



FCTUC DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Efeito do coberto vegetal na composição mineral de solos de mina

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente na Especialidade de Território e Gestão do Ambiente

Autor

Ana Sofia Marques Correia

Orientadores

Prof. Doutora Maria Cristina A. Penas Nabais dos Santos

Prof. Doutor António Manuel Santos Carriço Portugal

Esta dissertação é da exclusiva responsabilidade do seu autor, não tendo sofrido correcções após a defesa em provas públicas. O Departamento de Engenharia Civil da FCTUC declina qualquer responsabilidade pelo uso da informação apresentada

Coimbra, Julho, 2013

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Prof. Doutora Cristina Nabais e Prof. Doutor António Portugal, um sincero agradecimento pela aceitação em me guiar durante este projecto, por todo o conhecimento que me transmitiram e pela disponibilidade incansável que demonstraram ao longo de todo o trabalho.

Aos meus pais, agradeço todo o apoio e sacrifícios durante o meu percurso académico. À minha mãe, que me transmitiu o seu perfeccionismo e exigência, ao meu pai que me deu força para nunca desistir, e à minha irmã que, apesar de estar longe, sempre me apoiou.

Ao Eng.º Rui Pinto, da Empresa de Desenvolvimento Mineiro, agradeço a disponibilidade com que me recebeu e a facilidade na obtenção de solo para a experiência.

Ao Centro de Ecologia Funcional, na pessoa da Prof. Helena Freitas. E ao Departamento de Ciências da Vida, na pessoa do Director, Prof. Doutor Carlos Palmeira.

Agradeço ainda à minha colega Eng.ª Cristina Costa, que sem a sua ajuda teria tornado o meu trabalho experimental ainda mais árduo.

RESUMO

A exploração mineira a céu aberto implica a remoção do coberto vegetal e, após o abandono da actividade, o seu restabelecimento é lento porque o solo não é apropriado ao desenvolvimento vegetal. Isto ocorre porque o solo não apresenta uma camada orgânica rica em nutrientes, podendo ainda apresentar contaminação por metais pesados. Neste trabalho, proponho explorar alguns aspectos da reabilitação ambiental de áreas mineiras, com especial enfoque na área de fito-remediação, pois esta é uma técnica económica, bem aceite socialmente e de aspecto visual agradável.

Investigou-se o impacto de um solo de mina no desenvolvimento de uma gramínea (*Festuca arundinacea*) e de uma leguminosa (*Trifolium fragiferum*), assim como o efeito da presença do coberto vegetal na alteração da composição química do solo ao longo do tempo. Colocaram-se plântulas de cada uma das espécies, em monocultura e em mistura, a crescer em contentores com solo proveniente das antigas minas da Urgeiriça, e em solo de jardim para comparação do crescimento das plantas. Para testar o efeito do coberto vegetal na alteração da composição mineral dos solos de mina, comparou-se com contentores com solo de mina sem coberto vegetal. Ao longo da experiência, que teve a duração de 13 semanas, foi medida semanalmente a altura das plantas, o número de folhas e, no final da experiência foram recolhidas a parte aérea das plantas para determinação da biomassa seca, e a parte radicular para análises químicas. Foram retiradas amostras de solo no início e fim da experiência para análise da composição mineral da fracção de troca iónica do solo. Analisou-se o Ca, Fe, K e Pb no solo e Fe, K e Pb na parte radicular das plantas.

De uma maneira geral, as plantas que cresciam em solo de mina apresentavam um menor desenvolvimento em altura, número de folhas e biomassa aérea, sendo a espécie mais afectada o *T. fragiferum*. A fracção de troca iónica do solo de mina apresentou concentrações mais baixas de Ca e K e mais elevadas de Pb, em comparação com o solo de jardim, e isso foi directamente reflectido na composição mineral da parte radicular de ambas as espécies. O Fe não foi detectado na fracção de troca iónica quer no solo de mina, quer no solo de jardim. No entanto, as plantas a crescerem em solo de mina apresentaram concentrações de Fe na parte radicular muito mais elevadas do que as plantas a crescerem em solo de jardim. O Fe está provavelmente a ter um papel de neutralização da toxicidade do Pb. Em relação às características minerais do solo ao longo do tempo, no solo de mina, sem ou com coberto vegetal, observou-se uma redução da fracção de troca iónica de Ca e Pb. No caso do solo sem coberto vegetal isto indica que os elementos foram perdidos por lixiviação, facilitado pelo pH

ácido destes solos. No caso do solo de mina com coberto vegetal, parte dos elementos podem ter sido perdidos por lixiviação, e parte podem ter sido retidos na parte radicular das plantas.

Concluindo, o desenvolvimento e composição mineral da parte radicular da gramínea e leguminosa foram afectados pelo solo de mina, mas as plantas também influenciaram a composição mineral do solo ao longo do tempo. Em termos comparativos, a gramínea foi menos afectada pelo solo de mina, e em mistura, é mais competitiva do que a leguminosa. No entanto, a leguminosa apresentou concentrações mais elevadas de Pb na parte radicular, contribuindo para uma maior retenção de Pb nessa fracção das plantas. Por outro lado, o desenvolvimento rápido da gramínea, com um sistema radicular extenso, contribui para a redução da erosão do solo, reduzindo a área de contaminação.

Palavras-chave: Remediação de solos contaminados; Fito-remediação; Fito-estabilização; Minas abandonadas; Metais pesados.

ABSTRACT

The open pit mining involves the removal of vegetation and, after the cessation of the activity the recovery is slow because the soil is not adequate for plant development. This occurs because the soil does not have an organic layer rich in nutrients, and can also present contamination by heavy metals. In this thesis, I propose to explore some aspects of the environmental rehabilitation of mining areas, with special focus on phytoremediation, as this is an economic technique, socially acceptable and visually pleasing.

It was investigated the impact of a mine soil in the development of a grass (*Festuca arundinacea*) and a legume (*Trifolium fragiferum*) as well as the effect of the presence of vegetation in altering the chemical composition of the soil over time. Seedlings from each species, in monoculture or in mixture, were planted in containers with soil from an old mine (Urgeiriça), and in garden soil to compare the plant development. Containers with mine soil but with no vegetation were used to test the effect of the plants on the chemical composition of the soils. Throughout the experiment, which lasted for 13 weeks, the plant height was measured and the number of leaves was counted weekly, and in the end of the experiment the shoots were collected to determine dry biomass, and the roots for chemical analysis. Soil samples were collected in the beginning and in the end of the experiment to analyze the chemical composition of the ion exchange fraction of the soil. Ca, Fe, K and Pb were analyzed in the soil and Fe, K and Pb in the roots of the plants.

Plants growing on the mine soil presented in general lower height, lower number of leaves and less aboveground biomass, and the most affected species was *T. fragiferum*. The ion exchange fraction of the mine soil presented lower concentrations of Ca and K and higher concentrations of Pb, compared with the garden soil. This was directly reflected in the mineral composition of the plants roots from both species. Iron was not detected in the ionic fraction of both soils (mine and garden). However, plants growing on the mine soil showed higher concentrations of Fe in the roots, compared with the plants growing on the garden soil. Iron is probably having an important role in neutralizing Pb toxicity. Concerning the mineral characteristics of the mine soil, with and without vegetation, it was observed a reduction of Ca and Pb in the ionic exchange fraction of the soil with time. In the case of the soil without vegetation, this reduction indicates that elements were being lost through leaching, facilitated by the low pH of the mine soil. In the case of the soil with vegetation, part of the elements might have been lost through leaching, and part retained by the plant roots.

In conclusion, the development and mineral composition of the roots of the grass and legume were affected by the mine soil, but plants also changed the mineral composition of the soil along the time. The grass was less affected by the mine soil and in mixture is more competitive than the legume. Nonetheless, the legume presented higher concentrations of Pb in the roots, contributing to a higher retention of this element in this fraction of the plants. On the other side, the rapid and large development of grasses will contribute to reduce soil erosion and thus the spreading of contamination.

Key words: Remediation of contaminated soils; Phytoremediation; Phytostabilization; Abandoned mines; Heavy metals.

ÍNDICE

| | | |
|-------|--|----|
| 1. | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 1 |
| 1.1 | Extracção mineira: enquadramento histórico | 1 |
| 1.2 | Exploração mineira em Portugal | 2 |
| 1.3 | Solos contaminados por metais pesados..... | 3 |
| 1.3.1 | Contaminação com Chumbo | 6 |
| 1.4 | Nutrição mineral das plantas | 8 |
| 1.5 | Disponibilidade de nutrientes e metais pesados | 11 |
| 1.6 | Reabilitação ambiental | 12 |
| 1.6.1 | Fito-remediação | 13 |
| | Fito-estabilização..... | 19 |
| 2. | ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS | 22 |
| 3. | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 24 |
| 3.1 | Origem do solo utilizado na experiência | 24 |
| 3.2 | Design experimental | 24 |
| 3.3 | Espécies de plantas utilizadas na experiência..... | 25 |
| 3.3.1 | Germinação..... | 26 |
| 3.3.2 | Transplante | 27 |
| 3.4 | Amostragem do solo e preparação para análises químicas..... | 28 |
| 3.5 | Medição da altura e número de folhas das plantas | 29 |
| 3.6 | Amostragem da biomassa das plantas e preparação para análises químicas | 29 |
| 3.7 | Análises químicas | 30 |
| 3.8 | Análise estatística | 30 |
| 4. | RESULTADOS | 31 |
| 4.1 | Altura e número de folhas das plantas ao longo do tempo..... | 31 |
| 4.2 | Biomassa seca da parte aérea..... | 35 |
| 4.3 | Quantificação de Ca, K, Fe e Pb no solo | 37 |

| | | |
|-----|--|-----|
| 4.4 | Quantificação de Fe, K e Pb na parte radicular das plantas | 38 |
| 5. | DISCUSSÃO | 40 |
| 5.1 | Efeito do solo nas plantas | 40 |
| 5.2 | Efeito das plantas no solo | 44 |
| 6. | CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS | 46 |
| 7. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 48 |
| | ANEXOS | A-1 |
| A. | Cronograma da experiência | A-1 |
| B. | Espécies identificadas no solo sem vegetação | B-1 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1.1 - Critérios para limpeza de solos, impostos pelo Departamento de Protecção Ambiental de Nova Jérсия..... | 5 |
| Tabela 1.2 – Valores limite de concentração de metais pesados nos solos em função do seu pH (Decreto-Lei n.º 276/2009)..... | 7 |
| Tabela 1.3- Função do Ca, K e Fe no metabolismo das plantas..... | 9 |
| Tabela 1.4 – Níveis médios no tecido aéreo seco de plantas para o seu crescimento adequado. | 11 |
| Tabela 1.5 - Vantagens e desvantagens principais da fito-remediação. | 16 |
| Tabela 1.6 - Tecnologias para remediação de metais e radionuclídeos em solo e água..... | 19 |
| Tabela 4.1 – Concentração de Ca, K e Pb nas amostras de solo no início e fim da experiência. | 37 |
| Tabela 4.2 – Percentagem na redução (-) ou adição (+) de Ca, K e Pb no solo de mina e de jardim..... | 38 |
| Tabela 4.3 – Concentração de Fe, K e Pb na parte radicular das plantas. | 39 |
| Tabela 1 – Cronograma da experiência prática. | A-1 |
| Tabela 2 – Lista de espécies que nasceram espontaneamente nos contentores sem vegetação (DI, DII e DIII). | B-1 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1.1 – Princípio da troca iônica numa partícula de solo. | 8 |
| Figura 1.2 – Relação entre a concentração de nutrientes e o crescimento. | 10 |
| Figura 1.3 – Vários processos de fito-remediação que podem ocorrer nas plantas..... | 15 |
| Figura 3.1 – Local de recolha do solo de mina..... | 24 |
| Figura 3.2 – Contentores, montagem experimental..... | 25 |
| Figura 3.3 – Tabuleiros de germinação das sementes de <i>Festuca arundinacea</i> e de <i>Trifolium fragiferum</i> | 26 |
| Figura 3.4 - À esquerda plântulas de <i>Trifolium fragiferum</i> e à direita de <i>Festuca arundinacea</i> | 27 |
| Figura 3.5 – Transplante das plântulas para o solo de mina (mistura de <i>Festuca arundinacea</i> e <i>Trifolium fragiferum</i>)..... | 27 |
| Figura 3.6 – Esquema da montagem experimental, contentores e tipos de cultura..... | 28 |
| Figura 4.1 – Indivíduos em monocultura de <i>Trifolium fragiferum</i> em solo de mina durante a semana quatro da experiência..... | 31 |
| Figura 4.2 – Indivíduos em monocultura de <i>Trifolium fragiferum</i> em solo de jardim durante a semana quatro da experiência..... | 32 |
| Figura 4.3 – Média da altura dos indivíduos da espécie <i>Festuca arundinacea</i> nos tratamentos T1, T2, T3 e T4..... | 32 |
| Figura 4.4 - Média do número de folhas dos indivíduos da espécie <i>Festuca arundinacea</i> nos tratamentos T1, T2, T3 e T4..... | 33 |
| Figura 4.5 – Média da altura dos indivíduos da espécie <i>Trifolium fragiferum</i> nos tratamentos T1, T2, T3 e T4..... | 34 |
| Figura 4.6 – Média do número de folhas dos indivíduos da espécie <i>Trifolium fragiferum</i> nos tratamentos T1, T2, T3 e T4..... | 35 |
| Figura 4.7 – Biomassa seca média da parte aérea dos indivíduos da espécie <i>Festuca arundinacea</i> nos contentores em tratamento T1, T2, T3 e T4. | 36 |

| | |
|---|----|
| Figura 4.8 – Biomassa seca média da parte aérea dos indivíduos da espécie <i>Trifolium fragiferum</i> nos contentores em tratamento T1, T2, T3 e T4..... | 36 |
| Figura 5.1 – Estratégia I, aplicada por dicotiledóneas e monocotiledóneas que não gramíneas, e estratégia II, aplicada por gramíneas, quando existe deficiência de Fe nos solos | 42 |
| Figura 5.2 – Influência do pH do solo na disponibilidade de nutrientes | 43 |

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Extracção mineira: enquadramento histórico

A extracção de minérios pelo Homem teve início entre 6000-4000 a.C., uma época da civilização humana conhecida como a Idade dos Metais. Desde a Idade do Cobre que a metalurgia passou a ter grande importância na civilização humana, aumentando a sua qualidade de vida. Actualmente a sociedade desenvolvida é extremamente dependente dos metais, utilizando-os em inúmeras actividades, como na construção civil, nas indústrias automóvel, aeronáutica, naval, bélica e no sector das comunicações.

Na Segunda Guerra Mundial houve uma grande exploração de volfrâmio (elemento Tungsténio, W, da tabela periódica), pela sua capacidade de aumentar a resistência de ligas metálicas. Portugal foi muito pressionado, nesta altura, por causa das suas jazidas deste minério, as maiores da Europa na altura, tendo sido vendido tanto a Inglaterra como à Alemanha. A maior parte das minas deste minério encontravam-se na região centro, onde existem, neste momento, várias zonas a ser intervencionadas para recuperação dos solos contaminados.

Actualmente em Portugal, tal como na maior parte do território europeu ocidental, a extracção mineira é reduzida, devido por um lado à exaustão de jazidas, e por outro ao baixo custo da importação de minério de outros países (como da China ou da Malásia) (Duarte, 1995). No entanto, a maior exploração de Cobre, na Europa, está situada em Portugal, assim como a mais conhecida mina de volfrâmio do mundo – Mina da Panasqueira - onde continuam a ser extraídos os melhores concentrados de Tungsténio à escala mundial.

Historicamente, era prática comum “abandonar” uma mina quando se exauriam as reservas. O solo era então deixado exposto, sem qualquer protecção ou cobertura vegetal e os materiais sem valor económico eram deixados em pilhas ou descarregados sem qualquer ordenamento em cavidades da própria mina ou criadas artificialmente. Havia pouca preocupação com o ambiente, nomeadamente sobre a forma como a mina podia afectar negativamente o ecossistema circundante nos anos seguintes (Direcção Geral de Energia e Geologia, Empresa de Desenvolvimento Mineiro, SA., 2011). Portugal tem ainda um passivo ambiental considerável, com cerca de 200 áreas afectadas pela exploração mineira antiga (Carvalho, 2005).

Com o desenvolvimento da indústria mineira foram depositados muitos minerais à superfície, alterando a composição do solo superficial, contaminando-o e colocando em risco ambiental as águas de escorrência e subterrâneas, e como consequência os ecossistemas e a saúde humana.

1.2 Exploração mineira em Portugal

A contaminação de solos em Portugal deve-se principalmente à deposição imprópria de resíduos e ao uso excessivo de fertilizantes e pesticidas (Nabais *et al.*, 2007), sendo a região de Lisboa e Vale do Tejo a que mais contribui para a produção de resíduos perigosos.

Outra actividade que contribui para a contaminação do solo em Portugal é a exploração mineira. O facto de existirem importantes reservas de vários minérios de interesse económico fez com que também surgissem diversas zonas do país contaminadas devido à actividade mineira, principalmente na região centro. No norte e centro de Portugal, as principais extracções mineiras eram de carvão, Ouro, Ferro, Chumbo, Prata, Estanho, Tungsténio, Zinco e minerais radioactivos, como o Urânio. No sul eram os depósitos de sulfetos de Cobre, Ferro e Enxofre.

A Empresa Nacional de Urânio (ENU) e seus antecedentes exploraram, ao longo de 50 anos, mais de meia centena de minas de Urânio. Como resultado da actividade desenvolvida, foram obtidos 800 mil toneladas de minérios pobres e 2 700 mil toneladas de resíduos resultantes do tratamento químico. Além destes resíduos, existem ainda outros impactes ambientais, como seja a acidez nas minas da Urgeiriça, Cunha Baixa, Quinta do Bispo e Bica (Falcão *et al.*, 2005).

Na região das Beiras foram exploradas no passado 61 minas de Urânio, a maior das quais situada na Urgeiriça, tendo sido produzidos entre 1951 e 2000 um total de 4000 toneladas de óxido de urânio (Neves e Pereira, 2004). A exploração da Urgeiriça remonta ao período 1912-1945 na exploração de Rádio e a partir daquela data, até 1993, de Urânio, constituindo um dos mais importantes jazigos de minérios radioactivos da Europa. Em 1951 estabeleceu-se a primeira unidade industrial destinada ao processamento do Urânio proveniente quer da exploração local, quer da maior parte das outras áreas mineiras das Beiras. Durante a sua laboração foram produzidas 2370 toneladas de óxido de Urânio das quais cerca de um quarto proveniente da própria mina da Urgeiriça (Direcção Geral de Energia e Geologia, Empresa de Desenvolvimento Mineiro, SA., 2011).

A ocorrência de metais pesados em resíduos e escórias de origem mineira provocam grandes impactes ambientais nas áreas que ocupam. Das oitenta e cinco minas abandonadas, estudadas

no país, 14% foram consideradas de alto risco ambiental, principalmente por contaminação de água, solo e sedimentos por metais pesados (Nabais *et al.*, 2007).

A exploração mineira, entre outras actividades potencialmente poluentes, pode levar à contaminação de águas subterrâneas e superficiais. Segundo o Relatório do Estado do Ambiente de 1999 do Instituto do Ambiente, as águas superficiais de Portugal tinham pouca qualidade. No entanto, no Anuário da Qualidade da Água Superficial (Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos) de 2011, é referida uma qualidade boa e excelente em mais de metade do país e razoável em 25%. Confirmando esta informação, surge o Relatório do Estado do Ambiente de 2012.

Devido aos problemas ambientais existentes em terreno nacional, provenientes das várias décadas de exploração mineira, agravados pela falta de adequado processo de recuperação ambiental, que necessitavam de intervenção, foi promulgado o Decreto-Lei nº198-A/2001, de 6 de Julho. Este é aplicado a áreas mineiras degradadas, ou seja, áreas que constituam um risco potencial para a saúde e segurança humana ou preservação do ambiente. O principal objectivo deste decreto-lei é fomentar a recuperação das áreas mineiras degradadas, e em particular a valorização ambiental, cultural e económica, garantindo a defesa do interesse público e a preservação do património ambiental.

A EDM (Empresa de Desenvolvimento Mineiro) é a empresa pública que ficou responsável pelo desenvolvimento do projecto de recuperação das minas em Portugal, ou seja, pela caracterização, obras de reabilitação e monitorização ambiental.

1.3 Solos contaminados por metais pesados

O solo é um material composto por uma fracção mineral, resultante da degradação física e química das rochas, uma fracção orgânica, resultante do material de plantas e animais depositados no solo, e por espaços intersticiais, que podem ser preenchidos por gases e/ou substâncias líquidas. É nestes espaços entre partículas que se movimentam os lixiviados, ou seja, líquidos resultantes do processo de percolação, que ocorre das cargas hidráulicas mais altas para as mais baixas, através de um sólido. É através do processo de lixiviação que os contaminantes presentes no solo entram em contacto com a água, libertando-se das partículas do mesmo e migrando para a solução do solo.

Durante a extracção, a rocha fica exposta a processos de oxidação, podendo permanecer exposta após o local da mina ser abandonado. A oxidação de sulfetos presentes na rocha, especialmente sulfeto de ferro (FeS), produz ácido que pode solubilizar metais. Um pH mais alto ou mais baixo que o normal (pH <5,5 ou pH > 8,5) pode causar infertilidade no solo e

limitar a actividade microbiana, fundamental por exemplo nos processos de decomposição da matéria orgânica (US EPA, 2007).

Em solos com metais pesados existe o problema de infiltrações de água, arrastando consigo os contaminantes presentes nas partículas minerais, poluindo lençóis freáticos, linhas de água ou lagos.

Alguns metais são elementos essenciais ao bom funcionamento fisiológico dos organismos, como é o caso do Cobre, Níquel, Ferro, Manganésio e Zinco. No entanto, em elevadas concentrações no solo podem afectar a fisiologia de plantas e animais que estejam em contacto com o solo ou com os seus lixiviados (Blaylock e Huang, 2000). A toxicidade dos metais pode tornar-se mais severa quando o solo tem características ácidas e/ou quando ocorrem deficiências nutricionais.

A presença de metais pesados no solo não é apenas consequência da actividade mineira mas pode estar relacionada com a sua composição geológica. Segundo Alloway e Ayeres (1997), citado por Zeitouni (2003), os metais pesados ocorrem naturalmente na natureza, constituindo menos de 1% das rochas da crosta terrestre.

Existem solos que contêm naturalmente níveis elevados de metais, nomeadamente Níquel, Crómio e Cobalto, designados por solos serpentínicos ou ultramáficos (Brooks, 1987 referido por Ghaderian *et al.*, 2007). A concentração de Níquel neste tipo de solo pode variar entre 500 e 8000 µg/g. Associado a estes afloramentos de rochas ultramáficas surge uma flora rica em espécies endémicas especialmente adaptadas a concentrações elevadas de metais pesados, para além das concentrações baixas de Azoto e de uma razão elevada Mg/Ca, característica esta pouco comum na maior parte dos solos.

Com a revolução industrial aumentaram as fontes antropogénicas de metais pesados (Blaylock e Huang, 2000). A origem da contaminação não se resume a resíduos de exploração mineira, mas também a resíduos sólidos industriais (indústrias electrónica, de baterias, tintas e pigmentos, e plástica), resíduos urbanos (sólidos, águas residuais, e lamas), lixiviados de aterros sanitários, pesticidas, fertilizantes e combustão fóssil (Zeitouni, 2003).

Os radionuclídeos, ou seja, elementos metálicos radioactivos, provêm do decaimento do Rádio, elemento alcalino-terroso. Segundo Karavaeva *et al.*, citado por Willey (2007), existe um grande volume de solo contaminado com radionuclídeos por todo o mundo. O seu aparecimento deveu-se, inicialmente, ao desenvolvimento de actividades relacionadas com armas nucleares, e aos acidentes em Chelyabinsk e Chernobyl. Willey (2007) defende que o volume de solo contaminado com metais pesados é muito maior do que com radioactividade,

no entanto existe muito menos pressão social para os descontaminar. Apesar dessa pressão não existem muitos casos do processo ter realmente ocorrido.

Um solo diz-se contaminado quando a concentração de metais pesados é superior à encontrada no solo nativo. No entanto, do ponto de vista regulamentar, pode também admitir-se que um solo está contaminado quando os níveis de concentração de alguns metais ultrapassam um determinado limite, imposto para um determinado nível de risco (Tabela 1.1). Alguns limites são baseados nos impactes na saúde humana por contacto directo com o solo contaminado, enquanto outros são determinados a partir de risco ecológico ou caminhos de exposição secundária (Blaylock e Huang, 2000).

Tabela 1.1- Critérios para limpeza de solos, impostos pelo Departamento de Protecção Ambiental de Nova Jérсия (adaptado de Blaylock e Huang, 2000).

| Contaminante | Limite em solo de contacto directo em zona residencial [mg/kg] | Limite em solo de contacto directo em zona não residencial [mg/kg] |
|---------------------|---|---|
| Sb | 14 | 340 |
| As | 20 | 20 |
| Ba | 700 | 47000 |
| Cd | 1 | 100 |
| Cu | 600 | 600 |
| Pb | 400 | 600 |
| Ni | 250 | 2400 |
| Se | 63 | 3100 |
| Ag | 110 | 4100 |
| Tl | 2 | 2 |
| V | 370 | 7100 |
| Zi | 1500 | 1500 |

A maior parte dos estudos de avaliação de risco feitos em depósitos de resíduos indicam que o maior risco de contrair cancro é provocado por contaminação de água subterrânea e poeiras transportadas pelo vento (Schnoor, 2000). Ao contrário de contaminantes orgânicos, os metais e os radionuclídeos não podem ser eliminados por transformação química ou biológica, daí exista um problema tão grave em relação a este tipo de contaminante.

O solo funciona como um filtro que impede que a água subterrânea seja contaminada e onde muitos poluentes orgânicos são decompostos. Nos países membros da União Europeia foram já identificados cerca de 300 mil áreas contaminadas.

A fito-toxicidade derivada da presença excessiva de metais pesados pode resultar em alterações de processos fisiológicos a nível celular e molecular, como a inactivação de enzimas, bloqueando a metabolização de moléculas importantes, substituição de elementos essenciais e a adulteração da integridade da membrana celular (Rascio e Navari-Izzo, 2011). Segundo Larcher (2000), citado por Barbosa *et al.* (2005), o efeito tóxico dos metais pesados deve-se à sua interferência no transporte de electrões da respiração e da fotossíntese, e na inactivação de enzimas vitais.

1.3.1 Contaminação com Chumbo

A contaminação resultante da actividade mineira depende em grande parte do tipo de minério explorado e ainda dos materiais excedentários que resultam do processo de tratamento e transporte do minério (Abreu *et al.*, 2009).

Em Portugal, a quase totalidade das minas de Urânio está localizada na Região Centro, sobretudo nos distritos de Coimbra, Viseu, Guarda e Castelo Branco, actualmente todas estão desactivadas. O complexo da Urgeiriça inclui uma escombreira de cerca de 2 500 000 toneladas de resíduos localizada a menos de 2 km de Canas de Senhorim e os seus efeitos ambientais e na saúde das populações têm sido, por isso, motivo de preocupação de governos sucessivos, autarcas e cidadãos (Falcão *et al.*, 2005).

A escombreira onde se recolheram as amostragens de solo para esta experiência estava associada a uma antiga mina de Urânio. Este elemento, comum na litosfera, é um metal radioactivo pertencente à família dos actínídeos. O maior interesse que existe relativamente à sua exploração deve-se ao facto deste ser utilizado na produção de energia, em centrais nucleares. A maior parte do Urânio presente na natureza apresenta-se na forma de isótopo U^{238} . Este isótopo passa por várias fases, ao longo do seu decaimento, formando treze radionuclídeos diferentes até atingir a estabilidade como Pb^{206} (Gavrilescu *et al.*, 2009). É por esta razão que o Chumbo foi o elemento analisado nas amostras e lixiviados desta experiência.

O Chumbo geralmente ocorre como catião Pb^{2+} , formando complexos estáveis com aniões inorgânicos (Cl^- , CO_3^{2-}) e orgânicos (ácidos húmicos e fúlvicos) presentes em solos e sistemas aquáticos. O Chumbo solúvel reage com carbonatos, sulfetos, sulfatos, e fosfatos para formar

compostos de baixa solubilidade (Kabata-Pendias e Pendias, 1992; Smith *et al.*, 1995, citados por Zeitouni, 2003).

As elevadas concentrações de Chumbo nos solos não ocorrem apenas como resultado da actividade industrial e mineira, mas também do uso do mesmo em tintas, gasolina, explosivos, revestimentos anti-fogo e deposição de lamas enriquecidas com Chumbo, tornando-o num dos contaminantes mais comuns no ambiente.

A consciência do perigo que o Chumbo pode representar no ambiente e nos seres humanos é cada vez maior, obrigando a um maior controlo e cumprimento da legislação em vigor (Tabela 1.2) e aperfeiçoamento da gestão ambiental (Abreu *et al.*, 2009).

Tabela 1.2 – Valores limite de concentração de metais pesados nos solos em função do seu pH (Decreto-Lei n.º 276/2009).

| Parâmetro | pH≤5,5 | 5,5<pH≤7 | pH≥7 |
|-----------------|-----------------------|----------|------|
| | mg/kg de matéria seca | | |
| Cádmio | 1 | 3 | 4 |
| Cobre | 50 | 100 | 200 |
| Níquel | 30 | 75 | 110 |
| Chumbo | 50 | 300 | 450 |
| Mercúrio | 150 | 300 | 450 |
| Crómio | 50 | 200 | 300 |

Segundo a US EPA (2007) o Chumbo não é tóxico para as plantas, mas pode causar efeitos negativos na saúde humana quando é ingerido directamente. A capacidade que o Chumbo tem para ser absorvido e acumulado no organismo humano, quer através da inalação e/ou ingestão de partículas sólidas, quer através da cadeia alimentar, pode ser um factor de risco para a saúde pública, pois pode atingir doses consideradas tóxicas. De facto, o Chumbo afecta os sistemas nervoso central e periférico, cardiovascular, imunológico, pulmonar, urinário e reprodutor, e é possivelmente cancerígeno (Moreira e Moreira, 2004; Abreu *et al.*, 2009). Afecta sobretudo as crianças e jovens sendo mesmo apontada, em alguns estudos, a possibilidade do Chumbo desencadear comportamentos violentos (Abreu *et al.*, 2009).

A contaminação severa por Chumbo nos solos pode causar vários problemas ambientais, como a perda de vegetação, contaminação de lençóis freáticos e toxicidade em plantas, animais e humanos (Huang *et al.*, 1997). No entanto, de acordo com um estudo efectuado por Huang *et al.* (1997), a concentração deste elemento na solução do solo é geralmente inferior a

0,1% do Chumbo total, ou seja, apresenta uma biodisponibilidade baixa, e quando absorvido pelas plantas concentra-se principalmente na zona radicular.

Segunda a US EPA (2007) o uso de correctivos de solo e coberto vegetal para estabilizar Chumbo nos solos é bastante eficaz. Quando este contaminante se encontra sozinho, ou seja, sem relação com outros contaminantes, uma boa opção é a adição de Fósforo ao solo, pois reduz a biodisponibilidade do Chumbo. No entanto, se, por exemplo, Arsénio também for um dos contaminantes do solo esta acção aumenta a sua solubilidade.

1.4 Nutrição mineral das plantas

As partículas do solo, tanto inorgânicas como orgânicas, têm superfícies com cargas predominantemente negativas. As partículas orgânicas dos solos têm origem na decomposição microbiana de plantas, animais e microrganismos. A carga negativa destas partículas é causada pela dissociação que ocorre entre iões de Hidrogénio dos ácidos carboxílicos e grupos fenólicos. Os catiões minerais como amónio (NH_4^+) e Potássio (K^+) ficam adsorvidos às cargas negativas que se encontram na superfície das partículas do solo. Esta adsorção de catiões é fundamental para a fertilidade de um solo. Estes catiões adsorvidos podem ser substituídos por outros – troca iónica (Figura 1.1).

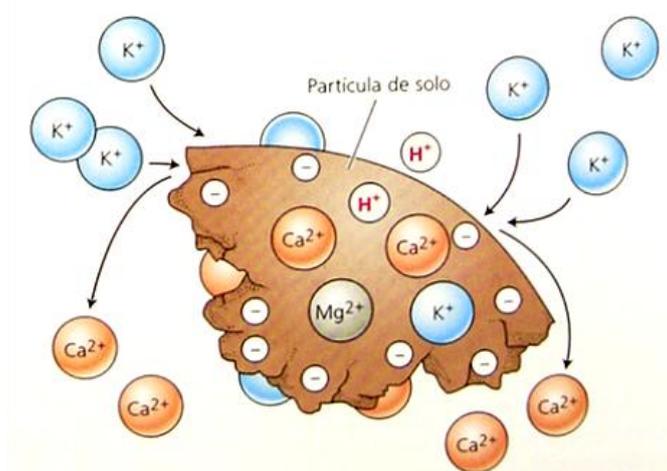


Figura 1.1 – Princípio da troca iónica numa partícula de solo (adaptado de Taiz e Zeiger, 2006).

As partículas inorgânicas do solo fornecem um reservatório de Potássio, Magnésio, Cálcio e Ferro. Os nutrientes minerais são elementos obtidos principalmente na forma de iões inorgânicos no solo, e entram na biosfera predominantemente através dos extensos sistemas

radiculares das plantas (Epstein, 1999, citado por Taiz e Zeiger, 2006). Após serem absorvidos, os nutrientes são transportados para várias partes da planta, onde são utilizados em numerosas funções biológicas (Taiz e Zeiger, 2006).

O facto de um elemento mineral poder ser encontrado nos tecidos de uma planta não significa que o mesmo seja essencial para os seus processos metabólicos. As plantas têm uma capacidade limitada na absorção selectiva de elementos minerais essenciais, absorvendo também elementos que não são necessários ao seu crescimento, podendo até ser tóxicos.

Um nutriente diz-se essencial quando a ausência do mesmo impede que a planta complete o seu ciclo de vida (Arnon e Stout, 1939, citados por Taiz e Zeiger, 2006), a função do elemento não pode ser substituída por outro elemento mineral e deve estar envolvido directamente numa actividade metabólica da planta (Arnon e Stout, 1939, citados por Marschner, 1990), ou por apresentar um papel fisiológico claro (Epstein, 1999, citado por Taiz e Zeiger, 2006). Na Tabela 1.3 destaca-se a função no metabolismo das plantas dos macro- e micronutrientes analisados neste trabalho de investigação.

Tabela 1.3- Função do Ca, K e Fe no metabolismo das plantas (adaptado de Taiz e Zeiger, 2006).

| | Nutriente mineral | Símbolo químico | Função |
|-----------------|--------------------------|------------------------|---|
| Macronutrientes | Cálcio | Ca | Constituinte da lamela média das paredes celulares. Requerido como cofactor por algumas enzimas envolvidas na hidrólise de ATP e de fosfolípidos. Actua como mensageiro secundário na regulação metabólica. |
| | Potássio | K | Requerido como cofactor de mais de 40 enzimas. Principal catião no estabelecimento do turgor celular e manutenção da electroneutralidade celular. |
| Micronutriente | Ferro | Fe | Envolvido na fotossíntese, fixação de N ₂ e respiração. |

A maior parte dos micronutrientes são constituintes de moléculas enzimáticas sendo essenciais em pequenas concentrações. Ao contrário, os macronutrientes são constituintes de compostos orgânicos, como proteínas ou ácidos nucleicos, ou actuam como compostos osmóticos. Os valores das concentrações de ambos variam conforme a espécie, idade e a presença de outros elementos minerais.

A absorção iónica em plantas é determinada por:

- Selectividade – Certos elementos minerais são absorvidos preferencialmente, enquanto outros são descritos ou mesmo excluídos.
- Acumulação – A concentração de elementos minerais pode ser muito maior na planta do que na solução externa.
- Espécie – Há diferenças entre as características da absorção de elementos minerais conforme a espécie de planta. (Marschner, 1990).

A curva de relação entre o crescimento (matéria seca) e a concentração de nutrientes divide-se em três regiões distintas: concentração de nutrientes deficiente, adequada ou tóxica (Figura 1.2). O desenvolvimento vegetal aumenta à medida que a concentração de nutrientes aumenta, a taxa de crescimento atinge um máximo e mantém-se quando os elementos nutricionais são os adequados e por último o crescimento diminui quando a concentração de nutrientes é demasiado alta.

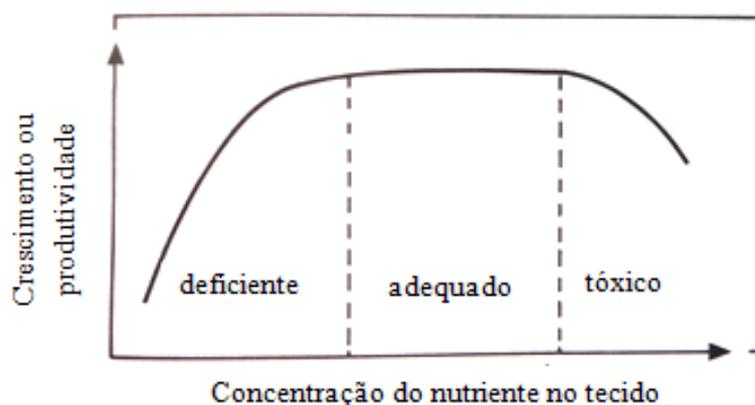


Figura 1.2 – Relação entre a concentração de nutrientes e o crescimento.

Quando os elementos essenciais não estão disponíveis em quantidades suficientes para absorção radicular as plantas desenvolvem sintomas específicos (Tabela 1.4). Esta deficiência de nutrientes minerais perturba o metabolismo e o funcionamento vegetal, sendo um dos sintomas característicos da baixa concentração de nutrientes a clorose, quando as folhas não produzem clorofila suficiente, podendo chegar até à necrose dos tecidos.

Tabela 1.4 – Níveis médios no tecido aéreo seco de plantas para o seu crescimento adequado (adaptado de Marschner, 1990).

| Elemento | Símbolo químico | Concentração em matéria seca |
|----------|-----------------|-----------------------------------|
| Ferro | Fe | $560 \times 10^3 \mu\text{mol/g}$ |
| Cálcio | Ca | 125 $\mu\text{mol/g}$ |
| Potássio | K | 250 $\mu\text{mol/g}$ |

1.5 Disponibilidade de nutrientes e metais pesados

A concentração total de nutrientes no solo não corresponde ao que está disponível para ser absorvido pelas plantas. O termo biodisponibilidade representa a percentagem do nutriente ou metal pesado existente no solo que é capaz de interagir com macro- e microrganismos, sendo o conhecimento deste parâmetro fundamental para determinar o risco ambiental de determinado local contaminado (Peijnenburg *et al.*, 1997).

Os nutrientes essenciais e os metais pesados podem ocorrer no solo sob diversas formas: na forma iónica ou complexada na solução do solo, como iões permutáveis no material orgânico ou inorgânico, quelatados em complexos orgânicos ou orgânico-minerais, incorporados em óxidos ou sais insolúveis, ou presos nas estruturas cristalinas dos minerais primários ou secundários (Zeitouni, 2003).

A concentração de nutrientes minerais e metais pesados na solução do solo varia consoante as características do próprio solo, como a disponibilidade hídrica, pH, capacidade de troca iónica, área da rizosfera, potencial redox, quantidade e tipo de matéria orgânica, actividade microbiana e aplicação de fertilizantes (Marschner, 1990; Abreu *et al.*, 2009). De um modo geral, o Cádmiu, o Zinco, o Estrôncio, o Césio e o Arsénio são metais mais biodisponíveis devido à sua semelhança com nutrientes como o Cálcio, Potássio e Fosfato e ao facto de utilizarem os mesmos sistemas de transporte nas membranas plasmáticas (Schnoor, 2000).

A competição entre iões H^+ e outros catiões e entre OH^- e outros aniões é de importância vital para a nutrição mineral das plantas (Marschner, 1990). O pH do solo determina a disponibilidade dos nutrientes, sendo que um pH ácido promove a desagregação das rochas, originando iões como o K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} e Mn^{2+} , e aumenta a solubilidade dos carbonatos, fosfatos e sulfatos, facilitando a disponibilidade radicular dos nutrientes. O crescimento radicular é normalmente favorecido por solos ligeiramente ácidos, ou seja, com pH entre 5,5 e 6. Muitos catiões são mais solúveis e ficam mais disponíveis quando a solução do solo se

encontra num pH mais baixo (menor que 5,5), como por exemplo o Cádmio, Cobre, Mercúrio, Níquel, Chumbo e Zinco (Blaylock e Huang, 2000). Consequentemente, os metais pesados podem estar presentes no solo mas não se encontrarem biodisponíveis, não constituindo uma ‘ameaça’ ao ambiente, por estarem numa forma química indisponível biologicamente.

As plantas também apresentam mecanismos bioquímicos de resposta a níveis tóxicos de metais pesados. Os compostos mais importantes que têm a capacidade de se ligar a metais pesados são as fitoquelatinas e as metalotioneínas (Cobbett e Goldsbrough, 2000). Estes peptídeos e proteínas estão presentes em todos os seres vivos e são sintetizadas quando metais estão presentes no ambiente. Deste modo, a produção de fitoquelatinas e metalotioneínas ocorre com a finalidade de proteger o organismo da acção dos metais tóxicos não essenciais, como Cádmio e Arsénio, ou metais essenciais em excesso, que se tornam tóxicos, como Zinco e Cobre (Melendez *et al.*, 2012).

1.6 Reabilitação ambiental

Nas últimas décadas, o desenvolvimento exponencial da civilização humana tem gerado graves impactes ambientais nos ecossistemas, levando a que, muitas vezes, a capacidade de autorregeneração se torne muito morosa, mesmo para além do tempo de vida humana. Deste modo é necessário intervir em locais que foram sobre-explorados, especialmente se representam um risco para a segurança ambiental e saúde pública.

Quando uma zona natural é alterada drasticamente e contaminada pela acção humana esta deve ser reabilitada. Existem vários métodos de remediação ambiental de solos: isolamento da área contaminada, a imobilização com cimento e deposição em aterro do solo contaminado, redução da toxicidade, separação física e a extracção e armazenamento de resíduos perigosos. Estas práticas, baseadas na engenharia civil, são ambientalmente invasivas e dispendiosas.

No caso de áreas mineiras com extracção de metais a abordagem a ter na reabilitação depende do tipo de minério e da sua toxicidade. O método a ser seleccionado deve ser o que oferece melhor balanço entre o custo e o benefício.

As áreas prioritárias a reabilitar são aquelas onde, além do impacto físico das explorações, se geraram águas ácidas devido a lixiviações ou à presença de sulfuretos, daí resultando riscos de contaminação de aquíferos e para a saúde e segurança das pessoas. A interacção com populações residentes nas áreas de influência e a magnitude dos impactos são, obviamente, outros factores de prioridade (Carvalho, 2005). Segundo a Direcção Geral de Energia e Geologia, entre 2000 e 2009 foram desenvolvidos trabalhos de reabilitação em várias áreas

mineiras abandonadas, consideradas como prioritárias, tendo sido despendidos cerca de 43,3 milhões de euros. Este investimento foi feito no norte, centro e Alentejo, entre estudos, projectos, obras e monitorização.

Lee *et al* (2005) desenvolveram um tratamento de reabilitação para escórias de uma mina abandonada de extracção de Zinco, através da formação de pilhas de escórias, tendo ocorrido uma grande melhoria na qualidade das águas de escorrência. No entanto, continuaram a existir alguns problemas de qualidade da água. A precipitação pode reduzir a contaminação, diminuindo a concentração de metais pesados através de um simples processo de diluição. No entanto, a água da chuva pode trazer problemas devido ao facto desta se infiltrar nas pilhas de resíduos solubilizando metais que caso contrário estariam estáveis na pilha de resíduos.

A descoberta de plantas com a propriedade de acumular grandes quantidades de metais levou a que fosse ponderado o seu uso na remediação de zonas contaminadas por metais pesados. No entanto, a recolonização por parte de plantas num solo com contaminantes ocorre lentamente e, normalmente, inicia-se nas margens da área afectada (US EPA, 2000; Nabais *et al.*, 2007). O processo de revegetação natural pode demorar décadas, ou mesmo séculos, pois é dependente da dispersão de sementes através do vento e de animais. No entanto, se este processo for levado a cabo por especialistas, como engenheiros, biólogos ou arquitectos paisagistas, o prazo de remediação pode diminuir para alguns anos (US EPA, 2000).

1.6.1 Fito-remediação

Fito-remediação (“fito” significa planta, e o sufixo latino “remedium” significa limpar ou restaurar, Prasad e Freitas, 2003) é uma tecnologia de remediação ambiental, na qual são usadas plantas para diminuir a contaminação presente tanto em solo e sedimentos, como na água (superficial ou de lixiviados). Este método nem sempre é fácil de ser aplicado, existindo obstáculos de natureza técnica, como a geografia e a geotecnia do terreno, de cariz ambiental (o nível de contaminação), e temporal, tendo em conta que é um processo moroso devido ao crescimento lento da vegetação.

O tipo de fito-remediação depende, como é evidente, do tipo de contaminante presente no terreno a restaurar, e o objectivo final da recuperação. Nesse sentido podemos falar de fito-remediação no sentido de estabilização, extracção, degradação ou volatilização (Figura 1.3).

Os elementos Arsénio, Cádmiio, Cobalto, Cobre, Níquel, Chumbo e Zinco podem ser tratados por fito-estabilização ou fito-extracção; o Mercúrio e Selénio através de fito-volatilização, e metais e radionuclídeos por rizo-filtração (Nabais *et al.*, 2007).

A fito-estabilização de metais baseia-se no controlo da contaminação, evitando a migração dos mesmos para ambientes aquáticos, ou a sua dispersão através do vento. O objectivo desta tecnologia, ao contrário de outras técnicas de fito-remediação, não é remover o contaminante do local, mas sim estabilizá-lo de modo a reduzir o risco para a saúde humana e ambiental (Prasad e Freitas, 2003).

Na fito-extracção, as plantas transportam activamente os metais pesados para a parte aérea atingindo concentrações muito elevadas (hiperacumulação). A biomassa aérea é posteriormente recolhida e tratada para aproveitamento dos metais. No caso de solos com radionuclídeos, as plantas que nascerem terão de ser tratadas como resíduos perigosos radioactivos (Willey, 2007). Plantas hiperacumuladoras são aquelas que absorvem metais pesados, acumulando-os em seguida na parte aérea em concentrações muito superiores à maior parte das plantas, sem sofrer efeitos negativos da fito-toxicidade. Por exemplo, Brooks *et al.* (1977) definiram como plantas hiperacumuladoras de Níquel aquelas onde se observam concentrações extraordinárias do mesmo elemento, superiores a 1000 µg/g (0,1%), na biomassa aérea, mesmo que a concentração do mesmo seja baixa no solo, podendo atingir valores até 10000 µg/g (1%) (Baker e Brooks, 1989 citados por Salt e Krämer, 2000). Baker (1981), referenciado por Salt e Krämer (2000), propõe ainda que podem ser qualificadas de plantas hiperacumuladoras aquelas em que se verifica a razão entre concentração na parte aérea e na parte radicular muito superior a 1.

O uso de plantas hiperacumuladoras na reabilitação de terrenos contaminados por metais desenvolveu-se nas duas últimas décadas (Rascio e Navari-Izzo, 2011), tendo já sido identificadas mais de 400 espécies (Prasad e Freitas, 2003; Freitas *et al.*, 2004; Diaz, 2007). As espécies dominantes com esta capacidade pertencem à família das Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae, e Euphobiaceae. Existe já uma base de dados mundial, Phytorem, desenvolvida pela Environment Canada, onde se reportam as espécies de plantas terrestres e aquáticas com interesse de implementação no processo de fito-remediação. Na Phytorem estão listadas cerca de 750 espécies, entre hiperacumuladoras, acumuladoras e tolerantes a metais pesados (McIntyre, 2003). No entanto, as hiperacumuladoras são espécies de crescimento lento, comprometendo a sua efectividade na fito-extracção de metais pesados.

O papel ecológico da hiperacumulação de metais pesados está actualmente sob debate no mundo científico, e necessita ainda de bastante investigação. Alguns investigadores defendem que a razão da existência desta característica em algumas plantas é uma estratégia de adaptação a um nicho onde a competitividade com outras espécies é reduzida, resistência à seca ou auto-defesa contra inimigos naturais, como bactérias e fungos patogénicos, e insectos herbívoros (Salt e Krämer, 2000 e Herrera-Estrela e Guevara-García, 2009). Os compostos

químicos de defesa das plantas contra os herbívoros podem dividir-se em orgânicos e inorgânicos (Davis e Boyd, 2000, citados por Boyd 2012), os últimos têm duas vantagens: o facto de serem absorvidos do solo; diminuindo o esforço das plantas na produção de compostos de defesa, e não poderem ser decompostos pelos herbívoros (Boyd, 2012).

A rizo-filtração é o processo de remediação ambiental no qual são usadas plantas, em que as raízes absorvem, acumulam e precipitam metais pesados em meio aquático. Esta técnica foi utilizada para remover Urânio de águas subterrâneas em Ashtabula, OH e Oak Ridge, TN (Dushenkov *et al.*, 1997a, citado por Ensley, 2000), e para remover Césio e Estrôncio de uma lagoa perto do reactor de Chernobil (Dushenkov *et al.*, 1997b, citado por Ensley, 2000).

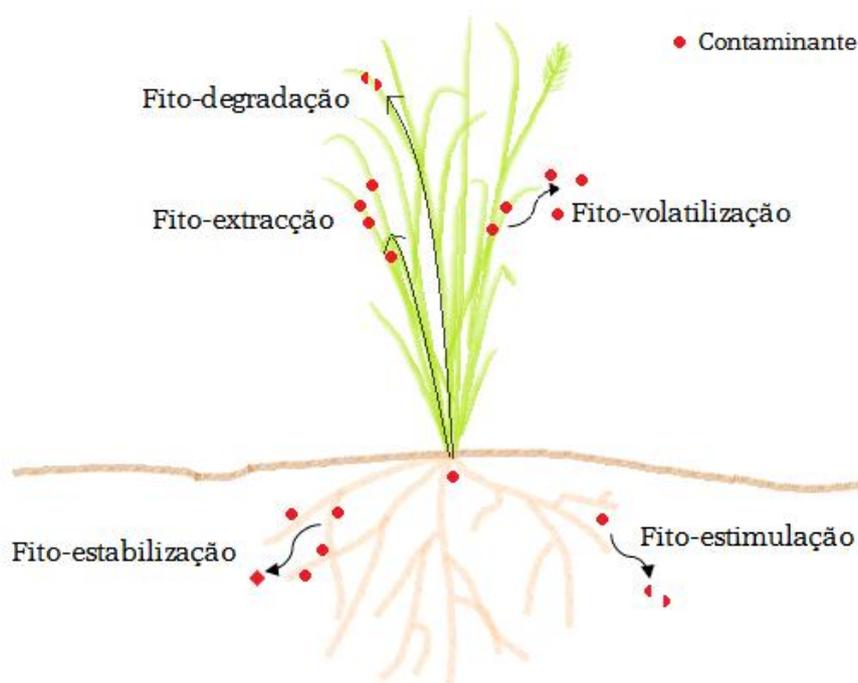


Figura 1.3 – Vários processos de fito-remediação que podem ocorrer nas plantas.

Em relação à absorção de metais pesados, as plantas, podem ser separadas em três grupos principais: não acumuladoras, indicadoras, ou acumuladoras. O primeiro tipo de plantas, as não acumuladoras, ou baixas translocadoras, limitam a absorção de metais tóxicos ou o seu transporte para a parte aérea. As plantas indicadoras apresentam uma concentração de metais idêntica à do solo. Por fim, as acumuladoras concentram activamente metais nos seus tecidos, transportando-os para a parte aérea (Ross e Kaye, 1994). As qualidades presentes em plantas a serem utilizadas em fito-remediação incluem crescimento rápido, alto teor de biomassa, competitividade, tolerância e acumulação de contaminante.

Para aumentar a eficiência do processo de fito-remediação podem ser adicionados ao solo correctivos, como por exemplo, compostos ricos em ferro (em inglês ‘steelshots’, referente a material industrial formado por 97% de Ferro) e/ou beringite (silicatos de alumínio), como defende Mench (2003), citado por Nabais *et. al* (2007). Outro método é o de adicionar agentes quelantes, que, ao aglomerarem iões metálicos, aumentam a sua solubilidade no solo, permitindo deste modo uma maior absorção pelas plantas (Salt *et al.*, 1995; Huang *et al.*, 1997, citados por Blaylock e Huang, 2000).

A vantagem evidente da utilização de plantas na descontaminação de áreas poluídas por metais é o baixo custo, tanto de investimento como de operação, sendo o tempo necessário, para obter resultados, o principal inconveniente (Tabela 1.5).

Tabela 1.5 - Vantagens e desvantagens principais da fito-remediação (adaptado de Glass, 2000).

| Vantagens | Desvantagens |
|--|---|
| <p style="text-align: center;">Custo</p> <ul style="list-style-type: none"> • Baixo investimento e baixo custo de operação; • Reciclagem de metais; • Rentabilização da biomassa obtida com possíveis podas. | <p style="text-align: center;">Tempo</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mais lento que outras alternativas; • Muitas hiper-acumuladoras são de crescimento lento. |
| <p style="text-align: center;">Performance</p> <ul style="list-style-type: none"> • Solução permanente; • Aplicação <i>insitu</i>, evita escavação; • Capacidade de remediação da fracção biodisponível; • Capacidade de mineralização de compostos orgânicos; • Aplicável a vários contaminantes; • Árvores têm grande capacidade de bombagem hidráulica; • Reduz a erosão e lixiviação dos solos; • Menos evasivo ambientalmente; • Diminui exposição por mitigação de poeiras e lixiviados. | <p style="text-align: center;">Performance</p> <ul style="list-style-type: none"> • Métodos biológicos não são capazes de reduzir 100% do contaminante; • Pode não ser aplicável a todas as misturas de resíduos; • Concentrações muito elevadas de metais ou outros contaminantes podem ser tóxicas; • Apenas aplicável a superfície de solos; • Possível entrada na cadeia trófica; • Aplicações a águas subterrâneas e a águas residuais podem requerer maiores áreas de aplicação. |

Tabela 1.5 - Vantagens e desvantagens principais da fito-remediação (adaptado de Glass, 2000) (continuação).

| Outras | Outras |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Aceitação pública; valor estético; • Possível utilização do espaço para actividades recreativas; • Compatível com remediação risk-based, brownfields; • Pode ser aplicada durante investigação do local e depois do fecho. | <ul style="list-style-type: none"> • Necessidade de deslocar instalações existentes; • Reguladores podem não estar familiarizados com a tecnologia e as suas capacidades; • Falta de dados reconhecidos sobre a performance económica. |

Para além do baixo investimento existem outras vantagens, como o facto de ser uma solução permanente e aplicável *in situ*, diminuindo assim a perturbação do local, a fácil aplicação em áreas extensas, redução da erosão e lixiviação dos solos.

A maior desvantagem da fito-remediação é o tempo de que necessita para actuar, pois é um processo dependente do crescimento e da actividade sazonal das plantas. O tempo previsto para uma redução da contaminação pode ir de 18 a 60 meses (Neiford, 1996, referido por Glass, 2000). As plantas hiperacumuladoras, devido ao seu crescimento lento, poderiam levar entre 13 e 16 anos a descontaminar um local (Salt *et al.*, 1995; Boyd, 1996, citados por Glass, 2000).

Outro inconveniente da utilização das plantas com o propósito de descontaminação, é que não pode ser aplicado em terrenos demasiado contaminados, pois estas condições impediriam o desenvolvimento das próprias plantas. Por outro lado, o uso de plantas não permite a remoção total dos contaminantes, um processo limitado pela solubilidade e disponibilidade dos contaminantes.

Apesar de ter sido provado que alguns herbívoros evitam ingerir plantas com elevadas concentrações de metais (Pollar, 1996 citado por US EPA, 2000), é um aspecto a ter em conta quando são utilizadas plantas hiperacumuladoras no processo de remediação de um local contaminado. Alguns animais (por exemplo: lagartas, roedores ou veados) podem consumir esta vegetação em quantidades significativas, fazendo com que os contaminantes entrem na cadeia alimentar. Nestes casos, deve ser tido em conta o controlo da ingestão do coberto vegetal por parte dos herbívoros, tomando medidas de controlo de exposição, como por exemplo colocando barreiras para impedir o consumo, ou efectuar colheitas regulares. A

mesma preocupação ocorre para a fauna presente no solo e que se alimenta do mesmo, como as minhocas, pois metade do seu peso consiste em solo, e estas posteriormente são alimento para aves e outros animais. Neste caso é mais difícil de tomar medidas de contenção como as referidas para os herbívoros.

Os principais custos de um projecto de remediação ambiental, com tecnologia de fito-remediação, prendem-se com o custo do projecto e da sua implementação (preparação do local e do solo e sementeira), e custos de operação (manutenção e monitorização), nos quais estão incluídos: irrigação, controlo de pestes e colheita e processamento da biomassa (estes dois últimos no caso de fito-extração), entre outros, sendo o maior custo associado à monitorização do local (Glass, 2000; US EPA, 2000).

As principais variáveis para determinar o custo de um projecto de fito-remediação são a área total a intervencionar, a profundidade da poluição, a eficácia das plantas na remoção dos contaminantes e a quantidade total de contaminante a remover (Blaylock e Huang, 2000).

A remediação de solos e água contaminados com elementos radioactivos representa 50% dos 230 biliões de dólares que o Departamento de Defesa (DOE) dos E.U.A. espera gastar nos próximos 75 anos (Ensley, 2000). Cem milhões de dólares serão eventualmente gastos a nível nacional e internacional, aplicando a técnica de fito-remediação, porque as outras soluções técnicas são demasiado dispendiosas (Tabela 1.6). Por exemplo, escavação, embalagem, transporte, análise e descarte num aterro de baixo nível de radioactividade de solos contaminados por Urânio custa no mínimo 1600 dólares por uma jarda cúbica (cerca de 91,4 cm³) (Ensley, 2000). Glass (1998), citado por US EPA (2000), estimou que o custo total para algumas aplicações de fito-remediação seriam 50 a 80% mais baixas que as alternativas, tornando esta tecnologia muito mais competitiva.

Na Tabela 1.6 podem analisar-se os vários métodos aplicados na remediação de solo e água. O método da fito-remediação é um dos mais económicos tanto no tratamento de solos como no de água. Para o solo, os custos são entre 25 e 100 dólares americanos por tonelada e relativamente à água, entre 0,60 e 6 dólares por 1000 US gallons, ou seja aproximadamente 3 785 litros. Os valores mais baixos referem-se à remediação de solos contaminados com compostos orgânicos e os mais altos a metais pesados e radionuclídeos. No caso específico de remediação de solo com Chumbo, o custo é estimado entre 20 e 80 dólares por tonelada.

Tabela 1.6 - Tecnologias para remediação de metais e radionuclídeos em solo e água (adaptado de Glass, 2000).

| Solo ^a | Custo | Água ^b | Custo |
|----------------------------|----------|-------------------------------|-----------|
| Tratamento químico | 100-500 | Troca iónica | 0,13-1,75 |
| Lavagem | 75-200 | Redução eletroquímica | 0,65 |
| Lavagem (<i>in situ</i>) | 40-190 | Adsorção | 1-20 |
| Vitrificação (reagente) | 75-90 | Filtração através de membrana | 1,20-5,80 |
| Vitrificação (termal) | 250-425 | Precipitação química | 0,8-1,20 |
| Dessorção termal | 150-500 | Osmose inversa | 3-6,20 |
| Tratamento térmico | 170-300 | Carvão ativado | 119-210 |
| Eletrocinética | 20-200 | Biosorção | 9-3400 |
| Incineração | 200-1500 | Fito-remediação | 0,60-6 |
| Deposição em aterro | 100-500 | | |
| Fito-remediação | 25-100 | | |

^a em dólares por tonelada.

^b em dólares por 1000 galões tratados.

A fito-remediação é uma tecnologia relativamente recente ainda com necessidade de certificação ambiental, no sentido da quantificação do seu impacto na redução da contaminação (Blaylock e Huang, 2000).

Em Portugal este método ainda está pouco explorado, tanto a nível de investigação científica como em aplicação no terreno. No entanto, começa a surgir como uma das etapas durante o processo de descontaminação de algumas minas abandonadas (Nabais *et al.*, 2007). Tendo em conta que o país apresenta muitas áreas contaminadas com metais pesados, a área da fito-remediação seria um bom investimento para a resolução de alguns problemas do passivo ambiental, tanto pelo seu baixo custo como pela aceitação pública.

Fito-estabilização

Os resíduos derivados das explorações mineiras são um dos principais problemas em paisagens resultantes da actividade, e são muitas vezes difíceis de remover devido ao seu volume e à sua elevada concentração de metais pesados. Deste modo, a utilização de espécies

de plantas para realizar a sua estabilização *in situ* pode ser uma solução interessante e de baixo custo.

Uma alternativa em desenvolvimento para remediação de locais contaminados com metais pesados, dentro da fito-remediação, é a técnica da fito-estabilização, que foi aplicada nesta dissertação. Este processo reduz o risco de contaminação através da implementação de plantas e do uso de correctores de solo, atenuando o processo de lixiviação, e é também menor a probabilidade que ocorra interacção biológica entre o ser humano, animais ou plantas.

Como já foi referido, a fito-estabilização envolve o uso de plantas para absorver ou imobilizar os contaminantes presentes no solo, sedimentos ou lamas, sendo os mecanismos aplicados neste processo: a absorção e acumulação pelas raízes; a adsorção na superfície radicular e ainda a precipitação na rizosfera (Gavrilescu *et al.*, 2009).

Antes da sementeira ou transplantação serem efectuadas no local contaminado devem ser adicionados ao solo fertilizantes, criando melhores condições para a proliferação das espécies. As melhorias feitas ao solo, neste caso, são semelhantes às feitas na agricultura, sendo os correctivos mais adequados fertilizantes à base de fosfatos, matéria orgânica, oxihidróxidos de Ferro ou Manganês, minerais de argila natural ou artificial, ou misturas destes correctivos (Prasad e Freitas, 2003). Apesar do tipo de melhorias serem as mesmas, as quantidades utilizadas na fito-estabilização são maiores (Berti e Cunningham, 2000). Na experiência elaborada nesta dissertação, não foram utilizados compostos para melhorar a qualidade do solo de mina.

Na fito-estabilização, as plantas são utilizadas para cobrir o solo, estabilizando fisicamente o mesmo através do seu denso sistema radicular, prevenindo a erosão; para reduzir a percolação e para prevenir o contacto directo com o solo (Berti e Cunningham, 2000). As comunidades de plantas presentes em zonas mineiras contribuem para minimizar os impactos físicos, químicos e paisagísticos desta actividade, além de incentivarem a biodiversidade nessas áreas e contribuírem para a pedogénese (Abreu *et al.*, 2009).

O processo de fito-estabilização não consegue remover totalmente os contaminantes do solo, no entanto diminui os riscos ambientais e para a saúde humana, através da diminuição do contacto directo e da lixiviação. Uma das vantagens desta estratégia é o facto de poder ser adaptada a grandes áreas, incluindo locais abandonados e zonas urbanas.

Para além das características referidas anteriormente que aumentam a eficácia das plantas em processos de fito-remediação, existe um critério a ter em conta na selecção das espécies utilizadas na fito-estabilização que é diferente de outros processos de fito-remediação. No

caso da fito-estabilização, as plantas devem ser baixas translocadoras de contaminantes, ou seja devem acumular o contaminante na parte radicular e não na parte aérea, impedindo que este entre na cadeia trófica. Esta característica também elimina a necessidade de possíveis colheitas destas plantas tenham que ser tratadas como resíduos perigosos.

Num projecto de fito-estabilização é importante também ocorrer biodiversidade nas espécies inseridas no local, árvores de grande porte absorvem grandes quantidades de água, prevenindo a lixiviação dos contaminantes para água subterrâneas, enquanto que as gramíneas previnem a erosão do solo causada pelas águas de escorrência e pelo vento, e ainda leguminosas que aumentam a fertilidade solo.

O propósito da fito-estabilização é fixar resíduos e impedir a exposição humana, através do vento e lixiviação dos metais pesados; prevenir a migração dos contaminantes para depósitos de água subterrânea; e estabilizar física e quimicamente contaminantes através da sua ligação às raízes, à matéria orgânica dos solos e aos correctores de solo (Schnoor, 2000). A implementação da vegetação poderá ter ainda consequências positivas no valor nutricional do solo, formando as condições de base para outras espécies prosperarem naquele novo ecossistema, após a concretização de um projecto de fito-estabilização.

2. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS

O desenvolvimento da civilização humana está associado a uma intensa exploração dos recursos naturais, que se traduziu directa, ou indirectamente, numa melhoria da qualidade de vida. Um dos recursos mais explorados foi, e continua a ser, o minério, fazendo com que as explorações mineiras, tanto subterrâneas como a céu aberto, se desenvolvessem um pouco por todo o mundo. Isto também ocorreu em Portugal, sendo um dos países da Europa com mais stocks de alguns minérios importantes, como o Cobre.

A actividade de exploração mineira, para além de nos proporcionar o recurso natural, fez com que os minerais, que estavam enterrados e indisponíveis, fossem trazidos para a superfície, provocando a contaminação do solo superficial, assim como das águas de escorrência, criando um problema ambiental com potenciais impactos na fisiologia de plantas e animais, incluindo o ser humano.

A exploração mineira a céu aberto implica a remoção do coberto vegetal e, após o abandono da actividade, o seu restabelecimento é lento porque o solo não é apropriado ao desenvolvimento vegetal. Isto acontece porque o solo não apresenta uma textura adequada, fica sem a camada orgânica rica em nutrientes, podendo ainda apresentar contaminação por metais pesados, que são tóxicos para as plantas. Deste modo, nos projectos de reabilitação ambiental de minas, é normalmente adicionada uma camada de solo rico em nutrientes para o estabelecimento rápido das plantas. Desta forma pretende-se reduzir a erosão do solo, reduzindo desta forma a área de contaminação de metais pesados (por exemplo Arsénio, Cádmio, Chumbo e Cobre), que ainda possam ocorrer nas escombreyras das minas, para além de reduzir o impacto visual de uma mina a céu aberto. A presença de coberto vegetal também pode ajudar a reduzir a contaminação de linhas de água e lençóis freáticos, funcionando como áreas tampão de absorção de elementos potencialmente tóxicos.

Em Portugal este é um problema real, que já está a ser resolvido em alguns locais, pela Empresa de Desenvolvimento Mineiro (EDM). No entanto, a investigação na área de reabilitação ambiental continua a ser fundamental para a correcta selagem e regeneração ambiental das minas abandonadas.

Neste trabalho, proponho explorar alguns aspectos da reabilitação ambiental de áreas mineiras, com especial enfoque na área da fito-remediação, pois esta é uma técnica económica, bem aceite socialmente e de aspecto visual agradável. O processo de fito-

remediação a ser implementada na experiência é a fito-estabilização, que impede a migração dos metais pesados presentes no solo para ambientes aquáticos, bem como reduz a erosão do solo, pela presença de um coberto vegetal, reduzindo assim os riscos de contaminação.

A utilização de plantas para reabilitar uma zona contaminada com metais pesados deve ser tida em conta como uma das etapas de reabilitação ambiental de uma exploração mineira abandonada. Para este processo ser viável a escolha da espécie ou espécies a serem utilizadas é fundamental. Esta técnica não pode ser utilizada em zonas demasiado contaminadas, ou seja, em que a concentração de contaminantes seja superior à suportável pelas plantas.

O objectivo principal desta dissertação de mestrado é analisar o contributo da presença de coberto vegetal na redução dos metais pesados, especificamente o Chumbo, que podem ser potencialmente transportados nas águas de escorrência do solo de mina.

No sentido de investigar o efeito do coberto vegetal nos elementos de troca iónica dos solos, foi estabelecida uma experiência em estufa, utilizando solo de escombreira das Minas da Urgeiriça. Encheram-se contentores com solo de mina e de jardim e utilizaram-se duas espécies de plantas, uma gramínea (*Festuca arundinacea*) e uma leguminosa (*Trifolium fragiferum*), em monocultura e em mistura das duas espécies, comparando com contentores sem coberto vegetal. A experiência teve a duração de 13 semanas, tendo sido monitorizado o crescimento das plantas (altura, número de folhas e biomassa da parte aérea), a concentração de Potássio, Ferro e Chumbo na fracção de troca iónica do solo e na parte radicular das plantas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Origem do solo utilizado na experiência

O solo utilizado na experiência foi recolhido na zona da Urgeiriça, numa das escombrelas da antiga exploração de Urânio, nas seguintes coordenadas GPS: 40.512903°N, 7.884390°W (Figura 3.1). As amostras de solo foram recolhidas nos 20 a 30cm superiores do solo.



Figura 3.1 – Local de recolha do solo de mina.

3.2 Design experimental

Encheram-se doze contentores de plástico (39×28×28cm) com solo de escombrela da mina e nove contentores com solo de jardim (controlo) e colocados numa estufa. Os contentores foram perfurados numa das partes laterais para permitir o escoamento da água de rega, tendo cada furo 5mm de diâmetro. Os contentores foram ligeiramente desnivelados para se proceder a uma boa drenagem do solo (Figura 3.2).

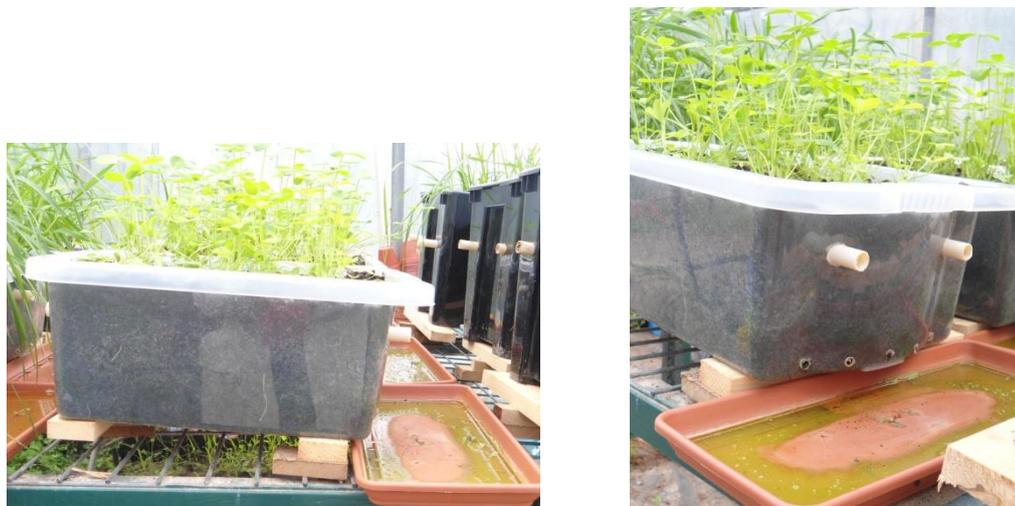


Figura 3.2 – Contentores, montagem experimental.

3.3 Espécies de plantas utilizadas na experiência

A escolha da espécie a utilizar num processo de fito-estabilização é fundamental. Vários investigadores propõem as gramíneas para este tipo de processo, por serem constituídas por raízes fibrosas, que penetram num grande volume de solo, e por terem crescimento rápido, providenciando, assim, uma rápida cobertura vegetal. As leguminosas são outra família de plantas, escolhidas pela sua capacidade de fixar Azoto no solo, aumentando a sua fertilidade. Quando um solo se encontra desprovido de vegetação, normalmente, as primeiras espécies a desenvolver-se são gramíneas e trevos. Para esta experiência foram escolhidas duas espécies, uma gramínea – *Festuca arundinacea* – e uma leguminosa – *Trifolium fragiferum* – que são plantas de crescimento rápido e cosmopolitas.

A morfologia típica de uma gramínea é muito semelhante em todas as espécies: um caule geralmente oco, com nós engrossados, no qual se inserem as folhas com uma forma tendencialmente linear, e de nervação paralela. O sistema radicular das principais gramíneas pode desenvolver-se entre 1,8 e 3 metros, uma grande vantagem em processos de fito-remediação. Porém, a característica mais marcante desta família reside na morfologia da flor - uma espigueta, a unidade básica da inflorescência de uma gramínea, cujo processo evolutivo levou à perda de estruturas devido à sua falta de função. A espigueta é uma pequena espiga, geralmente com várias flores muito reduzidas (Porto, 2007). *Festuca arundinacea* é uma espécie de clima temperado, com grande persistência e resistência à seca, suportando ainda grandes amplitudes térmicas. Possui um sistema radicular profundo, o que permite suportar condições extremas, e a torna uma boa candidata para projectos de fito-remediação. Adapta-se a diversos tipos de solo, desde o ácido ao básico, do seco ao ligeiramente encharcado,

tolerando também alguns níveis de salinidade e cloro (A. Pereira Jordão, 2011). Esta espécie tem ainda a característica de ser uma baixa transportadora de metais pesados para a parte aérea, impedindo a sua transferência para a cadeia trófica.

A família das Leguminosae ou Fabaceae, tal como as gramíneas, apresenta uma distribuição ampla. Uma característica importante desta família é a simbiose que existe entre as raízes e as bactérias do género *Rhizobium* e outras, que fixam o Azoto atmosférico no solo, ou seja convertem Azoto molecular (N_2) em amónio (NH_4^+). No caso específico da planta hospedeira ser um trevo (*Trifolium*) o rizóbio simbiote é o *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. Este processo poderá criar melhorias no solo de minado estudo. *Trifolium fragiferum* L. (Leguminosae), é conhecido como trevo-morango, caracterizado por ser tri-foliar e é uma herbácea rasteira perene. Está adaptado a uma larga variedade de tipos de solo, tolerando pH entre 5,3 e 8,2 e seca ligeira.

Verificou-se que nos contentores sem cobertura vegetal começaram a nascer rebentos de plantas não identificadas, deste modo procedeu-se à recolha das mesmas e à sua transplantação para outro local, e esperou-se que crescessem para ser possível a sua identificação (ANEXOS, Tabela 2).

3.3.1 Germinação

Procedeu-se a uma sementeira em dois tabuleiros largos, um para a espécie de gramínea e outro para a leguminosa (Figuras 3.3 e 3.4). As sementes foram colocadas em areia, que foi mantida húmida durante todo o processo. Para facilitar o processo de germinação os tabuleiros foram tapados com película transparente e mantidos em ambiente de estufa.



Figura 3.3 – Tabuleiros de germinação das sementes de *Festuca arundinacea* e de *Trifolium fragiferum*.



Figura 3.4 – À esquerda plântulas de *Trifolium fragiferum* e à direita de *Festuca arundinacea*.

3.3.2 Transplante

Em seis dos contentores foram colocadas vinte plântulas de *Festuca arundinacea* equidistantes e de tamanhos similares, tanto em solo de mina como em solo de jardim (AI, AII e AIII, e EI, EII e EIII), noutros seis contentores vinte plântulas de *Trifolium fragiferum* (BI, BII e BIII, e FI, FII e FIII), e ainda noutro conjunto de seis contentores foi plantada uma mistura de dez plântulas de cada espécie, alternadas (CI, CII e CIII, e GI, GII e GIII) (Figura 3.5). Ao todo existiam 360 indivíduos, 180 de cada espécie em estudo. Em três dos contentores não foram colocadas plântulas, com o objectivo de verificar as eventuais melhorias nos solos causadas pelas plantas. A disposição e identificação dos contentores pode verificar-se na Figura 3.6.



Figura 3.5 – Transplante das plântulas para o solo de mina (mistura de *Festuca arundinacea* e *Trifolium fragiferum*).

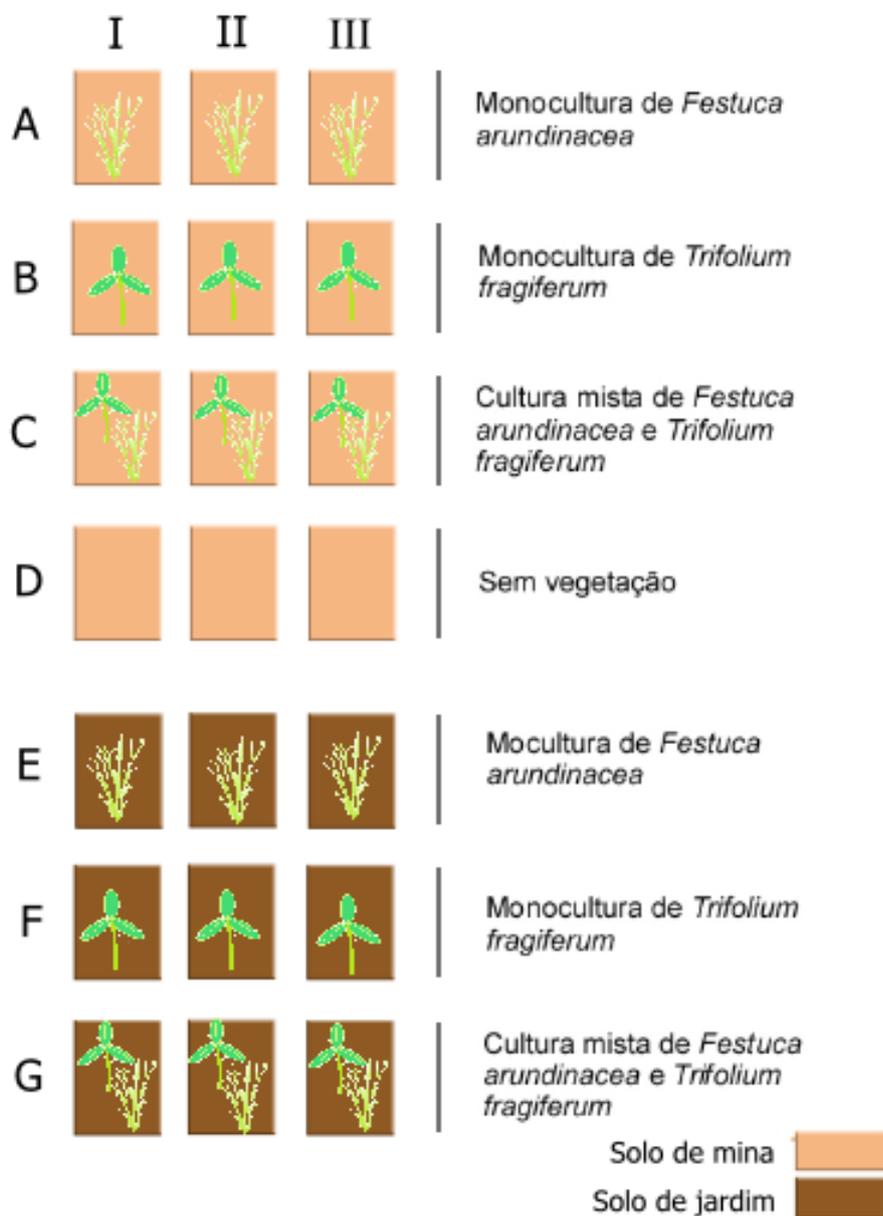


Figura 3.6 – Esquema da montagem experimental, contentores e tipos de cultura.

3.4 Amostragem do solo e preparação para análises químicas

As amostras de solo foram recolhidas inicialmente em intervalos de duas semanas, no entanto, com o decorrer da experiência, devido ao crescimento radicular acentuado, este intervalo foi alargado para três semanas, desde a segunda semana até ao final da experiência. Uma pequena

amostra de cada contentor foi recolhida com a ajuda de um tubo e agrupada, de acordo com o tipo de solo e cultura, às amostras dos contentores correspondentes.

O pH do solo foi determinado recorrendo a um método colorimétrico.

Para as análises dos elementos presentes no solo na fracção de troca iónica, após secagem ao ar do solo, as amostras do mesmo foram agitadas numa solução de acetato de amónia (1M) durante uma hora, numa razão de 5g de solo seco para 50mL de acetato de amónia. De seguida as amostras foram filtradas duas vezes, atingindo uma solução homogénea. As soluções finais foram conservadas em ambiente refrigerado a 4°C, até efectuar as análises químicas.

3.5 Medição da altura e número de folhas das plantas

Após uma semana do transplante das plantas, iniciaram-se as medições de altura e número de folhas das duas espécies, tendo-se efectuado uma vez por semana, até ao final da experiência. Neste processo considerou-se a folha mais alta para o registo nas duas espécies, o número de rebentos trifoliare presentes em cada indivíduo, no caso do *Trifolium fragiferum* e, a partir da sexta semana, o número de folhas presentes em cada gramínea.

3.6 Amostragem da biomassa das plantas e preparação para análises químicas

Na semana 14 a experiência foi finalizada e o material vegetal foi recolhido para determinação da biomassa seca e análises de macro- e micronutrientes. Em cada contentor a parte aérea de cada indivíduo foi separada e guardada individualmente em sacos de papel. Em relação à parte radicular foi recolhida uma amostra composta para cada contentor e armazenada em envelopes de papel. As amostras foram colocadas numa estufa a 50° C durante 4 dias e o peso seco foi registado com uma balança de precisão.

Para homogeneizar as amostras de raízes estas foram moídas num moinho de esferas (modelo Retsch®). As amostras sofreram posteriormente uma digestão ácida em recipientes de Teflon fechados. Em cada recipiente de Teflon foi adicionado cerca de 100mg de amostra e 2mL de ácido nítrico a 69%. Os recipientes de Teflon foram colocados numa estufa a 150°C durante 10h. Após arrefecimento dos recipientes à temperatura ambiente as amostras foram diluídas até um volume de 10mL com água ultrapura.

3.7 Análises químicas

As análises químicas foram feitas aos elementos Potássio, Ferro e Chumbo, tanto nas amostras de solo como de matéria radicular. Para os dois primeiros elementos foi utilizado o método analítico de espectrometria ICP-AES, ou seja, espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente, enquanto para a análise de Chumbo foi aplicado o método espectrometria ICP-MS, espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado.

No caso do Cálcio, este foi determinado nas amostras de solo através de espectrometria de absorção atômica por chama. O tipo de chama utilizado foi acetileno-ar, ou seja tendo como combustível o acetileno e como oxidante o ar, atingindo deste modo temperaturas entre os 2100 e os 2400 °C.

3.8 Análise estatística

As análises estatísticas foram efectuadas através do software IBM SPSS Statistics 20 e do Microsoft Office Excel. Para definir quais os tratamentos que geraram diferenças significativas no desenvolvimento das plantas foi aplicado o teste Kruskal-Wallis (ANOVA não paramétrico) seguido do teste de Tuckey quando se verificavam diferenças estatísticas significativas ($P < 0,05$). O primeiro é um teste não paramétrico que compara três ou mais amostras independentes, e testa a hipótese nula de que todas as populações possuem funções de distribuição iguais contra a hipótese alternativa de que ao menos duas das populações possuem funções de distribuição diferentes. O segundo teste é também um teste não paramétrico que só é possível aplicar a duas amostras independentes (Dytham, 2003).

4. RESULTADOS

4.1 Altura e número de folhas das plantas ao longo do tempo

As folhas dos indivíduos da espécie *T. fragiferum* dos contentores com solo de mina apresentaram, nas primeiras semanas da experiência, clorose, um sintoma de falta de clorofila, exibindo uma cor amarelada e avermelhada, e ainda necrose de algumas das folhas (Figura 4.1). As folhas mais velhas apresentaram estes sintomas inicialmente, começando pelas margens e nervuras (cor avermelhada). Nos contentores com solo de jardim, em nenhum período se verificaram estas características nos indivíduos (Figura 4.2), tal também não ocorreu nos indivíduos da espécie *F. arundinacea*. A partir da oitava semana, os indivíduos dos contentores do solo de mina aumentaram o ritmo de crescimento em altura, e a clorose inicial desapareceu. A mortalidade das plantas foi muito baixa, verificando-se apenas quatro plantas que morreram, três leguminosas e uma gramínea, duas em solo de mina e duas em solo de jardim.



Figura 4.1 – Indivíduos em monocultura de *Trifolium fragiferum* em solo de mina durante a semana quatro da experiência.



Figura 4.2 – Indivíduos em monocultura de *Trifolium fragiferum* em solo de jardim durante a semana quatro da experiência.

Para melhor analisar o crescimento das plantas, os resultados relativos à altura média dos indivíduos, assim como o número de folhas de cada espécie, ao longo das 13 semanas da experiência, são representados em forma de gráficos (Figura 4.3 a 4.6). Em cada gráfico estão representados os quatro tipos de tratamento, ou seja, monocultura em solo de mina (T1), monocultura em solo de jardim (T2), cultura mista em solo de mina (T3) e cultura mista em solo de jardim (T4).

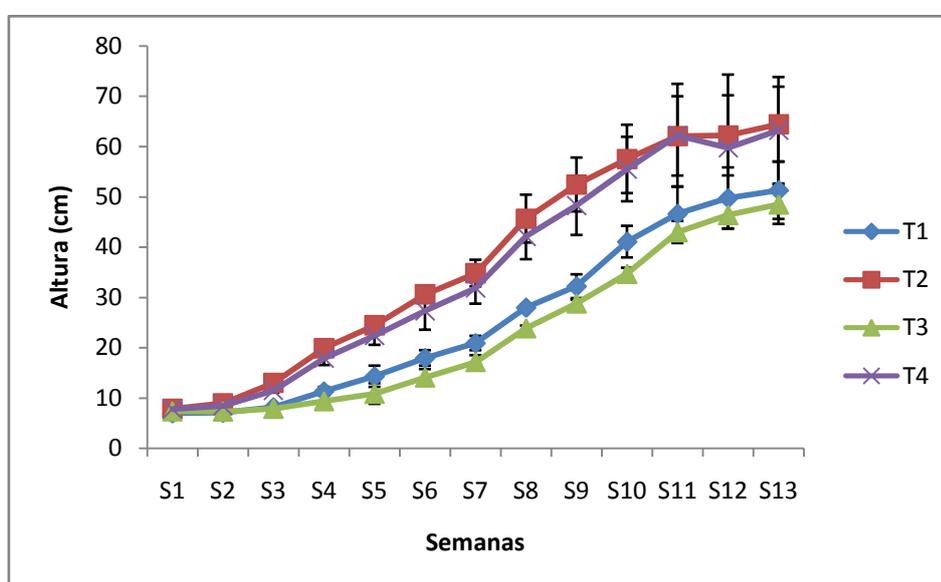


Figura 4.3 – Média de três réplicas da altura \pm desvio padrão dos indivíduos da espécie *Festuca arundinacea* nos tratamentos T1 (monocultura em solo de mina), T2 (monocultura em solo de jardim), T3 (mistura em solo de mina) e T4 (mistura em solo de jardim).

Os indivíduos da espécie *F. arundinacea* cresceram mais em altura quando plantados em solos de jardim, quer em monocultura, quer em mistura (T2 e T4, respectivamente), quando comparado com o seu crescimento em solo de mina (T1 e T3) (Figura 4.3). No início (semana 1) e no fim da experiência (semanas 12 e 13) não ocorreram diferenças significativas entre as alturas das plantas em solo de jardim e de mina. Nas restantes semanas houve diferenças significativas entre os tratamentos com solo de jardim e solo de mina, independentemente de ser em monocultura ou em mistura. Comparando a altura das plantas em solo de jardim em monocultura (T1) e mistura (T3) verificaram-se diferenças significativas entre a semana 6 e 10. Comparando a altura das plantas em solo de mina em monocultura (T2) e mistura (T4) apenas se verificaram diferenças significativas nas semanas 3 e 4.

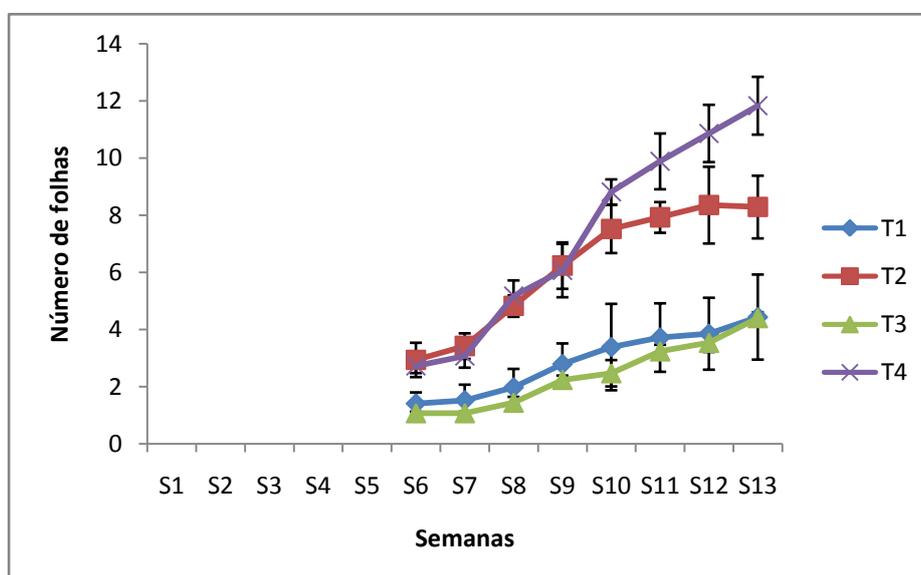


Figura 4.4 – Média de três réplicas do número de folhas \pm desvio padrão dos indivíduos da espécie *Festuca arundinacea* nos tratamentos T1 (monocultura em solo de mina), T2 (monocultura em solo de jardim), T3 (mistura em solo de mina) e T4 (mistura em solo de jardim).

Em relação ao número de folhas da gramínea apenas começaram a ser contadas a partir da semana 6 (Figura 4.4). Verificou-se que, tal como na altura das plantas, em solo de mina (T1 e T3) cada indivíduo, em média, tinha menos folhas, comparando com o solo de jardim (T2 e T4), com diferenças significativas da semana 6 à 13. Comparando o número de folhas dos indivíduos em solo de jardim em monocultura (T2) ou em mistura (T4), ocorreram diferenças significativas nas semanas 10 a 13. Comparando o número de folhas dos indivíduos em solo de mina em monocultura (T1) ou mistura (T3), houve diferenças significativas na semana 7.

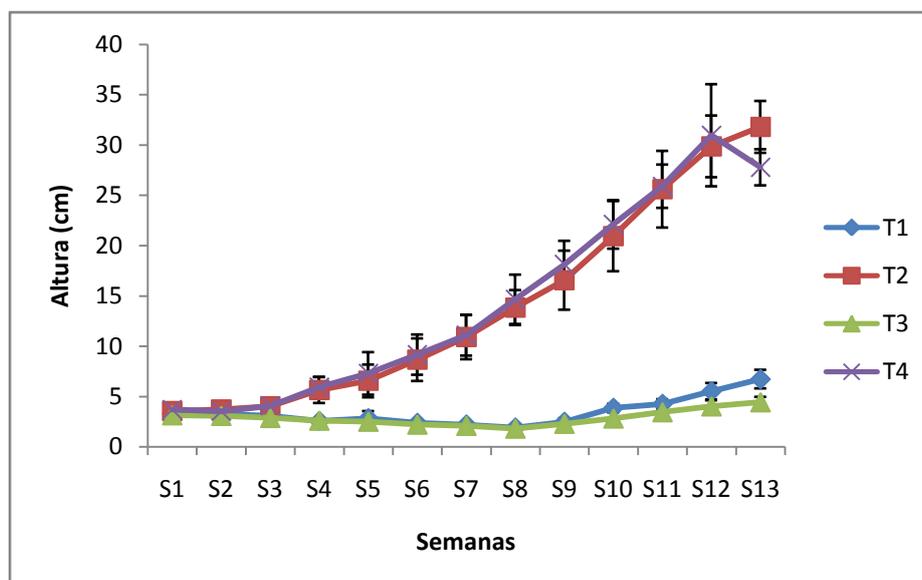


Figura 4.5 – Média de três réplicas da altura \pm desvio padrão dos indivíduos da espécie *Trifolium fragiferum* nos tratamentos T1 (monocultura em solo de mina), T2 (monocultura em solo de jardim), T3 (mistura em solo de mina) e T4 (mistura em solo de jardim).

Relativamente aos indivíduos da espécie *T. fragiferum*, no seu crescimento médio também se encontram diferenças acentuadas entre solo de mina (T1 e T3) e solo de jardim (T2 e T4), sendo significativas a partir da semana 3 (Figura 4.5). Comparando a altura dos indivíduos em solo de jardim em monocultura (T2) e mistura (T4), não se observaram diferenças significativas. Comparando a altura dos indivíduos em solo de mina em monocultura (T1) e mistura (T3), houve diferenças significativas nas semanas 12 e 13.

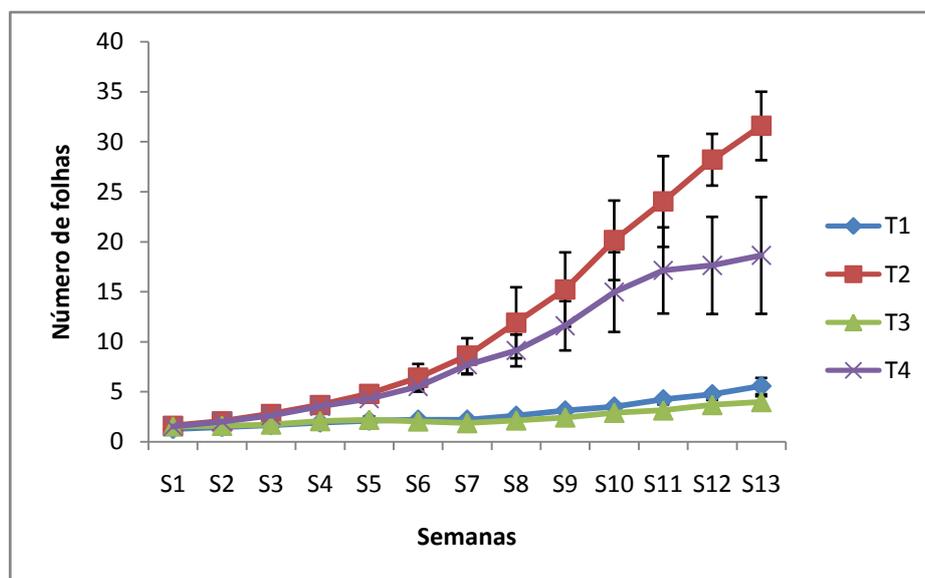


Figura 4.6 – Média de três réplicas do número de folhas \pm desvio padrão dos indivíduos da espécie *Trifolium fragiferum* nos tratamentos T1 (monocultura em solo de mina), T2 (monocultura em solo de jardim), T3 (mistura em solo de mina) e T4 (mistura em solo de jardim).

O número de folhas contabilizado nos indivíduos da espécie *T. fragiferum* foi menor nos contentores em solo de mina (T1 e T3) comparativamente com os de solo de jardim (T2 e T4), com diferenças significativas da semana 2 à semana 13 (Figura 4.6). Comparando o número de folhas em solo de jardim em monocultura (T2) ou mistura (T4) verificaram-se diferenças significativas nas semanas 12 e 13. Comparando o número de folhas em solo de mina em monocultura (T1) ou mistura (T3) verificaram-se diferenças significativas nas semanas 7, 9, e da semana 11 a 13.

4.2 Biomassa seca da parte aérea

Relativamente aos indivíduos da espécie *F. arundinacea* verifica-se que existem diferenças significativas na biomassa das plantas a crescer em solo de jardim (T2 e T4) e solo de mina (T1 e T3) (Figura 4.7). Comparando a biomassa da gramínea a crescer em monocultura e mistura, quer para solo de jardim, quer para solo de mina, não existem diferenças significativas.

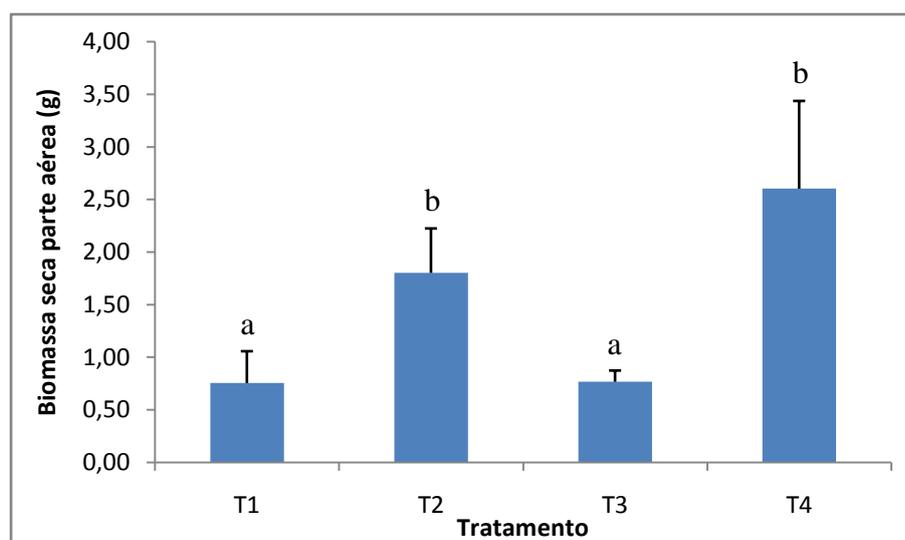


Figura 4.7 – Biomassa seca média de três réplicas \pm desvio padrão da parte aérea dos indivíduos da espécie *Festuca arundinacea* nos contentores em tratamento T1, T2, T3 e T4. Letras diferentes representam diferenças significativas segundo o teste de Tukey ($P < 0,05$).

Em relação à espécie *T. fragiferum*, a biomassa das plantas foi significativamente diferente entre todos os tratamentos (T1, T2, T3 e T4), sendo a biomassa maior em solo de jardim e em monocultura (Figura 4.8). De salientar que não foram detectados nódulos nas raízes do *T. fragiferum*, que no solo de mina, quer no solo jardim.

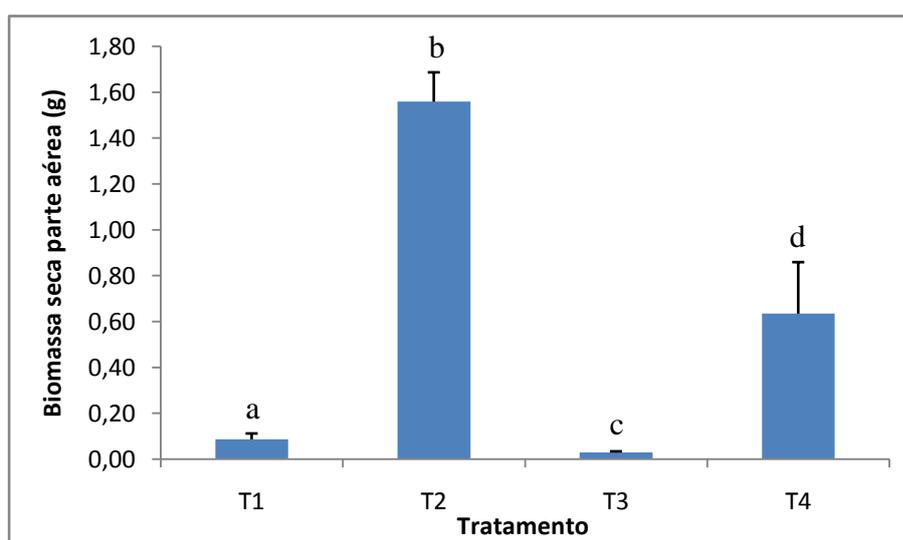


Figura 4.8 – Biomassa seca média de três réplicas \pm desvio padrão da parte aérea dos indivíduos da espécie *Trifolium fragiferum* nos contentores em tratamento T1, T2, T3 e T4. Letras diferentes representam diferenças significativas segundo o teste de Tukey ($P < 0,05$).

4.3 Quantificação de Ca, K, Fe e Pb no solo

O solo de mina apresentou um pH ácido ($\text{pH} \approx 5,5-6,5$), enquanto as amostras de solo de jardim apresentaram um pH alcalino ($\text{pH} \approx 7,5$). Foram feitas análises de Fe, K, Ca e Pb no início (semana 2) e fim da experiência (semana 12) na fracção de troca iónica do solo (extracção com acetato de amónia), tendo sido obtidos os resultados apresentados na Tabela 4.1. O Fe não foi detectado nas amostras de solo pelo que não é apresentado na tabela.

Em termos gerais, o solo de jardim apresentou concentrações de Ca e K muito superiores ao solo de mina, enquanto a concentração de Pb foi mais elevada no solo de mina (Tabela 4.1). Comparando a concentração dos elementos no início e fim da experiência no solo de mina, de uma maneira geral há uma redução da concentração de Ca e Pb, com ou sem coberto vegetal, mantendo-se o K praticamente inalterado (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Concentração de Ca, K e Pb nas amostras de solo no início e fim da experiência. SV: sem vegetação; Mono G: monocultura de gramínea; Mono L: monocultura de leguminosa; Mistura: mistura de gramínea e leguminosa; n.d.: não determinado; -: não detectado.

| | Ca (mg/g) | | K (mg/g) | | Pb ($\mu\text{g/g}$) | |
|-------------|-----------|-------|----------|-------|------------------------|-------|
| | Início | Fim | Início | Fim | Início | Fim |
| Solo Mina | | | | | | |
| SV | 0,302 | 0,172 | 0,064 | 0,064 | 0,093 | 0,013 |
| Mono G | 0,211 | 0,205 | 0,071 | 0,069 | 0,043 | 0,013 |
| Mono L | 0,473 | 0,195 | 0,065 | 0,079 | 0,033 | 0,013 |
| Mistura | 0,302 | 0,208 | 0,070 | 0,081 | 0,083 | 0,023 |
| Solo Jardim | | | | | | |
| Mono G | n.d. | 2,80 | 2,31 | 1,21 | - | 0,002 |
| Mono L | n.d. | 3,72 | 2,67 | 0,68 | 0,001 | 0,002 |
| Mistura | 3,55 | 4,02 | 2,11 | 0,86 | 0,003 | 0,001 |

Em termos de percentagem de redução (ou aumento) de um determinado elemento na fracção de troca iónica do solo de mina, a presença de uma monocultura de leguminosas levou a uma maior redução do Ca e aumento do K (Tabela 4.2). Pelo contrário, a monocultura de gramínea levou a uma alteração baixa do Ca e K (Tabela 4.2). Em relação ao Pb, o tratamento onde se observou uma maior redução do Pb na fracção iónica foi aquele que não apresentava coberto vegetal (Tabela 4.2). Relativamente ao solo de jardim, a concentração de Ca aumentou no final da experiência no solo que apresentava a mistura de espécies, e houve uma diminuição considerável da concentração de K no final da experiência (Tabela 4.1). Em relação ao Pb as

concentrações detectadas foram muito baixas, como se esperaria para funcionar como controlo em relação a este elemento, pelo que estes resultados não serão discutidos.

Tabela 4.2 – Percentagem na redução (-) ou adição (+) de Ca, K e Pb no solo de mina e de jardim. SV: sem vegetação; Mono G: monocultura de gramínea; Mono L: monocultura de leguminosa; Mistura: mistura de gramínea e leguminosa; n.d.: não determinado.

| | Ca | K | Pb |
|--------------------|------|------|------|
| Solo Mina | | | |
| SV | -43% | 0% | -86% |
| Mono G | -3% | -3% | -70% |
| Mono L | -59% | +22% | -61% |
| Mistura | -31% | +16% | -72% |
| Solo Jardim | | | |
| Mono G | n.d. | -48% | n.d. |
| Mono L | n.d. | -75% | n.d. |
| Mistura | +13% | -59% | n.d. |

4.4 Quantificação de Fe, K e Pb na parte radicular das plantas

A concentração de Fe e Pb, nas gramíneas ou leguminosas, foi muito superior nas raízes das plantas a crescer em solo de mina do que em solo de jardim, enquanto a concentração de K foi inferior (Tabela 4.3). De uma maneira geral as gramíneas apresentam concentrações menores de Fe e K, quer em solo de jardim, quer em solo de mina. Uma vez que no tratamento de mistura não foi possível separar as raízes das leguminosas e das gramíneas, apesar da dominância das raízes das gramíneas, os resultados das análises têm de ser vistos como apresentando uma mistura das duas espécies. No solo de mina as leguminosas apresentaram uma concentração mais elevada de Pb, comparando com as gramíneas.

Tabela 4.3 – Concentração de Fe, K e Pb na parte radicular das plantas. Mono G: monocultura de gramínea; Mono L: monocultura de leguminosa; Mistura: mistura de gramínea e leguminosa.

| | Fe (mg/g) | K (mg/g) | Pb (μ g/g) |
|-------------|-----------|----------|-----------------|
| Solo Mina | | | |
| Mono G | 4,50 | 6,30 | 9,35 |
| Mono L | 4,60 | 9,80 | 11,25 |
| Mistura | 6,10 | 8,80 | 11,05 |
| Solo Jardim | | | |
| Mono G | 0,59 | 9,70 | 1,65 |
| Mono L | 0,20 | 18,2 | 0,65 |
| Mistura | 0,33 | 18,2 | 0,75 |

5. DISCUSSÃO

5.1 Efeito do solo nas plantas

As alterações de crescimento são muitas vezes a primeira e mais óbvia reacção em plantas que sofrem de stress, e são usadas como um parâmetro para monitorizar os efeitos dos vários tipos de stress (Hagemeyer, 1999). Na experiência prática, desenvolvida neste trabalho, as primeiras evidências de que o solo teria deficiência nutricional e contaminação foi, de facto, o fraco desenvolvimento das plantas e a clorose.

Os indivíduos da espécie *Trifolium fragiferum*, a crescer em solo de mina, apresentaram clorose e necrose de algumas folhas, indicando que poderiam sofrer de deficiências nutricionais. Em particular, este sintoma ocorria primeiro em folhas mais velhas, não necessariamente mais próximas à base da planta, e depois propagava-se pelas folhas mais novas. Segundo Marschner (1990) e Taiz e Zeiger (2006) estes sintomas específicos podem indicar deficiência de Magnésio ou toxicidade não específica. Se a deficiência é muito grande, as folhas podem tornar-se amarelas ou brancas, que foi o que ocorreu na experiência. Estes sintomas apenas foram observados na leguminosa, podendo isto significar que as gramíneas são mais resistentes à deficiência nutricional. Para impedir que o crescimento seja tão lento, principalmente das leguminosas, seria benéfica a adição de correctivos, ou fertilizantes, ao solo, aumentando a capacidade das plantas crescerem e absorverem os contaminantes (Berti e Cunningham, 2000; Blaylock e Huang, 2000; Nabais *et al.*, 2007).

O desenvolvimento das plantas, tanto da espécie *Festuca arundinacea*, como *Trifolium fragiferum*, foi afectado pelo tipo de solo, ou seja os indivíduos do solo de mina cresceram menos em altura, e o número de folhas e a biomassa da parte aérea foram menores, comparativamente com o solo de jardim. Esta influência negativa do solo de mina foi mais notória nos trevos do que nas gramíneas, uma vez que os primeiros tiveram maiores dificuldades em se desenvolver neste tipo de solo.

No caso específico das gramíneas, verificaram-se diferenças significativas na sua altura média entre as semanas 2 e 11 nos tratamentos em solo de mina e em solo de jardim. No entanto, no final da experiência (semanas 12 e 13) a média da altura das plantas do solo de mina começou a aproximar-se das do solo de jardim, pressupondo-se que tenham conseguido compensar, de alguma maneira, a falta de nutrientes e a presença de Chumbo. Rizzi *et al.* (2004) observaram que as gramíneas da espécie *Festuca arundinacea* e *Lolium italicum* conseguiam suportar a

presença de metais pesados em antigos solos de mina, embora o seu crescimento fosse muito maior quando a estes eram adicionados fertilizantes. A concentração de Zinco e Chumbo na parte aérea das plantas era sempre menor que na parte radicular, sendo que esta diminui com o aumento da quantidade de composto adicionado aos solos (Rizzi *et al.*, 2004).

Relativamente aos indivíduos da espécie *T. fragiferum* estes apresentaram menor número de folhas em cultura mista, sendo esta mais evidente no solo de jardim. Ao mesmo tempo verificou-se que os indivíduos da espécie *F. arundinacea* desenvolveram maior número de folhas em cultura mista, em solo de jardim. Neste caso poderá ter ocorrido competição entre as duas espécies, com clara vantagem para as gramíneas.

A biomassa seca da parte aérea da gramínea e da leguminosa foram significativamente inferiores em solo de mina, quando comparado com o solo de jardim. Tendo em conta se as espécies estavam em monocultura ou mistura, houve diferenças no comportamento das espécies. A gramínea não apresentou diferenças na biomassa seca quer em monocultura ou em mistura. No entanto a leguminosa em mistura apresentou uma biomassa inferior, quer em solo de jardim, quer em solo de mina. Este resultado indica que a gramínea é mais competitiva do que a leguminosa. A competição leva a que a gramínea, espécie de crescimento ligeiramente mais rápido que a leguminosa, consiga adquirir território mais rapidamente e, deste modo, impor-se à leguminosa, impedindo o seu desenvolvimento pleno.

A menor produção de biomassa que ocorreu no solo de mina pode dever-se a duas razões, por um lado uma menor quantidade de nutrientes, e por outro a uma maior concentração de Pb no solo de mina, um elemento tóxico para as plantas. A concentração de K nas raízes da gramínea e da leguminosa foi inferior nas plantas a crescer em solo de mina, em comparação com o solo de jardim. Por outro lado, a concentração de Pb foi muito superior nas raízes do solo de mina. Esta concentração relativa é um reflexo das condições do solo de mina (menos K e mais Pb). A absorção de metais pesados pelas plantas aumenta com o aumento da concentração no meio externo, no entanto este aumento não é linear (Greger, 1999). Estes dois factores em conjunto podem ter afectado o desenvolvimento das plantas. A maior parte das plantas, quando na presença de metais pesados no solo, acumulam-nos ao nível radicular, protegendo a parte aérea. Este mecanismo de tolerância tem custos associados, reflectindo-se numa redução da biomassa (Lambers *et al.*, 2008). Apesar de ter ocorrido uma redução de biomassa quer na gramínea, quer na leguminosa, em solo de mina, as leguminosas tiveram uma redução muito maior. As leguminosas também apresentaram uma concentração de Pb maior na parte radicular (Tabela 4.3), o que poderá estar relacionado com a sua menor capacidade de produção de biomassa.

O Fe não foi detectado na fracção de troca iónica quer no solo de mina, quer no solo de jardim. No entanto, as concentrações de Fe nas raízes das plantas a crescer em solo de mina foram muito superiores aos do solo de jardim, e muito acima dos valores médios observados noutras plantas (0,002-0,7 mg/g, segundo Larcher, 1995). Quando o elemento Fe se encontra em baixa concentração no solo, as plantas apresentam mecanismos para conseguirem aumentar a absorção deste elemento. Existem duas estratégias diferentes, consoante o tipo de planta (Figura 5.1). A estratégia I é observada nas dicotiledóneas e nas monocotiledóneas que não sejam gramíneas. Nesta estratégia as plantas aumentam a solubilidade do Fe no solo com a libertação de prótons e quelantes, tais como ácidos carboxílicos ou compostos fenólicos, na rizosfera. O Fe é então reduzido de Fe^{3+} a Fe^{2+} e é absorvido. Os ácidos carboxílicos, para além de terem um papel na absorção de nutrientes também têm a função de destoxificação de metais como o Al ou Pb, e dissolução de minerais presentes no solo, levando à pedogénese (Pate *et al.*, 2001, citado por Lambers *et al.*, 2008). A estratégia II ocorre no grupo das gramíneas e caracteriza-se pela segregação por parte da planta de quelantes, designados por fitosideróforos, para a rizosfera, ocorrendo então a solubilização de Fe, sendo este absorvido na forma de Fe^{3+} pelas raízes e depois reduzido nas células radiculares (Ma, 2005). Os fitosideróforos são libertados através de um canal de aniões ao mesmo tempo que cationes de K são absorvidos, para garantir o equilíbrio iónico na planta.

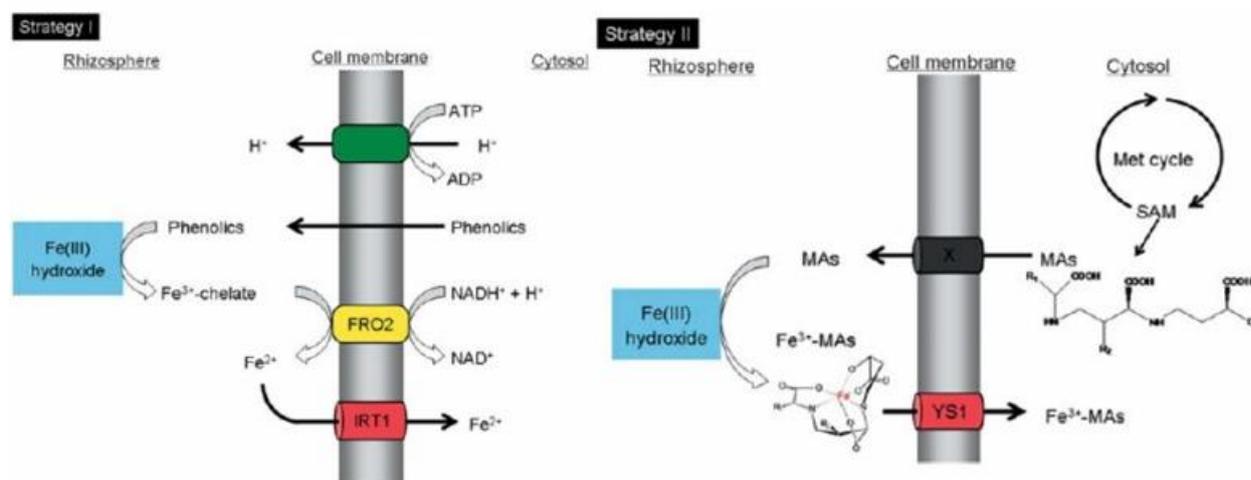


Figura 5.1 – Estratégia I, aplicada por dicotiledóneas e monocotiledóneas que não gramíneas, e estratégia II, aplicada por gramíneas, quando existe deficiência de Fe nos solos (adaptado de Lambers *et al.*, 2008).

A maior concentração de Fe nas raízes das plantas em solo de mina pode estar relacionada com dois factores, por um lado a mobilização de Fe pode ser mais ‘fácil’ no solo de mina, relacionada, por exemplo, com os valores de pH do solo, por outro lado, pode estar associada

à maior concentração de Pb presente nas raízes das plantas do solo de mina, como um mecanismo de co-transporte. O solo de mina apresentou um pH ácido (pH \approx 5,5-6,5), enquanto o de jardim apresentou um pH básico (pH \approx 7,5). De acordo com a Figura 5.2, no solo de mina o Fe encontra-se mais disponível à absorção das plantas do que no solo de jardim.

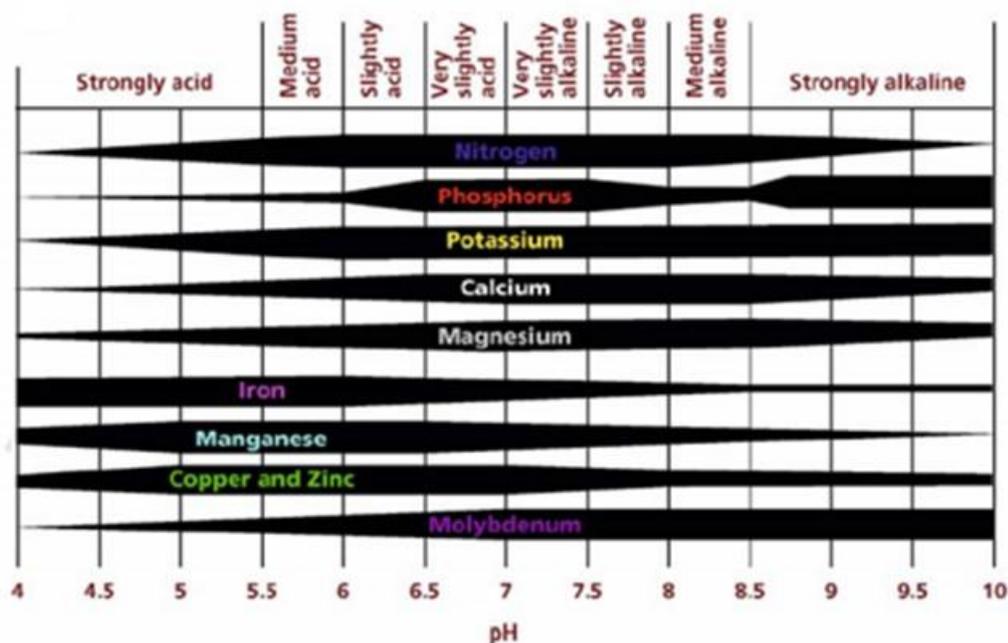


Figura 5.2 – Influência do pH do solo na disponibilidade de nutrientes (adaptado de Lambers *et al.*, 2008).

Feng *et al.* (2013) verificaram uma associação entre o Fe e o Pb na espécie *Typha latifolia*, localizados essencialmente na epiderme das raízes. Na rizosfera das plantas aquáticas, como a *T. latifolia*, o Fe precipita, na forma de óxidos de ferro, à superfície das plantas formando um película de Fe^{3+} , como consequência da difusão do oxigênio e oxidação do Fe^{2+} . Feng *et al.* (2012) colocam a hipótese que a película de Fe formada no exterior das raízes desempenhe um papel no sequestro de Pb na rizosfera, uma vez que o Pb tem uma afinidade elevada por óxidos de Fe, impedindo a sua translocação para os tecidos aéreos das plantas. Tendo em conta os dados da literatura, a maior concentração de Fe nas raízes das plantas a crescerem em solo de mina pode ser então interpretada como um mecanismo de sequestro do Pb ao nível das raízes, protegendo a parte aérea da planta.

5.2 Efeito das plantas no solo

Um dos objectivos do trabalho era também verificar se as plantas alteravam as características do solo. Na tabela 4.2 apresentam-se as diferenças que ocorreram sobre os elementos em análise no início e no fim da experiência, e podemos verificar que, em geral, os elementos sofreram diminuição, com excepção do K em solo de mina e do Ca em solo de jardim, esta diminuição pode estar associada ao processo de lixiviação, ou à absorção por parte das plantas. No caso específico do solo sem vegetação, esta diminuição só se pode dever ao processo de lixiviação, pois não existe a variável da presença de plantas. O pH ácido do solo de mina, por um lado torna os elementos mais biodisponíveis, incluindo os metais pesados (Marchner, 1995, citado por Greger, 1999), mas também favorece a perda de elementos do solo, caso não sejam absorvidos pelas plantas.

Relativamente ao Ca, em solo de mina sofreu diminuição em todos os tipos de tratamento, enquanto no solo de jardim (mistura) aumentou. Pode afirmar-se que no solo sem vegetação o Ca foi lixiviado, tendo diminuído 43% através deste processo. A diminuição deste elemento em solo de mina com monocultura de leguminosa foi ainda maior, reflectindo uma diminuição de 59%, podendo dever-se, em parte, ao processo de lixiviação, mas também à absorção do elemento pelas plantas. Em monocultura de gramínea esta diminuição foi muito mais baixa, apenas 3%, podendo ter ocorrido devido à grande densidade radicular que as gramíneas desenvolvem, criando assim um sistema de captura de iões. No solo com cultura mista também ocorreu uma diminuição acentuada, mas não tanto como no solo com leguminosas, podendo este valor dever-se a uma maior quantidade de raízes de leguminosa na amostra.

Considerando o elemento K, no solo sem vegetação não ocorreram diferenças, ou seja este elemento não foi arrastado para fora do sistema através da lixiviação. Em solo de mina, em monocultura de gramínea, apenas diminuiu 3% e a razão será a mesma da diminuição do Ca, pela existência de um sistema radicular denso que pode funcionar como locais de troca iónica. Em monocultura de leguminosa, este elemento sofreu um aumento de 22%. Isto pode indicar que há transferência de K dos tecidos da leguminosa para o solo. O K é um elemento fundamental para as plantas e largamente utilizado como um regulador do gradiente electroquímico das membranas plasmáticas, ou um regulador osmótico (Marchner, 1990). Eventualmente poderá estar relacionado com o equilíbrio de cargas com a entrada de Pb nas raízes. Comparando com a monocultura da leguminosa em solo de jardim, houve uma redução de 75% do K presente na fracção de troca iónica dos solos, indicando que ou foi lixiviado, ou provavelmente absorvido pelas plantas.

No solo de mina o Pb sofreu uma diminuição de concentração na fracção de troca iónica em todos os tipos de tratamento, sendo esta diminuição maior no solo sem vegetação (86%). Isto indica que as perdas por lixiviação no solo de mina são muito mais acentuadas. Nos solos com coberto vegetal, especialmente o tratamento com monocultura da leguminosa, a perda por lixiviação não será tão acentuada, sendo parte retida no sistema radicular, confirmando o papel benéfico da presença de vegetação em solos contaminados. Salt *et al.* (1995), citados por US EPA (2000), confirmaram a utilização de várias gramíneas na redução de metais em lixiviados. Um dos exemplos é uma espécie *Festuca rubra* cv. Merlin que foi introduzida num local com resíduos de mina, contaminados com Chumbo e Zinco.

Analisando ainda as melhorias ocorridas no solo, poderá considerar-se que a camada vegetal produzida diminuiu o contacto directo com o solo e a sua erosão. Neste âmbito, as gramíneas tiveram melhores resultados pois tiveram um crescimento mais acentuado, tendo, no período da experiência conseguido cobrir grande parte do solo. O mesmo não se verificou com as leguminosas em solo de mina, que mesmo na última semana da experiência ainda apresentava solo sem coberto vegetal.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O solo de mina diminuiu significativamente a capacidade de crescimento da gramínea e da leguminosa, reflectido numa diminuição de parâmetros como a altura, número de folhas e biomassa da parte aérea. No entanto, a gramínea conseguiu ter uma melhor performance no solo de mina, comparando com a leguminosa, que sofreu cloroses no início do seu desenvolvimento, assim como uma diminuição mais drástica dos parâmetros de crescimento descritos.

O tratamento com a mistura de espécies tinha como objectivo verificar se ocorria uma boa simbiose entre as gramíneas e as leguminosas, melhorando o seu desenvolvimento. Na mistura de espécies, a gramínea beneficiou e a leguminosa não. Os efeitos benéficos nos parâmetros de crescimento da gramínea em mistura podem ser simplesmente um reflexo de diminuição de densidade de indivíduos da mesma espécie (20 indivíduos na monocultura e 10 indivíduos na mistura). A leguminosa foi largamente afectada pela presença da gramínea, quer em solo de jardim, quer em solo de mina. A utilização de leguminosas para enriquecimento do solo em azoto, devido à formação da simbiose com rizóbios, é uma prática agrícola comum. No entanto, na experiência efectuada, quer em solo de jardim ou de mina, em monocultura ou em mistura, não se verificaram a presença de nódulos. A formação de nódulos está normalmente associada a solos pobres em azoto, uma situação em que esta simbiose é benéfica. Por isso, em solo de jardim, com alto teor de azoto, não é expectável a formação de nódulos. Por outro lado, para haver a formação de nódulos, também tem de ocorrer uma comunidade microbiana adequada. Nesse sentido, as características do solo de mina também podem prejudicar a formação de nódulos, tirando o benefício da utilização de leguminosas para a fixação e fertilização natural do solo.

Em termos de composição mineral da parte radicular, as plantas do solo de mina (gramínea e leguminosa) apresentaram concentrações menores de K e maiores de Pb, comparando com as plantas em solo de jardim, um reflexo directo da composição mineral da fracção de troca iónica dos solos. A concentração de Fe na fracção de troca iónica foi vestigial quer no solo de mina, quer no solo de jardim. No entanto, as raízes das plantas do solo de mina (gramínea e leguminosa) apresentaram concentrações muito mais elevadas de Fe. Provavelmente o Fe tem um papel importante na retenção do Pb.

Em relação ao efeito do coberto vegetal nas características químicas do solo ao longo do tempo, verificou-se que ocorreu uma melhoria das características do solo, na medida em que o

metal pesado na fracção de troca iónica diminuiu, tendo sido uma parte absorvida pelas plantas. No entanto, parte deste metal pesado foi também lixiviado, o que não é o pretendido num processo de fito-estabilização, no qual se pretende que o metal não migre para ambiente aquáticos. Ao longo da experiência, quando se procedia à rega, verificou-se que o solo de jardim retinha mais água que o solo de mina, o que talvez se devesse ao facto do primeiro conter mais matéria orgânica. Se se aumentar a capacidade de retenção de água em solos contaminados, através da adição de uma camada de matéria orgânica ou argila, reduz-se o volume de lixiviados, permitindo um maior sucesso da fito-estabilização.

Até ao momento já foram identificadas muitas espécies vegetais que concentram metais pesados e outros contaminantes, nos seus tecidos, mas ainda existe muito mais a fazer. A conservação da biodiversidade é fundamental também nesta matéria, pois podem ainda vir a ser identificadas outras espécies adequadas a técnicas de fito-remediação. A prospecção da biodiversidade poderá levar à descoberta de plantas espontâneas que tenham a capacidade de acumular contaminantes e assim serem utilizadas para descontaminar ambientes poluídos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, M. M., Santos, E. S., Anjos, C., Magalhães, M.C.F., Nabais, C. (2009). Capacidade de absorção do chumbo por plantas do género *Cistus* espontâneas em ambientes mineiros. *Revista de Ciências Agrárias*, Vol. 32, 170-181.
- A. Pereira Jordão (2011). *Espécies de Clima Temperado – Festuca arundinacea*. Acedido em Março de 2013, em: <http://www.apereirajordao.pt/produtos/sementes/especies-de-clima-temperado/14/Festuca-arundinacea/137>.
- Barbosa, A. P., Rezende, R. S., Silva, K. L. F. (2005). *Avaliação do uso de gramíneas (Poaceae) no processo de fitorremediação aplicado ao tratamento de solos contaminados com metais pesados*. Acedida em 2012, em: <http://www.seb-ecologia.org.br/viiceb/resumos/589a.pdf>.
- Berti, W. R., Cunningham, S. D. (2000). Phytostabilization of metals. Em: Raskin, I. e Ensley, B. D. (eds.), *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc., 71-88.
- Blaylock, M. J., Huang, J. (2000). Phytoextraction of metals. Em: Raskin, I. e Ensley, B. D. (eds.), *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc., 53-70.
- Boyd, R. S. (2010). Heavy Metal Pollutants and Chemical Ecology: Exploring New Frontiers. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 36, 46-58.
- Boyd, R. S. (2012). Plant defense using toxic inorganic ions: Conceptual models of the defensive enhancement and joint effects hypotheses. *Plant Science*, Vol. 195, 88-95.
- Brooks, R. R., Lee, J., Reeves, R. D., Jaffré, T. (1977). Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *Journal of Geochemical Exploration*, Vol. 7, 49-57.
- Carvalho, D. (2005). Acedido em 2012, no sítio da Internet da Empresa de Desenvolvimento Mineiro, em: <http://www.edm.pt/html/noticia20051109.htm>.

- Cobbett, C. S., Goldsbrough, P. B. (2000). Mechanisms of metal resistance: phytochelatins and metallothioneins. Em: Raskin, I. e Ensley, B. D. (eds.), *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc., 247-269.
- Decreto-Lei n.º198-A/2001 de 6 de Julho. *Diário da República N.º 155 — 1ª SÉRIE-A 4084 (3)*. Ministério da Economia. Lisboa.
- Decreto-Lei n.º276/2009 de 2 de Outubro. *Diário da República N.º192 – 1ª SÉRIE*. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Lisboa.
- Diaz, F. M. e Kirkham, M. B. (2007). Testing the manipulation of soil availability of metals. Methods and Biotechnology, Em: Neil Willey, ed., *Vol. 23: Phytoremediation: Methods and Reviews*. Humana Press, 121-129.
- Direcção Geral de Energia e Geologia, Empresa de Desenvolvimento Mineiro, SA. (2011). *A Herança das Minas Abandonadas – O Enquadramento e Actuação em Portugal*. Acedido em Julho de 2013, em: <http://www.edm.pt/html/livro.html>.
- Direcção Geral de Energia e Geologia, Ministério da Economia e do emprego. Acedido em Junho de 2013 em: <http://www.dgeg.pt/?cn=73338160AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA>.
- Duarte, L. M. (1995). A actividade mineira em Portugal durante a Idade Média. *Revista da Faculdade de Letras: História*, Vol. 12, 75-112, Universidade do Porto. Faculdade de Letras.
- Dytham, C. (2003). *Choosing and Using Statistics: A Biologist's Guide*. 2ª edição, Blackwell Publishing.
- Ensley, B. D. (2000). Rationale for use of phytoremediation. Em: Raskin, I. e Ensley, B. D. (eds.), *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc., 3-11.
- Falcão, J. M., Carvalho, F. P., Leite, M. M., Alarcão, M., Cordeiro, E., Ribeiro, J. (2005). Minas de urânio e seus resíduos: Efeitos na saúde da população, RELATÓRIO CIENTÍFICO I. MinUrar – Instituto Tecnológico e Nuclear.
- Feng, H., Qian, Y., Gallagher, F. J., Wu, M., Zhang, W., Yu, L., Zhu, Q., Zhang, K., Liu, C.-J., Tappero, R. (2013). Lead accumulation and association with Fe on *Typha latifolia* root from an urban brownfield site. *Environmental Science and Pollution Research*, Vol. 20, 3743-3750.

- flora-on. Acedido em Março de 2013, em: <http://www.flora-on.pt/#/1+trifolium+fragiferum+1>.
- Frame, J. *Trifolium fragiferum* L. Acedido em Julho de 2013, no sítio da Internet da Food and Agriculture Organization das Nações Unidas:
<http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/gbase/data/pf000500.htm>.
- Freitas, H., Prasad, M. N. V., Pratas, J. (2004). Plant community tolerant to trace elements growing on the degraded soils of São Domingos mine in the south east of Portugal: environmental implications. *Environment International*, Vol. 30, 65-72.
- Gavrilescu, M., Pavel, L. V., Cretescu, I. (2009). Characterization and remediation of soils contaminated with uranium. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 163, 475-510.
- Ghaderian, S. M., Mohtadi, A., Rahiminejad, R., Reeves, R. D., Baker, R. D. (2007). Hyperaccumulation of nickel by two Alyssum species from the serpentine soils of Iran. Springer, Vol. 293, 91-97.
- Glass, D. J. (2000). Economic potencial of phytoremediation. Em: Raskin, I. e Ensley, B. D. (eds.), *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc., 15-31.
- Greger, M. (1999). Metal Availability and Bioconcentration in Plants. Em: Prasad, M. N. V. e Hagemeyer, J. (eds.), *Heavy Metal Stress in Plants*. Springer, 1-27.
- Grupo de Taxonomia e Informática (2007). “Gramíneas, Poaceae”. Acedido em Março, 2013, no sítio da Internet do Grupo de Taxonomia e Informática da Universidade de Coimbra: <http://www.uc.pt/uid/tig/inv/gram>.
- Hagemeyer, J. (1999). Ecophysiology of Plant Growth Under Heavy Metal Stress. Em: Prasad, M. N. V. e Hagemeyer, J. (eds.), *Heavy Metal Stress in Plants*. Springer, 157-181.
- Herrera-Estrella, L. R., Guevara-García, A. A. (2009). Heavy Metal Adaptation. *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester.
- Huang, J. W., Chen, J., Berti, W. R., Cunningham, S. D. (1997). Phytoremediation of Lead-Contaminated Soils: Role of Synthetic Chelates in Lead Phytoextraction. *Environmental Science & Technology*, Vol. 31, 800-805.

- Khan, A. G., Kuek, C., Chaudhry, T. M., Khoo, C. S., Hayes, N. J. (2000). Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*, Vol. 41, 197-207.
- Lambers, H., Chapin III, F. S., Pons, T. L. (2008). *Plants Physiological Ecology*. 2ª edição, Springer.
- Larcher, W. (1995). *Physiological Plant Ecology*. 3ª edição, Springer.
- Lee, Jin-Young, Choi, Jung-Chan, Lee, Kang-Kun (2005). Variations in heavy metal contamination of stream water and groundwater affected by an abandoned lead–zinc mine in Korea. *Environmental Geochemistry and Health*, Vol. 27, 237-257.
- Ma, J. F. (2005). Plant Root Responses to Three Abundant Soil Minerals: Silicon, Aluminum and Iron. *Critical Reviews in Plant Sciences*, Vol. 24, 267-281.
- Marschner, H. (1990). *Mineral nutrition of higher plants*. 4ª edição, Academic Press Limited.
- Martens, S. N., Boyd, R. S. (1994). The ecological significance of nickel hyperaccumulation: a plant chemical defense. *Oecologia*, Vol. 98, 379-384.
- McIntyre, T. (2003). Phytoremediation of heavy metals from soils. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol. 78, 97-123.
- Melendez, L. B., Kütter, V. T., Montes-Bayón, M., Sella S. M., Silva-Filho, E. V. (2012, 30 de Outubro). Determinação de Metalotioneínas e Fitoquelatinas utilizando a técnica de HPLC-ICP-MS. *Revista Virtual de Química*, Vol. 4, 612-622. Acedido em 12 de Junho de 2013, em: <http://www.uff.br/RVQ/index.php/rvq/article/view/211/276>.
- Moreira, F. R., Moreira, J. C. (2004). A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, Vol. 9(1), 167-181.
- Nabais, C., Gonçalves, S. C., Freitas, H. (2007). Phytoremediation in Portugal: Present and Future. Em: *Methods and Biotechnology*, Vol. 23: *Phytoremediation: Methods and Reviews*. Neil Willey (ed.), Humana Press, 405-421.
- Neves, L. F., Pereira, A. C. (2004). Radioatividade natural e ordenamento do território: o contributo das Ciências da Terra. Associação portuguesa de geólogos. *Geonovas* nº 18, 103-114.

- Peijnenburg, W., Posthuma, L., Eijsackers, H., Allen, H. (1997). A Conceptual Framework for Implementation of Bioavailability of Metals for Environmental Management Purposes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 37, 163-172.
- Plants Database (2013, Fevereiro). Plant Guide - STRAWBERRY CLOVER (*Trifolium fragiferum* L.). Acedido em Julho de 2013, no sítio da Internet da USDA (United States Department of Agriculture): http://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_trfr2.pdf.
- Porto, M. (2007). *Gramíneas*. Acedido em 2012, no sítio da Internet do Herbário Digital da Universidade de Coimbra:
http://www.uc.pt/herbario_digital/Flora_PT/Familias/gramineas.
- Prasad, M., Freitas, H. (2003). Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol. 6, 285-321. Acedido em Junho de 2013 em:
<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol6/issue3/full/6>.
- Rascio, N., Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting?. Elsevier, *Plant Science*, Vol. 180, 169-181.
- Rizzi, L., Petruzzelli, G., Poggio, G., Guidi, G. V. (2004). Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization. *Chemosphere*, Vol. 57, 1039-1046.
- Ross, S. M., Kaye, K. J. (1994). The meaning of metal toxicity in soil-plant systems. Em: Ross, Sheila M. (ed.), *Toxic metals in soil-plant systems*. Wiley, 27-57.
- Salt, D. E., Krämer, U. (2000). Mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. Em: Raskin, I. e Ensley, B. D. (eds.), *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc., 231-246.
- Schnoor, J. L. (2000). Phytostabilization of metals using hybrid poplar trees. Em: Raskin, I. e Ensley, B. D. (eds.), *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. John Wiley & Sons, Inc., 133-150.
- Singh, N., Ma, L. (2007). Assessing plants for phytoremediation of arsenic-contaminated soils. Em: Neil Willey (ed.), *Methods and Biotechnology*, Vol. 23: *Phytoremediation: Methods and Reviews*. Humana Press, 320-347.

Sistema Nacional de Recursos Hídricos. *Anuário da Qualidade da Qualidade Superficial*.

Acedido em Março de 2013, em:

<http://snirh.pt/index.php?idMain=1&idItem=1.5&idISubtem=ANUARIO>.

Taiz, L., Zeiger, E. (2006). *Fisiologia vegetal*. 3ª edição, artmed. São Paulo.

US EPA (United States Environmental Protection Agency) (2000). *Introduction to Phytoremediation*. EPA 600/R-99/107, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Cincinnati, OH.

US EPA (United States Environmental Protection Agency) (2007). *The Use of Soil Amendments for Remediation, Revitalization and Reuse*. EPA 542-R-07-013, Solid Waste and Emergency Response. Acedido em Junho de 2013, em: <http://www.epa.gov/tio/download/remed/epa-542-r-07-013.pdf>.

Vilão, R., Venâncio, C., Teixeira, A., Gervásio, I., Liberal P., Ribeiro, R., Panão, S. (2011). *Relatório do Estado do Ambiente 2011*. Agência Portuguesa do Ambiente, Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território, Portugal.

Vilão, R., Venâncio, C., Gervásio, I., Silva, J., Liberal, P., Ribeiro, R. (Outubro 2012). *Relatório do Estado do Ambiente 2012*. Agência Portuguesa do Ambiente, I.P, Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território, Portugal.

Willey, N. (2007). Soils contaminated with radionuclides: some insights for phytoextraction of inorganic contaminants. Em: Neil Willey (ed.), *Methods and Biotechnology*, Vol. 23: *Phytoremediation: Methods and Reviews*, Humana Press, 305-317.

Zeitouni, C. F. (2003). *Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de Cádmio, Chumbo, Cobre, Níquel e Zinco de um latossolo vermelho amarelo distrófico*. Dissertação de Mestrado, Instituto Agrônomo de Campinas, São Paulo.

ANEXOS

A. Cronograma da experiência

A experiência prática teve, na sua globalidade, a duração de aproximadamente cinco meses (Tabela 1), tendo em conta a sementeira, transplante e levantamento da experiência. A montagem experimental durou treze semanas e durante este período procedeu-se à medição dos indivíduos, recolha de amostras de solo e lixiviados.

Tabela 1 - Cronograma da experiência prática.

| | Dez. | Jan. | | | | Fev. | | | | | Mar. | | | | Abr. | | | | Maio |
|-----------------------------|------|------|---|---|---|------|---|---|---|---|------|---|---|----|------|----|----|----|------|
| Semana | | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | |
| Actividade | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sementeira | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | | | | | | | |
| Transplante | | | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | |
| Medição das plantas | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | |
| Recolha de amostras de solo | | | | | | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | | | ■ | | | |
| Levantamento da experiência | | | | | | | | | | | | | | | | | | ■ | |

B. Espécies identificadas no solo sem vegetação

Durante a experiência verificou-se que, nos três contentores sem vegetação (DI, DII, DIII), cresciam espontaneamente algumas espécies, cuja identificação se apresenta na Tabela 2. Estas espécies poderão ser as mais indicadas para este tipo de solo, com baixa concentração de nutrientes e pH baixo, pelo menos numa fase inicial de estabelecimento do coberto vegetal.

Tabela 2 – Lista de espécies que nasceram espontaneamente nos contentores sem vegetação (DI, DII e DIII).

| Espécie | Família |
|------------------------------|-----------------|
| <i>Spergula arvenses</i> L. | Caryophyllaceae |
| <i>Euphorbia peplos</i> L. | Euphorbiaceae |
| <i>Juncus bufonius</i> L. | Juncaceae |
| <i>Digitalis purpúrea</i> L. | Plantaginaceae |
| <i>Holcus mollis</i> L. | Poaceae |
| <i>Ehrharta erecta</i> Lam. | Poaceae |
| <i>Polygonum maculosa</i> L. | Polygonaceae |
| <i>Rumex</i> sp. | Polygonaceae |
| <i>Parietaria judaica</i> L. | Urticaceae |

Por opção pessoal da autora, este trabalho não está escrito segundo o novo acordo ortográfico.