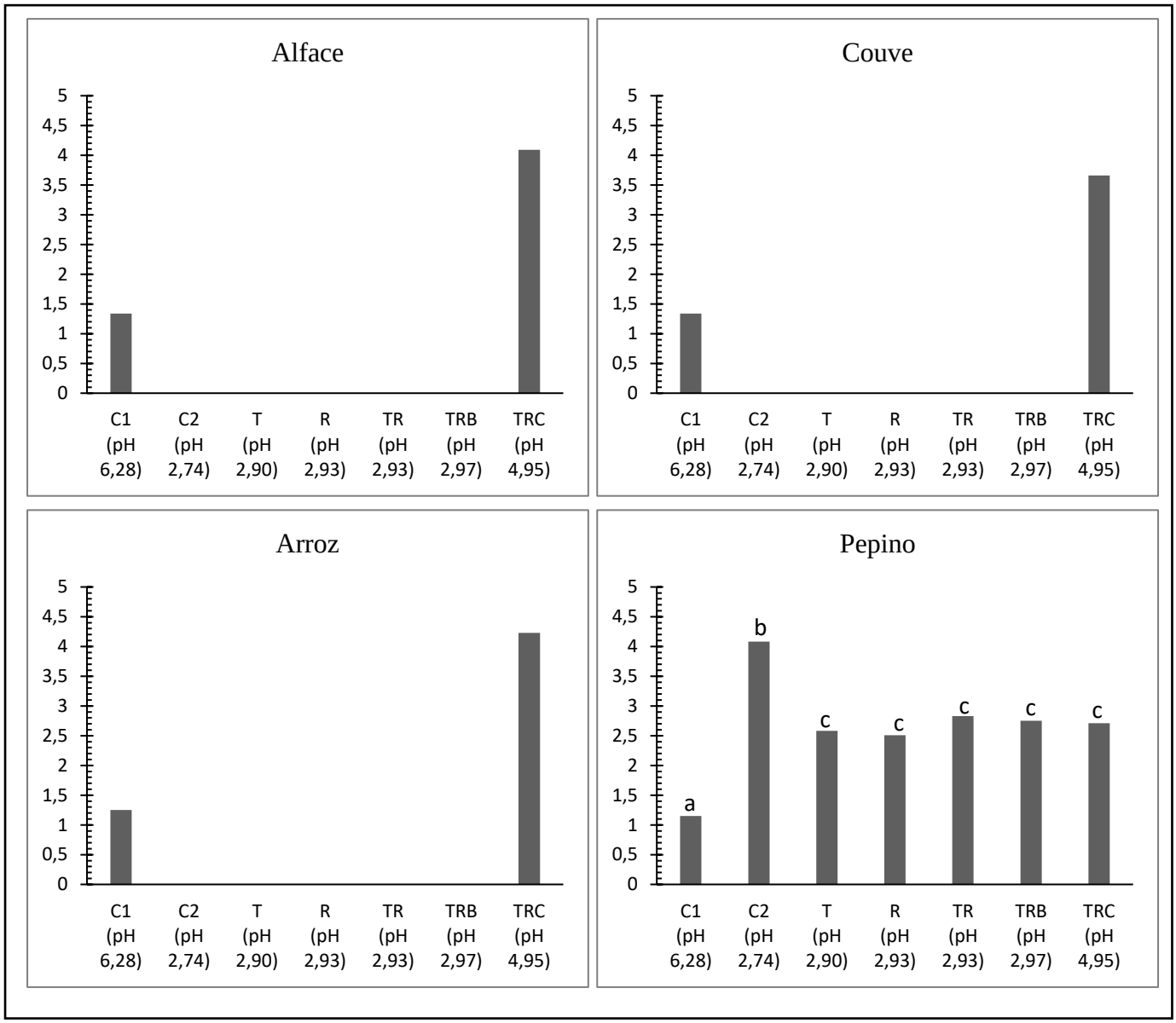
O tempo médio de germinação das sementes de pepino foram estatisticamente iguais (ANOVA, $p < 0,005$) quando umedecidas com os lixiviados de T e dos nichos TR, TRB, TRC (Figura 19). No entanto, os TMGs da sementes no controle com água (C1) e no com ácido acético 0,11 mol L^{-1} (C2) apresentaram diferenças significativas em relação aos demais tempos. O TMG do C1 foi o menor (em torno de 1,15 dias) e do controle C2, o maior tempo de germinação (4,08 dias, aproximadamente).

Figura 18. Porcentagem de germinação (G%) das sementes de (*Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz); *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 2,74 e lixiviados ácidos (acético pH 2,74).



Legenda: T (Lixiviado do *topsoil*); R (Lixiviado do rejeito); TR (Lixiviado do *topsoil* e rejeito); TRC (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e cimento); TRB (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e biocompósito). Letras diferentes no mesmo gráfico significam valores estatisticamente diferentes segundo ANOVA *one-way*, teste Tukey, $p < 0,005$.

Figura 19. Tempo médio de germinação (TMG) em dias das sementes de *(Lactuca sativa* (alface); *Brassica oleracea* (Couve); *Orysa sativa* (arroz); *Cucumis sativus* (Pepino) irrigadas com água, ácido acético pH 2,74 e lixiviados ácidos (acético pH 2,74).



Legenda: T (Lixiviado do *topsoil*); R (Lixiviado do rejeito); TR (Lixiviado do *topsoil* e rejeito); TRC (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e cimento); TRB (Lixiviado do *topsoil*, rejeito e biocompósito). Letras diferentes no mesmo gráfico significam valores estatisticamente diferentes segundo ANOVA *one-way*, teste Tukey, $p < 0,005$.

De acordo com as análises químicas realizadas nesse estudo (Tabela 2), os elementos que poderiam afetar a germinação das sementes utilizando os lixiviados obtidos dos extratores de ácido acético (com pH 2,74 e pH 4,55) e água, são Al, Fe, Mn e Zn. Estudos têm demonstrados que esses metais podem interferir no processo de germinação de algumas sementes que variam conforme a espécie e em determinadas faixas de concentrações destes elementos. (Bozym, 2020; Lin; Xing, 2007; Liu *et al.* 2016).

Liu *et al.* (2016) investigaram o efeito de zinco, manganês e ferro na germinação de sementes de alface, demonstrando que o Zn reduz a germinação da alface em concentrações superiores a 1,6 mg L^{-1}, e, mesmo em níveis nutricionais, não promoveu aumento significativo na germinação, visto que a exigência de Zn pela alface é baixa nesta fase. Concentrações de Mn inferiores a 50 mg L^{-1} não impactaram negativamente a germinação, enquanto o ferro, em baixas concentrações (5-20 mg L^{-1}), pode agir como fertilizante durante esse processo. Contudo, em concentrações próximas a 50 mg L^{-1}, o Fe reduziu a taxa de germinação de 90% para 56%. Em relação ao alumínio, as concentrações máximas toleradas para a germinação de alface e pepino são de 2,7 mg L^{-1} (Cunha Neto *et al*., 2023) e 13,5 mg L^{-1} (Kouki *et al*., 2021), respectivamente. Outros estudos indicam que concentrações de ferro próximas a 2000 mg L^{-1} prejudicam a germinação de sementes de arroz (Alidoust; Isoda, 2014) e pepino (Konate *et al*., 2018). Lin e Xing (2007) observaram que concentrações de 20 mg L^{-1} de zinco reduziram o desenvolvimento de sementes de couve, enquanto concentrações de 200 mg L^{-1} afetaram significativamente o pepino (Yang *et al*., 2015). Em resumo, as concentrações de Al, Fe, Mn e Zn relatadas na literatura excedem os valores observados nos lixiviados utilizados nos testes de germinação com ácido acético (pH 2,74 e 4,55) e água (Tabela 8). As concentrações máximas observadas foram de 0,8 mg L^{-1} para o ferro, 0,10 mg L^{-1} para o zinco, 0,3 mg L^{-1} para o manganês e 0,4 mg L^{-1} para o alumínio, todas obtidas com o extrator de ácido acético a pH 2,74. Além disso, os elementos Cd e Pb foram liberados pelos lixiviados contendo cimento como aglomerante, porém, as concentrações estavam abaixo dos limites estabelecidos pela regulamentação ambiental CONAMA 420/09 (Anexo I).

Tabela 4. Teor Al, Fe, Mn e Zn extraídos a partir de ensaios de lixiviação.

		Concentração dos elementos (mg L^{-1})			
Extrator	**Amostra**	**Al**	**Fe**	**Mn**	**Zn**
Ácido acético pH 2,74	T	1,0	0,8	0,1	0,05
	R	3,0	0,4	0,3	0,06
	TR	2,0	0,1	0,3	0,06
	TRC	4,0	0,5	0,3	0,10
	TRB	-	0,6	0,2	0,06
Ácido acético pH 4,55	T	0,9	0,3	< 0,04	0,03
	R	0,9	< 0,01	< 0,04	0,02
	TR	0,8	< 0,01	0,2	0,02
	TRC	1,0	1,0	0,3	0,1
	TRB	-	0,2	0,1	0,04
Água destilada	T	< 0,80	0,3	< 0,04	0,02
	R	< 0,80	< 0,08	< 0,04	< 0,01
	TR	< 0,80	< 0,08	< 0,04	< 0,01
	TRC	< 0,80	< 0,08	< 0,04	< 0,01
	TRB	-	0,3	< 0,04	< 0,01

Mediante a realização de ensaios químicos e avaliações de ecotoxicidade, foi possível constatar que os NCs com cimento e com biocompósito não apresentam níveis de toxicidade que possam representar um obstáculo para sua aplicação na restauração de áreas degradadas. Mesmo em condições ácidas substanciais às quais os NCs foram submetidos não se evidenciou a liberação de metais que causassem efeitos tóxicos.

6. CONCLUSÃO

A pesquisa realizada demonstrou que os nichos construídos (NCs), compostos por rejeito de minério de ferro, apresentam potencial para aplicação na restauração de áreas degradadas, particularmente em ambientes de Campo Rupestre Ferruginoso. Os testes de toxicidade indicaram que o rejeito de minério de ferro não libera quantidades significativas de elementos tóxicos para o meio ambiente, comprovando sua viabilidade como componente dos NCs. Além disso, os testes de germinação revelaram que, embora presentes elementos potencialmente tóxicos (EPT), como Al, Fe, Mn e Zn, suas concentrações não foram suficientes para inibir o crescimento das sementes. Isso reforça a viabilidade do uso dos NCs na recuperação ambiental sem comprometer a qualidade do solo ou da vegetação.

As análises de resistência mecânica, por sua vez, indicaram que os NCs com biocompósito fúngico apresentam menor durabilidade em comparação aos NCs com cimento. No entanto, esses materiais podem ser aprimorados para garantir maior robustez, sem perder seu caráter sustentável. Em termos de biorreceptividade, o estudo experimental evidenciou o desenvolvimento de organismos no *topsoil* e na mistura de *topsoil* com rejeito de minério de ferro, comprovando que o solo nativo contribui positivamente para a colonização de organismos no nicho. No entanto, a adição do biocompósito parece ter afetado o desenvolvimento desses organismos, uma vez que praticamente não houve crescimento de fotobiontes nos NCs com biocompósito (TRBs) em comparação ao controle (*topsoil*). Esse efeito pode estar relacionado à infecção inicial por fungos que liberam micotoxinas, inibindo ou retardando a colonização por fotobiontes nos TRBs.

Estudos mais aprofundados, como a identificação dos fungos colonizadores e das possíveis micotoxinas liberadas, são necessários para confirmar a hipótese citada. Portanto, os resultados obtidos neste estudo indicam que os NCs representam uma alternativa promissora e sustentável para a recuperação de áreas degradadas pela mineração, contribuindo para a conservação da biodiversidade e mitigação dos impactos ambientais dessa atividade.

7. REFERÊNCIAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 10833/1989** - Fabricação de tijolo maciço e bloco vazado de solo-cimento com utilização de prensa hidráulica – procedimento. Rio de Janeiro, 3p. 1989.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 5739** –Concreto Ensaio de compressão de corpos-de-prova cilíndricos. v. 5739, 1994.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12142/2010** Concreto – Determinação da resistência à tração na flexão de corpos de prova prismáticos. Rio de Janeiro, 6 p. 2010.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 8491-** Norma Tijolo de Solo Cimento Requisitos. Rio de Janeiro, 9 p. 2012.

ACCINELLI, C.; ABBAS, H. K.; ZABLOTOWICZ, R. M.; WILKINSON, J. R Aspergillus flavus aflatoxin occurrence and expression of aflatoxin biosynthesis genes in soil. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 5, p. 371-379, 2008.

AGUIAR, M. R. M. P. de; NOVAES, A. C.; GUARINO, A. W. S. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. **Química Nova,** v.25, n.6b, p.1145-1154, 2002.

ALEMU, D.; TAFESSE, M.; MONDAL, A. K. Mycelium-based composite: The future sustainable biomaterial. **International journal of biomaterials**, v. 2022, n. 1, p. 8401528, 2022.

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M.A. Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. **Chemosphere**, v.91, n.7, p.869-881, 2013.

ALIDOUST, D.; ISODA, A. Phytotoxicity assessment of γ-Fe 2 O 3 nanoparticles on root elongation and growth of rice plant. **Environmental earth sciences,** v. 71, p. 5173-5182, 2014.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. Blackie, Glasgow and London. 1990.

ALMEIDA, C. A.; OLIVEIRA, A. F.; PACHECO, A. A.; LOPES, R. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Characterization and evaluation of sorption potential of the iron mine waste after Samarco dam disaster in Doce River basin–Brazil. **Chemosphere**, v. 209, p. 411-420, 2018.

ANJU, M.; BANERJEE, D. K. Comparison of two sequential extraction procedures for heavy metal partitioning in mine tailings. **Chemosphere**, v. 78, n. 11, p. 1393–1402, 2010

ARAÚJO, J. B. S.; PINTO FILHO, J. L. O. Identificação de fontes poluidoras de metais pesados nos solos da bacia hidrográfica do rio Apodi-Mossoró/RN, na área urbana de Mossoró-RN. **Revista Verde**, v.5, n.2, p. 80-94, 2010.

ASSIS, I. R. **Adsorção e disponibilidade de arsênio em solos com diferentes composições mineralógicas**. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, da Universidade Federal de Viçosa, 85 p. Viçosa/MG. 2010.

ATTIAS, N.; DANAI, O.; ABITBOL, T.; TARAZI, E.; EZOV, N.; PEREMAN, I.; GROBMAN, Y. J. Mycelium bio-composites in industrial design and architecture: Comparative review and experimental analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 246, p. 119037, 2020.

AZEVEDO, U. D.; MACHADO, M. M. M.; CASTRO, P. D. T. A.; RENGER, F. E.; TREVISOL, A.; BEATO, D. A. C. Geoparque Quadrilátero Ferrífero (MG). Recife/Fortaleza, Brasil. **CPRM: Geoparques do Brasil/Propostas** V.1, p. 183-219, 2011.

BACON, J. R.; HEWITT, I. J.; COOPER, P. Reproducibility of the BCR sequential extraction procedure in a long-term study of the association of heavy metals with soil components in an upland catchment in Scotland. **Science of the Total Environment**, v. 337, n. 1-3, p. 191-205, 2005.

BALESTRI, E.; MENICAGLI, V.; LIGORINI, V.; FULIGNATI, S.; GALLETTI, A. M. R.; LARDICCI, C. Phytotoxicity assessment of conventional and biodegradable plastic bags using seed germination test. **Ecological indicators**, v. 102, p. 569-580, 2019.

BELNAP, J.; BULDELL, B.; LANGE, O. L. Biological Soil Crusts: Characteristics and Distribution. **Biological soil crusts: structure, function, and management,** p. 3-30, 2003.

BARRAL, M. T.; PARADELO, R. A review on the use of phytotoxicity as a compost quality indicator. **Soil Dyn.** v. 5, n. 2, p. 36-44, 2011.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds: physiology of development and germination New York: **Plenum,** 1994. 445p.

BONE, J.; HEAD, M.; BARRACLOUGH, D.; ARCHER, M.; SCHEIB, C.; FLIGHT, D.; VOULVOULIS, N. Soil quality assessment under emerging regulatory requirements. **Environment International**, v. 36, n. 6, p. 609-622, 2010.

BOOGERT, N. J.; PATERSON, D. M.; LALAND, K. N. The implications of niche construction and ecosystem engineering for conservation biology. **Bioscience**, v. 56, p.570–578, 2006.

BORGES, C. D.; MOREIRA, Â. N.; MOREIRA, A. D. S.; DEL PINO, F. A.; VENDRUSCOLO, C. T. Caracterização de biopolímeros produzidos por *Beijerinckia* sp. 7070 em diferentes tempos de cultivo. **Food Science and Technology**, v. 24, p. 327-332, 2004.

BOŻYM, M. Assessment of phytotoxicity of leachates from landfilled waste and dust from foundry. **Ecotoxicology,** v. 29, n. 4, p. 429-443, 2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. SECRETARIA DE GEOLOGIA, MINERAÇÃO E TRANSFORMAÇÃO MINERAL. **Boletim do setor mineral 2022**. Ed. 8. 2022

BUCH, A. C.; NIEMEYER, J. C.; MARQUES, E. D.; SILVA-FILHO, E. V. Ecological risk assessment of trace metals in soils affected by mine tailings. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 123852, 2021.

BÜNEMANN, E. K.; BONGIORNO, G.; BAI, Z.; CREAMER, R. E.; DE DEYN, G.; DE GOEDE, R.; BRUSSAARD, L. Soil quality–A critical review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 120, p. 105-125, 2018.

CAMARGO, A. P.; DE SOUZA, R. S.; JOSE, J.; GERHARDT, I. R.; DANTE, R. A.; MUKHERJEE, S.; ARRUDA, P. Plant microbiomes harbor potential to promote nutrient turnover in impoverished substrates of a Brazilian biodiversity hotspot. **The ISME journal**, v. 17, n. 3, p. 354-370, 2023.

CANEPARI, S.; CARDARELLI, E.; GHIGHI, S.; SCIMONELLI, L. Ultrasound and microwave-assisted extraction of metals from sediment: a comparison with the BCR procedure. **Talanta**, v. 66, n. 5, p. 1122-1130, 2005.

CARMIGNANO, O. R.; VIEIRA, S. S.; TEIXEIRA, A. P. C.; LAMEIRAS, F. S.; BRANDÃO, P. R. G.; LAGO, R. M. Iron ore tailings: characterization and applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 1895-1911, 2021.

CARVALHO FILHO, A. D.; CURI, N.; MARQUES, J. J. G. D. S.; SHINZATO, E.; FREITAS, D. A. F. D.; JESUS, E. A. D.; MASSAHUD, R. T. L. R. Óxidos de manganês em solos do Quadrilátero Ferrífero (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 793-804, 2011.

CAXITO, F.; DIAS T.G. **Recursos minerais de Minas Gerais – Ferro**. Disponível em: <http://recursomineralmg.codemge.com.br/wp-content/uploads/2018/10/Ferro.pdf >. Acesso em: 20 jun. 2023.

CESCHIN, S.; BELLINI, A.; SCALICI, M. Aquatic plants and ecotoxicological assessment in freshwater ecosystems: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 4975-4988, 2021.

CHANCHAL, A.; VOHRA, R.; ELESELA, S.; BHUSHAN, L.; KUMAR, S.; KUMAR, S.; PANDEY, R. Biopolymer: A Journey from Micro to Nano. **Journal of Pharmacy Research**, v. 8, n. 10, p. 1387-1397, 2014.

CHADHA, A.; FLORENTINE, S.; CHAUHAN, B. S.; LONG, B.; JAYASUNDERA, M.; JAVAID, M. M.; TURVILLE, C. Environmental factors affecting the germination and seedling emergence of two populations of an emerging agricultural weed: wild lettuce (Lactuca serriola). **Crop and Pasture Science**, v. 70, n. 8, p. 709-717, 2019.

CHANG, I.; LEE, M.; TRAN, A. T. P.; LEE, S.; KWON, Y. M.; IM, J.; CHO, G. C. Review on biopolymer-based soil treatment (BPST) technology in geotechnical engineering practices. **Transportation Geotechnics**, v. 24, p. 100385, 2020.

CHASE, J.M.; LEIBOLD, M. A. **Ecological niches: linking classical and contemporary approaches**. University of Chicago Press, 2009.

COELHO, M. R.; VASQUES, G. D. M.; TASSARINI, D.; DE SOUZA, Z. R.; DE OLIVEIRA, A. P.; MOREIRA, F. D. S. Solos do Quadrilátero Ferrífero sob Diferentes Coberturas Vegetais e Materiais de Origem. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 264. **EMBRAPA Solos**, Rio de Janeiro, RJ. 130 p. 2017

COLLI-SILVA, M.; VASCONCELOS, T.N.C; PIRANI, J.R. Outstanding plant endemism levels strongly support the recognition of campo rupestre provinces in mountaintops of eastern South America. **Journal of Biogeography**, v. 46, n. 8, p. 1723-1733, 2019.

CONAMA -Conselho Nacional do Meio Ambiente –Resolução n° 420, de 28 de dezembro de 2009: Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 249, p. 81-84, 2009.

COPAM- Conselho Estadual De Política Ambiental- Deliberação Normativa nº 166, de 29 de junho de 2011. Altera o Anexo I da Deliberação Normativa Conjunta COPAM CERH nº 2 de 6 de setembro de 2010, e estabelece os Valores de Referência de Qualidade (VRQs) dos solos do Estado de Minas Gerais. **Diário Oficial do Estado de Minas Gerais,** Belo Horizonte, MG. 2011

COSTA, C. R., OLIVI, P., BOTTA, C. M., ESPINDOLA, E. L. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, p. 1820-1830, 2008.

COSTA, O. Y; RAAIJMAKERS, J. M.; KURAMAE, E. E. Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1636, 2018.

COSTA, P. H. D. O.; NASCIMENTO, S. V. D.; HERRERA, H.; GASTAUER, M.; RAMOS, S. J.; CALDEIRA, C. F.; VALADARES, R. B. D. S. Non-specific interactions of rhizospheric microbial communities support the establishment of *Mimosa acutistipula* var. *ferrea* in an Amazon rehabilitating mineland. **Processes**, v. 9, n. 11, p. 2079, 2021.

COTTET, C.; RAMIREZ-TAPIAS, Y. A.; DELGADO, J. F.; DE LA OSA, O.; SALVAY, A. G.; PELTZER, M. A. Biobased materials from microbial biomass and its derivatives. **Materials**, v. 13, n. 6, p. 1263, 2020.

COUTO, F. R. **Estudo do uso do resíduo de minério de ferro para a obtenção de nichos construídos visando a restauração de áreas degradadas de campo rupestre.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais – CEFET-MG, 87 p., 2020

CUNHA NETO, A. R.; CARVALHO, M.; MORAIS, G. M. M.; GUARALDO, M. M. D. S.; DOS SANTOS, H. O.; PEREIRA, W. V. S.; BARBOSA, S. Changes in chromosome complement and germination of lettuce (*Lactuca sativa* L.) exposed to heavy metal stress. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 234, n. 4, p. 243, 2023.

DEHNAD, D.; JAFARI, S. M.; AFRASIABI, M. Influence of drying on functional properties of food biopolymers: From traditional to novel dehydration techniques. **Trends in Food Science and Technology**, v. 57, p. 116–131, 2016.

DING, Z.; WANG, Q.; HU, X. Fractionation of Zn and Pb in bulk soil and size fractions of water-stable micro-aggregates of lead/zinc tailing soil under simulated acid rain. **Procedia Environmental Sciences**, v. 10, p. 325-330, 2011.

ELAW. Environmental Law Alliance Worldwide - ELAW. **Guidebook for evaluating mining project EIAs**. Eugene, OR: Environmental Law Alliance Worldwide, 2010.

FARJANA, S. H.; HUDA, N.; MAHMUD, M. P.; SAIDUR, R. A review on the impact of mining and mineral processing industries through life cycle assessment. **Journal of Cleaner Production**, v. 231, p. 1200-1217, 2019.

FERNANDES-FILHO, E. I.; SCHAEFER, C. E. G. R.; FARIA, R. M.; LOPES, A.; FRANCELINO M. R.; GOMES, L. C. The unique and endangered Campo Rupestre vegetation and protected areas in the Iron Quadrangle, Minas Gerais, Brazil. **Journal for Nature Conservation**, v. 66, p. 126131, 2022.

FERNANDES, G. W. BARBOSA, N. P. U.; NEGREIROS, D.; PAGLIA, A. P. Challenges for the conservation of vanishing megadiverse rupestrian grasslands. **Natureza e Conservação**, v. 12, n. 2, p. 162–165, 2014.

FERNANDES, G. W.; TOMA, T. S. P.; ANGRISANO, P.; OVERBECK, G. Challenges in the restoration of quartzitic and ironstone rupestrian grasslands. In: Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil. **Springer, Cham**, p. 449-477, 2016.

FERREIRA, M. M. **Estudo da mobilidade e da biodisponibilidade do arsênio em solos e sedimentos de Paracatu-MG.** Tese (Doutorado Geoquímica Ambiental) - Programa de Pós-Graduação em Geociências da Universidade Federal Fluminense, 129 p. Niterói/RJ. 2014

FERREIRA, G. W.; RIBEIRO, B. T.; WEINDORF, D. C.; TEIXEIRA, B. I.; CHAKRABORTY, S.; LI, B.; SCOLFORO, J. R. S. Assessment of iron-rich tailings via portable X-ray fluorescence spectrometry: the Mariana dam disaster, southeast Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 193, p. 1-19, 2021.

FILGUEIRAS, A. V.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Comparison of the standard SM&T sequential extraction method with small-scale ultrasound-assisted single extractions for metal partitioning in sediments. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, n. 1, p. 103–108, 2002.

FRAGALLAH, S. A. D. A.; LIN, S.; LI, N., LIGATE, E. J.; CHEN, Y. Effects of sucrose, boric acid, pH, and incubation time on in vitro germination of pollen and tube growth of chinese fir (*Cunnighamial lanceolata* L.). **Forests**, v. 10, n. 2, p. 102, 2019.

GAGEN, E. J.; LEVETT, A.; PAZ, A.; GASTAUER, M.; CALDEIRA, C. F.; SILVA R. B V.; SOUTHAM, G. Biogeochemical processes in canga ecosystems: Armoring of iron ore against erosion and importance in iron duricrust restoration in Brazil. **Ore Geology Reviews**, v. 107, p. 573–586, 2019.

GENG, H.; WANG, F.; YAN, C.; TIAN, Z.; CHEN, H.; ZHOU, B.; YAO, J. Leaching behavior of metals from iron tailings under varying pH and low-molecular-weight organic acids. **Journal of Hazardous Materials**, v. 383, p. 121136, 2020.

GEORGE, R. P., RAMYA, S., RAMACHANDRAN, D., & MUDALI, U. K. Studies on Biodegradation of normal concrete surfaces by fungus Fusarium sp. **Cement and Concrete Research**, v. 47, p. 8-13, 2013.

GUEVARA, M. D. F.; MELLO, A. G. D.; CORRÊA, É. K.; GUEDES, H. A. S.; CORRÊA, L. B.; NAZARI, M. T. Fitotoxicidade em águas residuárias domésticas utilizando sementes como bioindicadores. **Revista DAE**, v. 67, n. 216, p. 44-51, 2019.

GUILLITTE, O.; DREESEN, R. Laboratory chamber studies and petrographical analysis as bioreceptivity assessment tools of building materials. **Science Total Environment**, v. 167, p. 365–74, 1995.

HARTMANN, N.; ERBS, M.; FORRER, H. R.; VOGELGSANG, S.; WETTSTEIN, F. E.; SCHWARZENBACH, R. P.; BUCHELI, T. D. Occurrence of zearalenone on *Fusarium graminearum* infected wheat and maize fields in crop organs, soil, and drainage water. **Environmental Science & technology**, v. 42, n. 15, p. 5455-5460, 2008.

HE, J.; TAN, Y.; LIU, H.; JIN, Z.; ZHANG, Y.; HE, F.; LIU, H. Extracellular polymeric substances secreted by marine fungus *Aspergillus terreus*: Full characterization and detailed effects on aluminum alloy corrosion. **Corrosion Science**, v. 209, p. 110703, 2022.

IBRAM-Instituto Brasileiro de Mineração- **Mineração em números 2022**. Brasília/DF: IBRAM. Infográfico. 2022. Disponível em: https://ibram.org.br/publicacoes/?txtSearch=&checkbox-section%5B%5D=1236. Acesso em: 19 jun. 2023.

INOUE, Y.; YAMAOKA, K.; KIMURA, K.; SAWAI, K.; ARAI, T. Effects of low pH on the induction of root hair formation in young lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids) seedlings. **Journal of Plant Research**, v. 113, n. 1, p. 39, 2000.

IVANOV, V.; CHU, J. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 7, p. 139-153, 2008.

JACOBI, C.M.; DO CARMO, F. F.; VINCENT, R.C.; STEHMANN, J.R. Plant communities on ironstone outcrops: a diverse and endangered Brazilian ecosystem. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, p. 2185–2200, 2007.

JURASCHEK, L. M.; KAPPENBERG, A.; AMELUNG, W. Mycotoxins in soil and environment. **Science of the Total Environment**, v. 814, p. 152425, 2022.

KANINGA, B. K.; CHISHALA, B. H.; MASEKA, K. K.; SAKALA, G. M.; LARK, M. R.; TYE, A.; WATTS, M. J. mine tailings in an African tropical environment - mechanisms for the bioavailability of heavy metals in soils. **Environmental geochemistry and health**, v. 42, p. 1069-1094, 2020.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants.** 4. ed. Boca Raton, CRC Press, 2001. 331p

KIM, R. Y.; YOON, J. K.; KIM, T. S.; YANG, J. E.; OWENS, G.; KIM, K. R. Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation - a critical review. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 37, p. 1041-1061, 2015.

KONATE, A.; WANG, Y.; HE, X.; ADEEL, M.; ZHANG, P.; MA, Y.; ZHANG, Z. Comparative effects of nano and bulk-Fe_3O_4 on the growth of cucumber (*Cucumis sativus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 165, p. 547-554, 2018

KOUKI, R.; AYACHI, R.; FERREIRA, R..; SLEIMI, N. Behavior of *Cucumis sativus* L. in presence of aluminum stress: Germination, plant growth, and antioxidant enzymes. **Food Science & Nutrition**, v. 9, n. 6, p. 3280-3288, 2021.

KRUMREI, M. **Hydroponics: Effect of pH on Different Cucumber Varieties**. Environmental Studies program at the University of Nebraska-Lincoln. 2019.

LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. B. On the physiology of seed of Calotropis procera. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 42, n. 2, p. 235-264, 1976.

LAGO-VILA, M.; ARENAS-LAGO, D.; RODRÍGUEZ-SEIJO, A.; ANDRADE, M. L.; VEGA, F. A. Ability of *Cytisus scoparius* for phytoremediation of soils from a Pb/Zn mine: Assessment of metal bioavailability and bioaccumulation. **Journal of Environmental Management**, v. 235, p. 152-160, 2019.

LEITE, P.R.V.; ZAMPIERON, J. V. Avaliação da cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris* cv carioquinha) em solo contaminado por metais pesados, utilizando técnicas de microscopia eletrônica de varredura e espectrometria por dispersão de energia. **Revista Agrogeoambiental** v.4 n.3, 2012.

LI, J.; JIA, C.; LU, Y.; TANG, S.; SHIM, H. Multivariate analysis of heavy metal leaching from urban soils following simulated acid rain. **Microchemical Journal**, v. 122, p. 89-95, 2015.

LIN, D.; XING, B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. **Environmental Pollution**, v. 150, n. 2, p. 243-250, 2007.

LIU, J.; HUA, Z. S.; CHEN, L. X.; KUANG, J. L.; LI, S.J.; SHU, W. S.; HUANG, L.N. Correlating microbial diversity patterns with geochemistry in an extreme and heterogeneous environment of mine tailings. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 12, p. 3677-3686, 2014.

LIU, R.; ZHANG, H.; LAL, R. Effects of stabilized nanoparticles of copper, zinc, manganese, and iron oxides in low concentrations on lettuce (Lactuca sativa) seed germination: nanotoxicants or nanonutrients?. **Water, Air & Soil Pollution,** v. 227, p. 1-14, 2016.

LUFT, L.; CONFORTIN, T. C.; TODERO, I.; ZABOT, G. L.; MAZUTTI, M. A. An overview of fungal biopolymers: bioemulsifiers and biosurfactants compounds production**. Critical Reviews in Biotechnology**, v. 40, n. 8, p. 1059-1080, 2020.

LUFT, L. **Produção de biopolímeros fúngicos a partir da fermentação submersa de *Phoma dimorpha*.** Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Maria. RS. 175p. 2021

MACHADO, N. A. M.; LEITE, M. G. P.; FIGUEIREDO, M. A.; KOZOVITS, A. R. Growing *Eremanthus erythropappus* in crushed laterite: a promising alternative to topsoil for bauxite-mine revegetation. **Journal of Environmental Management**, v. 129, p.149–156, 2013

MAESTRE, F.T.; BOWKER, M.A.; CANTÓN, Y.; CASTILLO-MONROY, A.P.; CORTINA, J.; ESCOLAR, C.; ESCUDERO, A.; LÁZARO, R.; MARTÍNEZ, I. Ecology and functional roles of biological soil crusts in semi-arid ecosystems of Spain. **Journal of Arid Environments**. v. 75, p. 1282 -1291, 2011.

MANDAI, S. S.; CARVALHO, R. M. D.; SOUZA, M. M. P. D. A biodiversidade e os Estudos de Impacto Ambiental de mineração do estado de São Paulo Brasil. **Ambiente & Sociedade**, v. 24, 2021.

MARENT, B. R.; LAMOUNIER, W. L.; GONTIJO, B. M. Conflitos ambientais na Serra do Gandarela, Quadrilátero Ferrífero-MG: mineração x preservação. **Revista Geografias**, p. 99-113, 2011.

MARQUES, A. R.; COUTO, F. R.; SILVA, V. D. C.; FONSECA, P. V.; PAIVA, P. R. P.; PONTES, P. P.; FERREIRA, Â. D. M. Biological re-colonization of sub-aerial boundaries of an 'artificial construction-niche'contaminated by iron mine tailings: laboratory bioassays. **Environmental Earth Sciences**, v. 76, n. 14, p. 1-14, 2017.

MAXIMINO C.; ONGPENG, J.; INCIONG, E.; SENDO, V.; SOLIMAN, C.; SIGGAOAT, A. Using waste in producing bio-composite mycelium bricks. **Applied Sciences**, v. 10, n. 15, p. 5303, 2020.

MENDES, P. M.; RIBEIRO, J. A.; MARTINS, G. A.; LUCIA JR, T.; ARAUJO, T. R.; FUENTES-GUEVARA, M. D.; CORRÊA, É. K. Phytotoxicity test in check: Proposition of methodology for comparison of different method adaptations usually used worldwide. **Journal of Environmental Management**, v. 291, p. 112698, 2021.

MENDONÇA, B. A. F. D.; FERNANDES FILHO, E. I.; ASSIS, L. M. D.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BRANDÃO, P. C.; FARIA, M. M.; PEREIRA, A. F. S. Mapping vegetation on ferruginous substrates using ASTER and gamma-spectrometry images in the Iron Quadrangle, Minas Gerais. **Revista Árvore,** v. 43, 2019

MEURER, E. J. **Fundamentos de química do solo**. 3a ed. Porto Alegre: editado por Egon Jose Meurer, 285 p., 2008.

MILLER, A. Z.; SANMARTÍN, P.; PEREIRA-PARDO, L. Bioreceptivity of building stones: A review. **Science of The Total Environment**, v. 426, p. 1–12, 2012.

MOZART, M. S.; NETO, A. V. C.; SOARES, M. B.; SILVA-ALVES, G. P. Geochemistry of BIF in the Quadrilátero ferrífero, Brazil, as a proxy to neoarchean paleoenvironmental and depositional conditions. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 143, p. 105009, 2024.

NAWAB, J.; GHANI, J.; KHAN, S.; XIAOPING, W. Minimizing the risk to human health due to the ingestion of arsenic and toxic metals in vegetables by the application of biochar, farmyard manure and peat moss. **Journal of environmental management**, v. 214, p. 172-183, 2018.

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas.** 2019. Brasília, DF. Embrapa. 258p. 2019.

OECD 208- Organization for Economic Cooperation and Development- Terrestrial plant test: Seedling emergence and seedling growth test. **Guideline for testing of chemicals.** 2006.

ODLING-SMEE FJ. Niche construction phenotypes. **In: The role of behavior in evolution** (ed. H. C. Plotkin), 73–132. Cambridge: MIT Press, 1988.

GALLEGO, J. L.; OLIVERO-VERBEL, J. Cytogenetic toxicity from pesticide and trace element mixtures in soils used for conventional and organic crops of Allium cepa L. **Environmental Pollution**, v. 276, p. 116558, 2021.

PEREIRA, M. C.; DE AZEVEDO RUCHKYS, Ú.; RODET, J. G. M. A.; CARVALHO, A. M.; DA MACUMBA, G. Patrimônio associado a cavidades em rochas ferríferas da Serra da Piedade – Quadrilátero Ferrífero/MG. In: Conference: 3° Simpósio Brasileiro de Patrimônio Geológico – **Anais III GeoBRheritage.** Bahia, Brasil, 2015.

PIERANGELI, M. A. P.; GUILHERME, L. R. G.; CURI, N.; SILVA, M. L. N.; LIMA, J. M. D.; COSTA, E. T. D. S. Efeito do pH na adsorção e dessorção de cádmio em Latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 523-532, 2005.

PILON, N. A. L.; BUISSON, E.; DURIGAN, G. Restoring Brazilian savanna ground layer vegetation by topsoil and hay transfer. **Restoration Ecology**, v. 26, n. 1, p. 73-81, 2018.

QUADRA, G. R.; ROLAND, F.; BARROS, N.; MALM, O.; LINO, A. S.; AZEVEDO, G. M.; CAMPOS, J. M. S. Far-reaching cytogenotoxic effects of mine waste from the Fundão dam disaster in Brazil. **Chemosphere**, v. 215, p. 753-757, 2019.

QUEIROZ, H. M.; NÓBREGA, G. N.; FERREIRA, T. O.; ALMEIDA, L. S.; ROMERO, T. B.; SANTAELLA, S. T.; OTERO, X. L. The Samarco mine tailing disaster: a possible time-bomb for heavy metals contamination? **Science of the Total Environment**, v. 637, p. 498-506, 2018.

QUEIROZ, H. M.; YING, S. C.; ABERNATHY, M.; BARCELLOS, D.; GABRIEL, F. A.; OTERO, X. L.; FERREIRA, T. O. Manganese: The overlooked contaminant in the world largest mine tailings dam collapse. **Environment International**, v. 146, p. 106284, 2021.

RAFIEE, K.; KAUR, G.; BRAR, S.K. Biocompósitos fúngicos: como a engenharia de processos afeta a composição e as propriedades? **Bioresource Technology Reports**, v. 14, p. 100692, 2021.

RAMOS, T. C. D'A. A. **Identificação e caracterização genética para prospecção do potencial biotecnológico de fungos filamentosos isolados de solos do Quadrilátero Ferrífero, MG**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João Del Rei, 94p. 2016

REIS, J. V. **Potencial do extrator Mehlich-3 na avaliação da disponibilidade de fósforo de diferentes solos**. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, 2016.

RYMUZA, K.; RADZKA, E. Effect of pH levels on soyben seed germination dynamics. **Acta Scientiarum Polonorum. Agricultura**, v. 20, n. 2, p. 81-88. 2021

SAHA, M.; SARKAR, S.; SARKAR, B.; SHARMA, B. K.; BHATTACHARJEE, S.; TRIBEDI, P. Microbial siderophores and their potential applications: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 3984-3999, 2016.

SANTOS, L. M. **Restauração de campos ferruginosos mediante resgate de flora e uso de *topsoil* no quadrilátero ferrífero,** Minas Gerais. 2010. 128p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

SANTOS, I. S. **Caracterização e análise mecânica de biocompósito de matriz micelial e reforço vegetal para uso como material biodegradável.** Dissertação (Mestrado em em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Sergipe. 111p., 2020.

SANTOS, M. A. **Avaliação de atributos químicos e biológicos de nichos construídos utilizando rejeito de minério de ferro: uma alternativa para revitalização de áreas degradadas.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Produtos e Processos). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Produtos e Processos do CEFET-MG, CEFET-MG, 86 p., 2022

SENEVIRATNE, M.; RAJAKARUNA, N.; RIZWAN, M.; MADAWALA, H. M. S. P.; OK, Y. S.; VITHANAGE, M. Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: a critical review. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 41, p. 1813-1831, 2019.

SCHAEFER, C. E.; CÂNDIDO, H. G.; CORRÊA, G. R.; PEREIRA, A.; NUNES, J. A.; SOUZA, O. F.; KER, J. C. Solos desenvolvidos sobre canga ferruginosa no Brasil: uma revisão crítica e papel ecológico de termiteiros. **Geossistemas Ferruginosos do Brasil: áreas prioritárias para conservação da diversidade geológica e biológica. Patrimônio cultural e serviços ambientais. Belo Horizonte, 3ª editora**, p. 77-102, 2015.

SCHAEFER, C. E.; CORRÊA, G. R.; CANDIDO, H. G.; ARRUDA, D. M.; NUNES, J. A.; ARAUJO, R. W.; NERI, A. V. The physical environment of rupestrian grasslands (Campos Rupestres) in Brazil: geological, geomorphological and pedological characteristics, and interplays**. In: Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil**. Springer, Cham, p. 15-53. 2016.

SKIRYCZ, A.; CASTILHO, A.; CHAPARRO, C.; CARVALHO, N.; TZOTZOS, G.; SIQUEIRA, J. O. **Canga biodiversity, a matter of mining**. Frontiers in Plant Science, 2014.

SILVA, E. B.; FONSECA, F. G.; ALLEONI, L. R.; NASCIMENTO, S. S.; GRAZZIOTTI, P. H.; NARDIS, B. O. Availability and toxicity of cadmium to forage grasses grown in contaminated soil. **International Journal of Phytoremediation**, v. 18, n. 9, p. 847-852, 2016.

SILVA, E. B.; FONSECA, F. G.; ALLEONI, L. R.; NASCIMENTO, S. S.; GRAZZIOTTI, P. H.; NARDIS, B. O Aflatoxins in sugarcane production chain: what could be the source? **Current Opinion in Food Science**, v. 29, p. 94-98, 2019.

SILVA, A. P. V.; SILVA, A. O.; LIMA, F. R. D.; BENEDET, L.; JESUS FRANCO, A.; SOUZA, J. K.; CARNEIRO, M. A. C. Potentially toxic elements in iron mine tailings: Effects of reducing soil pH on available concentrations of toxic elements. **Environmental Research**, v. 215, p. 114321, 2022.

SNAPE, I.; SCOULLER, R. C.; STARK, S. C.; STARK, J.; RIDDLE, M. J.; GORE, D. B. Characterization of the dilute HCl extraction method for the identification of metal contamination in Antarctic marine sediments. **Chemosphere**, 57, p. 491 – 504. 2004.

SNIC-Sindicato Nacional da Indústria da Construção. **ROADMAP tecnológico do cimento: potencial de redução das emissõesde carbono da indústria do cimento brasileira até 2050** Rio de Janeiro, 2019

SOARES, M. B.; NETO, A. V. C.; ZEH, A.; CABRAL, A. R.; PEREIRA, L. F.; DO PRADO, M. G. B.; SCHLICHTA, T. M. Geology of the Pitangui greenstone belt, Minas Gerais, Brazil: stratigraphy, geochronology and BIF geochemistry. **Precambrian Research**, v. 291, p. 17-41, 2017.

TAVARES, S. R. L.; OLIVEIRA, S. A.; SALGADO, C. M. Avaliação de espécies vegetais na fitorremediaçãode solos contaminados por metais pesados**. Holos**, 29, v. 5, p. 80-97. 2013.

USGS – United States Geological Survey. Global iron ore production data. 2017. Disponível em: <https://minerals.usgs.gov/.../iron_ore/global_iron_ore_data.pdf>. Acesso em: ago. 2023.

VERGILIO, C. S.; LACERDA, D.; OLIVEIRA, B. C. Metal concentrations and biological effects from one of the largest mining disasters in the world (Brumadinho, Minas Gerais, Brazil). **Scientific Reports**, v.10, p. 1-12, 2020

VIEIRA, K. G. **Aspectos geotécnicos e econômicos da recuperação ambiental de áreas degradadas por antigas pilhas de rejeitos: um estudo de caso.** Dissertação (Mestrado em Geotecnia) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto - UFOP, 80 p., 2010

WAGNER JÚNIOR, A.; NEGREIROS, J. R. D. S.; ALEXANDRE, R. S.; PIMENTEL, L. D.; BRUCKNER, C. H. Efeito do pH da água de embebição e do trincamento das sementes de maracujazeiro amarelo na germinação e desenvolvimento inicial. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 1014-1019, 2007

WANG, L. H.; ZHOU, Q. Responses of rice seed germination to acid rain stress. Seed **Science and Technology,** v. 38, n. 1, p. 26-35, 2010.

WILLIAMS, Peter J.; CLOETE, Thomas Eugene. Microbial community study of the iron ore concentrates of the Sishen Iron Ore Mine, South Africa. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 2531-2538, 2008

WINTER, G.; PEREG, L. A review on the relation between soil and mycotoxins: Effect of aflatoxin on field, food and finance. **European Journal of Soil Science**, v. 70, n. 4, p. 882-897, 2019.

WHITING, S. N.; REEVES, R. D.; RICHARDS, D.; JOHNSON, M. S.; COOKE, J. A.; MALAISSE, F.; BAKER, A. J. Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. **Restor. Ecol,** v. 12, p. 106–116, 2004.

YANG, Z.; CHEN, J.; DOU, R.; GAO, X.; MAO, C.; WANG, L. Assessment of the phytotoxicity of metal oxide nanoparticles on two crop plants, maize (*Zea mays* L.) and rice (Oryza sativa L.). **International journal of environmental research and public health**, v. 12, n. 12, p. 15100-15109, 2015.

YU, Z.; LIU, E.; LIN, Q.; ZHANG, E.; YANG, F.; WEI, C.; SHEN, J. Comprehensive assessment of heavy metal pollution and ecological risk in lake sediment by combining total concentration and chemical partitioning. **Environmental Pollution**, v. 269, p. 116212, 2021.

YUAN, S. X.; SU, Y. B.; LIU, Y. M.; FANG, Z. Y.; YANG, L. M.; ZHUANG, M.; SUN, P. T. Effects of pH, MES, arabinogalactan-proteins on microspore cultures in white cabbage. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC),** v. 110, p. 69-76, 2012.

ANEXO

ANEXO 1: Valores de referência em solo para Minas Gerais (COPAM-Diretoria de Política Ambiental do Estado de Minas Gerais) e Brasil (CONAMA Conselho Nacional do Meio Ambiente)

Elementos ($mg.Kg^{-1}$)	COPAM/CONAMA	
	Prevenção	Agrícola
Al	-	-
Cd	1,3	3
Cr	75	150
Cu	60	200
Fe	-	-
Mn	-	-
Ni	30	70
Pb	72	180
Zn	300	450