



Vanessa Daniela Lopes Bandarra

Licenciada em Biotecnologia

**Efeito da aplicação de Águas Residuais na
produtividade e na qualidade de três genótipos de
*Miscanthus***

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Energia e Bioenergia

Orientadora: Prof. Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando, FCT-UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Benilde Simões Mendes

Vogais: Prof. Doutora Helena Margarida Nunes Pereira

Prof. Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando



Setembro, 2013

“Efeito da aplicação de Água Residuais na produtividade e na qualidade de três genótipos de
Miscanthus”

Copyright Vanessa Daniela Lopes Bandarra, FCT-UNL, UNL.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido, ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Partes do presente trabalho foram publicadas:

Bandarra V, Fernando AL, Boléo S, Barbosa B, Costa J, Sidella S, Duarte MP, Mendes B (2013) Growth, Productivity and Biomass Quality of Three *Miscanthus* Genotypes Irrigated with Zn and Cu Contaminated Wastewaters. In: Eldrup A, Baxter D, Grassi A, Helm P (Eds.), Proceedings of the 21th European Biomass Conference and Exhibition, Setting the course for a Biobased Economy, 3-7 June 2013, Copenhagen, Denmark, ETA-Renewable Energies and WIP-Renewable Energies, pp 147 - 150. (ISSN 2282-5819; DOI: 10.5071/21stEUBCE2013-1CO.6.5; ISBN: 978-88-89407-53-0).

O meu sincero Agradecimento:

- À presidente do DCTB, Departamento de Ciências e Tecnologias da Biomassa e Coordenadora do Mestrado em Energia e Bioenergia, a professora Benilde Mendes, por toda a disponibilidade e ajuda prestada, por todos os valores de dinamismo, profissionalismo, sabedoria, justiça, sensibilidade, dedicação, bom senso e Humanidade que diariamente transmite aos seus alunos;

- À minha extraordinária orientadora, mestre e tutora, a Professora Ana Luísa Fernando, sem a qual este trabalho não seria possível mas principalmente por nos tornar pessoas melhores a cada dia pelo seu exemplo de profissionalismo, humanidade, humildade, dedicação, sensibilidade, sabedoria, justiça, força, liderança e boa disposição mas principalmente pela sua amizade e constante inspiração;

- À Professora Paula Duarte, por toda a sua disponibilidade e ajuda prestada. Por tantos exemplos dados de profissionalismo, dedicação, humanismo e, claro, pela sua amizade;

- Aos meus colegas, Sara Boléo, Sarah Sidella, Jorge Costa e Bruno Barbosa, por toda a ajuda e colaboração e por tantas horas de trabalho passadas em boa disposição;

- À minha amiga Sara Boléo, pela sua ajuda e disponibilidade na elaboração deste trabalho, mas especialmente pela sua amizade;

- A todos os colaboradores do Departamento de Ciências e Tecnologias da Biomassa;

- A todos os meus amigos, que sempre me apoiaram, torceram por mim e desculparam todas as minhas ausências;

- À minha família mas em particular à minha mãe e à Isabel, pela compreensão e paciência por todos os momentos perdidos, por todo o apoio, sacrifício e todo o amor incondicional sem os quais não teria chegado aqui;

- Por fim, ao meu Pai, à sua memória, por todo o seu amor mas principalmente por me ter ensinado que dos sonhos nunca se desiste.

"Se vi mais longe foi por estar de pé sobre ombros de gigantes." - *Isaac Newton*

Resumo

Fitorremediação, o uso de vegetação para a descontaminação de diferentes matrizes, não é uma estratégia de elevado custo e tem sido apresentada como um método para restaurar ou atenuar e estabilizar efluentes. Neste contexto, o presente trabalho de pesquisa tem como objetivo estudar a resposta de fitorremediação de três genótipos de *Miscanthus* (duas espécies - *Miscanthus sinensis* e *Miscanthus floridulus*, e um híbrido – *Miscanthus x giganteus*) para efluentes contaminados com zinco e cobre (10 mg Zn.dm^{-3} e 1 mg Cu.dm^{-3}). Os resultados mostraram que o crescimento e a produtividade de biomassa não foram afetados pelos efluentes contaminados com metais pesados. Nos três genótipos, a biomassa irrigada com efluentes contaminados com zinco apresentou ainda uma maior produtividade do que o controle. Águas residuais contaminadas com Cu aumentaram a produção de biomassa de *M. sinensis*. A biomassa obtida na rega com águas contaminadas com Zn e Cu apresentou maior teor de Zn e Cu, sendo especialmente notória no *M. x giganteus* e *M. sinensis*. O sistema *Miscanthus*-solo realizou 88-96% de remoção de Zn e 98% de remoção de Cu das águas residuais. No entanto, observou-se uma acumulação de Zn e Cu no solo devido à irrigação com águas residuais contaminadas.

Palavras-chave: culturas energéticas perenes, *Miscanthus*, remoção, metais pesados, fitorremediação.

Abstract

Phytoremediation, the use of vegetation for the decontamination of different matrices, is not a very expensive strategy and has been presented as an approach to restore or attenuate and stabilize wastewaters. In this context, this research work aims to study the phytoremediation response of three *Miscanthus* genotypes (two species - *Miscanthus sinensis* and *Miscanthus floridulus*, and a hybrid – *Miscanthus* × *giganteus*) to zinc and copper contaminated wastewaters (10 mg Zn.dm⁻³ and 1 mg Cu.dm⁻³). Results showed that growth and biomass productivity were not affected by the heavy metal contaminated wastewaters. In the three genotypes, the biomass irrigated with wastewaters contaminated with zinc presented even higher productivity than the control. Cu contaminated wastewaters enhanced the biomass production of *M. sinensis*. Biomass obtained with Zn and Cu contaminated waters presented higher Zn and Cu content than biomass from control pots, being especially notorious with *M. x giganteus* and *M. sinensis*. *Miscanthus*-soil systems accomplished 88-96% removal of Zn and 98% removal of Cu from wastewaters. But, an accumulation of Zn and Cu were observed in the soil due to the irrigation with the contaminated wastewaters.

Keywords: perennial energy crops, *Miscanthus*, removal, heavy metals, phytoremediation

ÍNDICE GERAL

O meu sincero Agradecimento	vii
Resumo.....	xi
Abstract	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xvii
ÍNDICE DE TABELAS	xix
1.INTRODUÇÃO	1
1.1. <i>Miscanthus</i> spp.....	1
1.1.1.1 <i>Miscanthus x giganteus</i>	1
1.1.1.2. <i>Miscanthus sinensis</i>	2
1.1.1.3. <i>Miscanthus floridulus</i>	3
1.1.2. Factores edafo-climáticos.....	4
1.1.2.1. Hibernação, temperatura e tolerância a geadas	4
1.1.2.2. Água.....	4
1.1.2.3. Solo.....	5
1.1.3. Cultivo, colheita, produção	5
1.1.3.1. Produtividade.....	7
1.1.3.2. Fertilização	7
1.1.3.3. Irrigação.....	8
1.1.4. Breve abordagem às diversas utilizações/funções	8
1.2. Fitorremediação.....	9
1.2.1. Fitorremediação de águas contaminadas com metais pesados	10
1.3. Objetivos do estudo	13
2. METODOLOGIAS E MATERIAIS.....	135
2.1. Ensaio de tratabilidade	15
2.2. Metodologias.....	15
2.2.1. Metodologias analíticas utilizadas na caracterização físico-química e biológica das águas utilizadas na irrigação e das águas de percolação.	15
2.2.2. Metodologias aplicadas às plantas	17
2.2.3. Metodologias aplicadas aos solos.....	18
3. RESULTADOS E SUA DISCUSSÃO	21
3.1. Caracterização da água residual.....	21
3.2. Caracterização das águas de percolação	21
3.3. Caracterização da Biomassa.....	27
3.3.1. Parâmetros Morfológicos e de Produtividade	27
3.3.1.1. Altura do Caule.....	27
3.3.1.2. Índice da área foliar	29
3.3.1.3. Número de folhas por planta	30
3.3.1.4. Produtividade.....	31
3.3.2. Caracterização Química da Biomassa	34

3.3.2.1. Teor de cinzas	34
3.3.2.2. Teor de azoto.....	39
3.3.2.3. Teor de fósforo	44
3.3.2.4. Metais.....	50
3.3.2.5. Fibra Total.....	60
3.4. Caracterização do Solo	62
3.4.1 Parâmetros físico-químicos.....	62
3.4.2 Metais.....	64
CONCLUSÕES	67
BIBLIOGRAFIA.....	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - <i>Miscanthus x giganteus</i>	2
Figura 1.2 - <i>Miscanthus sinensis</i>	3
Figura 1.3 - <i>Miscanthus floridulus</i>	4
Figura 1.4 - Fluxograma da produção de <i>Miscanthus</i>	7
Figura 1.5 - Diversas formas de valorização termoquímicas de <i>Miscanthus</i>	9
Figura 1.6 - Várias utilizações do <i>Miscanthus</i>	9
Figura 2.1 - Esquema da disposição dos ensaios.....	15
Figura 3.1 - Teor de Zinco nas águas percoladas (mg Zn/dm ³).....	25
Figura 3.2 - Percentagem de remoção de Zinco das águas percoladas (%).....	25
Figura 3.3 - Teor de Cobre nas águas percoladas (mg Cu/dm ³).....	26
Figura 3.4 - Percentagem de remoção de Cobre das águas percoladas (%).....	27
Figura 3.5 - Altura dos caules de <i>Miscanthus</i> (cm) para os diferentes tipos de irrigação.....	28
Figura 3.6 - Diâmetro dos caules de <i>Miscanthus</i> (cm) para os diferentes tipos de irrigação.....	29
Figura 3.7 - Índice da área foliar médio (cm ² cm ⁻²) para os diferentes tipos de irrigação.....	30
Figura 3.8 - Número médio de folhas por planta para os diferentes tipos de irrigação.....	31
Figura 3.9 - Produtividade média de caules para os diferentes tipos de irrigação.....	32
Figura 3.10 - Produtividade média de folhas para os diferentes tipos de irrigação.....	32
Figura 3.11 - Produtividade Total média de <i>Miscanthus</i> para os diferentes tipos de irrigação.....	33
Figura 3.12 - Teor médio de cinzas de caules <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	35
Figura 3.13 - Teor médio de cinzas de folhas <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	36
Figura 3.14 - Teor médio de cinzas de espiguetas <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	37
Figura 3.15 - Teor médio de cinzas de Manta Morta <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	38
Figura 3.16 - Teor médio de azoto de caules de <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	40
Figura 3.17 - Teor médio de azoto de folhas de <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	41
Figura 3.18 - Teor médio de azoto de espiguetas de <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	42
Figura 3.19 - Teor médio de azoto de manta morta de <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	43
Figura 3.20 - Teor médio de azoto de Biomassa não <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	44

Figura 3.21 - Teor médio de fósforo nos caules (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	45
Figura 3.22 - Teor médio de fósforo nas folhas (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	46
Figura 3.23 - Teor médio de fósforo nas espiguetas (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	47
Figura 3.24 - Teor médio de fósforo na manta morta (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	48
Figura 3.25 - Teor médio de fósforo na biomassa não <i>Miscanthus</i> (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	49
Figura 3.26 - Teor médio de Zinco nos caules de <i>Miscanthus</i> (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	51
Figura 3.27 - Teor médio de Zinco nas folhas de <i>Miscanthus</i> (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	52
Figura 3.28 - Teor médio de Zinco nas espiguetas de <i>Miscanthus</i> (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	53
Figura 3.29 - Teor médio de Zinco na manta morta de <i>Miscanthus</i> (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	54
Figura 3.30 - Teor médio de Zinco na biomassa não <i>Miscanthus</i> (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	55
Figura 3.31 - Teor médio de cobre nos caules de <i>Miscanthus</i> (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	56
Figura 3.32 - Teor médio de cobre nas folhas de <i>Miscanthus</i> (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	57
Figura 3.33 - Teor médio de cobre na espiguetas de <i>Miscanthus</i> (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	58
Figura 3.34 - Teor médio de cobre na manta morta de <i>Miscanthus</i> (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.....	59
Figura 3.35 - Percentagem de fibra total para cada genótipo em estudo.....	61
Figura 3.36 - Teor médio de Zinco no solo (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes genótipos.....	65
Figura 3.37 - Teor médio de Cobre no solo (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes genótipos.....	66

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1- Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química das águas de irrigação e dos percolados.....	16
Tabela 2.2 - Métodos analíticos utilizados na caracterização biológica das águas de percolação.....	17
Tabela 2.3 – Métodos analíticos utilizados na caracterização química da biomassa.....	18
Tabela 2.4 – Métodos analíticos utilizados na caracterização química da biomassa.....	19
Tabela 3.1 - Parâmetros físico-químicos da água de torneira e da água residual.....	21
Tabela 3.2 - Parâmetros físico-químicos das águas de percolação.....	22
Tabela 3.3 – Resultados do ensaio de ecotoxicidade, teste Microtox, para as águas residuais contaminadas por zinco e cobre, bem como para os percolados.....	24
Tabela 3.4 - Teor de Zinco nas águas de percolação (mg,dm ³).....	25
Tabela 3.5 – Teor de Cobre nas águas percoladas (mg,dm ³).....	26
Tabela 3.6 - Altura média dos caules (cm).....	27
Tabela 3.7 - Diâmetro médio dos caules (mm).....	28
Tabela 3.8 - Índice de área foliar médio (cm ² /cm ²).....	29
Tabela 3.9 - Número médio de folhas.....	30
Tabela 3.10 - Produtividade Média total de <i>Miscanthus</i> para os diferentes tipos de irrigação (g.m ⁻² , matéria seca).....	33
Tabela 3.11 – Produtividade média de biomassa não <i>Miscanthus</i> para os diferentes tipos de irrigação (g.m ⁻² ,matéria seca).....	34
Tabela 3.12 - Teor de cinzas nos caules (% , matéria seca).....	34
Tabela 3.13 - Teor de cinzas das folhas (% , matéria seca).....	35
Tabela 3.14 - Teor de cinzas da espiguetas (% , matéria seca).....	36
Tabela 3.15- Teor de cinzas da Manta Morta (% , matéria seca).....	37
Tabela 3.16 - Teor de cinzas da biomassa não <i>Miscanthus</i> (% , matéria seca).....	38
Tabela 3.17 - Teor de Azoto nos caules (% ,N,ms).....	39
Tabela 3.18 - Teor de Azoto nas folhas (% ,N,ms).....	40
Tabela 3.19 - Teor de Azoto na Espiguetas (% ,N,ms).....	41
Tabela 3.20 - Teor de Azoto na Manta Morta (% ,N,ms).....	42
Tabela 3.21 - Teor de Azoto na biomassa não <i>Miscanthus</i> (% ,N,ms).....	43
Tabela 3.22 - Teor de fósforo nos caules (% P , ms).....	45
Tabela 3.23 - Teor de fósforo nas folhas (% P , ms).....	46
Tabela 3.24 - Teor de fósforo na Espiguetas (% P , ms).....	47
Tabela 3.25 - Teor de fósforo na Manta Morta (% P , ms).....	48
Tabela 3.26 - Teor de fósforo na biomassa não <i>Miscanthus</i> (% P , ms).....	49
Tabela 3.27- Teor de zinco nos caules (mg Zn, kg ⁻¹ ms).....	50
Tabela 3.28 - Teor de zinco nas folhas (mg Zn, kg ⁻¹ ms).....	51
Tabela 3.29 - Teor de zinco na espiguetas (mg Zn, kg ⁻¹ ms).....	52

Tabela 3.30 - Teor de zinco na Manta morta (mg Zn, kg ⁻¹ ms).....	53
Tabela 3.31 - Teor de zinco na biomassa não <i>Miscanthus</i> (mg Zn, kg ⁻¹ ms).....	54
Tabela 3.32 - Teor de cobre nos caules (mg Cu, kg ⁻¹ ms).....	56
Tabela 3.33 - Teor de cobre nas folhas (mg Cu, kg ⁻¹ ms).....	57
Tabela 3.34 - Teor de cobre na espiguetta (mg Cu, kg ⁻¹ ms).....	58
Tabela 3.35 - Teor de cobre na manta morta (mg Cu, kg ⁻¹ ms).....	59
Tabela 3.36 - Teor de cobre na biomassa não <i>Miscanthus</i> (mg Cu, kg ⁻¹ ms).....	60
Tabela 3.37 - Teor de fibra e seus constituintes para cada genótipo para os diferentes tipos de irrigação (% , matéria seca).....	61
Tabela 3.38 - Parâmetros físico-químicos do solo 0-20 cm.....	62
Tabela 3.39 - Parâmetros físico-químicos do solo 20-40 cm.....	63
Tabela 3.40 – Teor de Zinco no solo (mg Zn, kg ⁻¹ ms).....	64
Tabela 3.41 – Teor de Cobre no solo (mg Cu, kg ⁻¹ ms).....	65

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Miscanthus* spp

O *Miscanthus* tem a sua origem na Ásia Oriental e foi uma cultura introduzida na Europa, na década de 1930, vinda do Japão, como planta ornamental (Cadoux *et al.*, 2012). É uma cultura perene rica em fibras de lenhina e de lenhocolulose, com um sistema fotossintético em C4, com uma produtividade elevada e requisitos mínimos de fertilização (Cadoux *et al.*, 2012; El Bassam, 2010). Entre todas as 23 espécies deste género existem 3 espécies, *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* e *M. x giganteus*, que são de grande importância para fins energéticos (El Bassam, 2010). O seu uso como um material biológico renovável tem vindo a ser estudado e testado como fonte de energia sustentável, com a possibilidade de substituição dos combustíveis fósseis e, também, a possibilidade de contribuir para a redução das emissões de gases com efeito de estufa (Cadoux *et al.*, 2012). A utilização de *Miscanthus* como fonte de energia renovável pode assim ser uma solução sustentável, atendendo às políticas de energia e clima, especialmente se cultivado em solos degradados para minimizar a concorrência com as culturas alimentares (Cadoux *et al.*, 2012). Na Europa, o cultivo de *Miscanthus* e variedades melhoradas tem sido investigado para dar respostas, tais como a viabilidade do estabelecimento das plantas, as necessidades em nutrientes, água e pesticidas e o desenvolvimento e produção de biomassa. O período de cultivo que se supõe ser mais do que 20 anos pode ser dividido em duas fases. A primeira fase é caracterizada por um aumento da biomassa de ano para ano e constante desenvolvimento do sistema de armazenamento abaixo do solo (rizomas e raízes). Esta fase dura entre 3 e 5 anos, dependendo, por exemplo, do local, das condições climáticas e do relevo. Na fase seguinte, a cultura encontra-se estabelecida em campo, atingindo a sua maturação, sendo a biomassa colhida regularmente no Inverno, princípio da Primavera do ano seguinte (dependendo do local). Nessa data da colheita uma quantidade elevada de matéria seca é obtida, que pode ser utilizada, por exemplo, para combustão e produção de energia (Kahle *et al.*, 2001).

1.1.1. Biologia, morfologia

1.1.1.1 *Miscanthus x giganteus*

O *Miscanthus x giganteus* Greef et Deuter (fig. 1.1) é um híbrido resultante do cruzamento entre os diploide *M. sinensis* e o tetraploide *M. sacchariflorus*. É uma planta triploide perene, com rizomas grossos e robustos. Oferece uma boa produção de biomassa mas, no entanto, a sua produção está limitada pelos fatores genéticos e pela propagação vegetativa pois não forma sementes férteis. A sua propagação é realizada por meio de micro propagação ou por corte de rizoma (Lewandowski e Heinz, 2003). O tempo de floração é entre agosto e novembro. O *M. x giganteus* possui hastes eretas de baixo diâmetro mas bastante fortes, geralmente não ramificadas, que no

primeiro ano pode atingir uma altura de 2 metros e, nos anos seguintes, pode chegar até aos 4 metros de altura. A altura mais baixa no primeiro ano deve-se ao facto de a planta utilizar grande parte da energia para estabelecer a raiz e o seu grande sistema radicular. As raízes penetram a mais de um metro abaixo do solo, transformando-se num sistema de armazenamento, da planta, bastante ramificado. Apesar de grande parte do crescimento subterrâneo ocorrer no primeiro ano, a planta só atinge a maturidade depois de 2 a 3 anos (El Bassam, 2010). Possui uma produtividade elevada, com baixos requisitos de fertilização e a longo prazo com baixos requisitos mecânicos para o manejo durante o ciclo de vida. Acredita-se que as plantações devem permanecer 15 anos ou mais em campo, de modo a tornar a cultura economicamente viável. Mas, enquanto as necessidades de nutrientes da cultura são geralmente consideradas baixas, as necessidades exatas da cultura ainda não estão definidas. Em particular, os requisitos de azoto não são completamente compreendidos e existe um conflito aparente entre os resultados de alguns estudos. Esta situação limita a precisão das avaliações globais, tais cálculos de mitigação de GEE, por causa das elevadas implicações possíveis no ciclo de vida de 15 anos. A exigência de azoto é uma questão particularmente importante, uma vez que o processo de produção de fertilizantes azotados e as perdas após a sua aplicação (N_2O gasoso e lixiviação de NO_3) têm impactos ambientais locais e globais e implicações significativas para os saldos de GEE (Cadoux *et al.*, 2012).



Figura 1.1 - *Miscanthus x giganteus*. (www.biogreentech.com, 23 de março de 2013)

1.1.1.2. *Miscanthus sinensis*

Miscanthus sinensis foi introduzido na Europa a partir da China e do Japão como planta ornamental durante a década de 1930. *M. sinensis* é uma gramínea perene que cresce em encostas e margens de campos em regiões de clima temperado, com rizomas curtos. Podem chegar aos 3,3 metros de altura com diâmetro entre 3 a 7 mm. Produz sementes com tempo de floração e maturação das mesmas entre julho a dezembro. Esta espécie é amplamente distribuída na Ásia Oriental. Às vezes é confundida com *M. floridulus*, porque há frequentemente formas de transição entre *M.*

sinensis e *M. floridulus*, talvez resultante de cruzamento natural (El Bassam, 2010). *M. sinensis* é normalmente cultivada para a produção de energia por causa de seu rápido crescimento, alto rendimento e poucas exigências quanto ao solo e cultivo na Europa. *M. sinensis* (figura 1.2) produz entre 20 e 26 toneladas secas por hectare, dependendo das condições do solo. As investigações mostraram que *M. sinensis* é uma fonte promissora de celulose na região do Mediterrâneo. Tem demonstrado ser uma cultura bioenergética eficaz e uma fonte de papel de alta qualidade (Ye *et al.*, 2005).



Figura 1.2 - *Miscanthus sinensis*. (thymeafterthyme.com, 23 de março de 2013)

1.1.1.3. *Miscanthus floridulus*

Miscanthus floridulus é amplamente distribuído em baixas altitudes em Taiwan. Num estudo anterior, descobriu-se que a assimilação de carbono pela fotossíntese e a taxa de crescimento da planta foram significativamente reduzidos quando este cresceu exposto a baixas temperatura (15-10°C). Chou *et al.* (1991) também descobriram que *M. floridulus* não poderia sobreviver quando transplantado para um habitat a uma altitude de 2700 metros, concluindo assim que o crescimento e viabilidade desta espécie estão limitados pela temperatura. Estes resultados implicam que *M. floridulus* é sensível a temperaturas baixas. (Kao *et al.*, 1998). No entanto, nenhuma pesquisa foi feita em relação à biomassa, resistência a doenças e capacidade de adaptação a condições adversas para esta espécie nativa de *Miscanthus* (Huang *et al.*, 2011).

Miscanthus floridulus (figura 1.3) é uma planta perene robusta que cresce em regiões temperadas, subtropicais e tropicais, muitas vezes dominante no habitat, com rizomas grossos e curtos. Pode atingir entre 2,0 a 4,1 metros de altura e 8 a 10mm de diâmetro. O tempo de floração e o amadurecimento das sementes ocorre entre maio a outubro. *Miscanthus floridulus* é mais robusto que *Miscanthus sinensis* (El Bassam, 2010).



Figura 1.3 - *Miscanthus floridulus*. (kallima.sk, 23 de março de 2013)

1.1.2. Fatores edafo-climáticos

1.1.2.1. Hibernação, temperatura e tolerância a geadas

A capacidade de hibernação das plantas depende da tolerância ao frio dos seus rizomas. O *Miscanthus* é capaz de tolerar as ligeiras geadas da Primavera. A temperaturas abaixo de - 5 ° C, os rebentos e folhas em desenvolvimento são destruídos. A primeira ocorrência de geada representa o fim da estação de crescimento para o *Miscanthus*, a latitudes mais elevadas. A latitudes mais a Sul, típicas do clima Mediterrâneo, as plantas completam o crescimento em agosto-setembro, depois da florescência. É nessa época que a senescência das culturas é acelerada, os nutrientes são sequestrados pelos rizomas e a planta começa a secar. A temperatura, na estação de crescimento, tem um grande efeito sobre a produtividade do *Miscanthus*. Isto é porque o *Miscanthus* utiliza a via fotossintética C4, que é mais eficiente a elevadas temperaturas e intensidades de luz. Embora a cultura prefira climas mais quentes, tem sido mostrado que os *Miscanthus* podem ser cultivados com resultados favoráveis em toda a Europa. Nenhuma temperatura ótima de crescimento ou intervalo foi determinado, no entanto, as experiências têm mostrado uma forte interação entre o ambiente e os genótipos (Clifton-Brown *et al.*, 2001, Lewandowski e Heinz, 2003).

1.1.2.2. Água

De um modo geral, *M. sacchariflorus* prefere condições mais húmidas e é mais tolerante a inundações do que *M. sinensis*. O *M. × giganteus* está situado entre *M. sacchariflorus* e *M. sinensis* por causa das suas propriedades de híbrido. *M. floridulus* tem menos tolerância ao frio. Genótipos diferentes podem ter diferentes eficiências no uso da água. Verifica-se que genótipos sempre verdes contra genótipos de rápida senescência, utilizam mais eficientemente a água disponível e é provável que esta característica seja importante para reprodução de *Miscanthus* (Clifton-Brown *et al.*, 2002).

1.1.2.3. Solo

O *Miscanthus* não apresenta muitas exigências em termos de solo, um facto demonstrado pela sua capacidade para crescer em vários tipos. O *Miscanthus* é uma cultura com um sistema radicular extenso, com raízes que podem ir a mais de 1,0 metro de profundidade. Acredita-se que a textura do solo, cor e pH também pode afetar a taxa de crescimento do *Miscanthus*. A cor mais escura do solo e textura mais leve pode levar a uma mais rápida taxa de crescimento do *Miscanthus*. Estudos sugerem que o valor de pH ótimo para o cultivo de *Miscanthus* se situa no intervalo ente 5,5 e 7,5 (El Bassam, 2010).

1.1.3. Cultivo, colheita, produção

A produção de biomassa por *M. x giganteus* foi descrita como sendo dependente da disponibilidade da água no solo, da temperatura do ar e precipitação (Richter *et al.*, 2008), mas não há ainda consenso, em termos desta cultura, de exigência de fertilização azotada. De facto, muitos autores sugerem que a fertilização azotada não tem efeito sobre a produção de biomassa (Christian *et al.*, 2008; Clifton-Brown *et al.*, 2007; Danalatos *et al.*, 2007), enquanto outros relatam que a fertilização azotada é necessária para atingir a produção máxima de biomassa (Boehmel *et al.*, 2006; Cosentino *et al.*, 2007; Ercoli *et al.*, 1999). No entanto, é de comum acordo, que a exigência de azoto por *M. x giganteus*, para atingir rendimentos máximos de biomassa, é baixa em comparação com outras culturas (Lewandowski e Schmidt, 2006). Isto é devido principalmente ao ciclo do azoto dentro da cultura. Na primavera, parte das reservas de azoto no rizoma são transferidas para a parte superior da planta. Durante o outono e inverno, parte do azoto acumulado na parte superior é posteriormente transferido da parte aérea para os rizomas (Christian *et al.*, 2006).

Em climas temperados, o seu crescimento é limitado pela baixa temperatura. Na Europa, o crescimento começa em abril e continua até que é interrompido pela geada em novembro (a latitudes mais elevadas) ou após a florescência, em agosto-setembro, em latitudes mais reduzidas (Mediterrâneo). No inverno, as partes aéreas entram em senescência devido à geada e voltam a rebentar na primavera. Os nutrientes armazenados nos rizomas durante o inverno são mobilizados para a parte aérea no final de abril / início de maio, ou fevereiro/março (Sul da Europa), apoiando o rápido crescimento da planta. O *Miscanthus* tem um sistema radicular extenso que responde rapidamente à procura de nutrientes durante o crescimento na primavera, reduzindo assim o risco de lixiviação de nitratos. Os rizomas são plantados na primavera e a cultura pode ser colhida anualmente e até 15 anos após o seu estabelecimento. Embora o máximo de produção de matéria seca acima do solo seja atingido no fim do verão, a colheita pode ser adiada até fevereiro / março, quando a cultura tem a sua maior concentração de matéria seca. Na colheita, os caules são mecanicamente cortados perto do nível do solo. A via fotossintética C4 contribui para um uso eficiente da água e para um baixo teor de azoto na biomassa, tendo sido referido que o efeito da aplicação de azoto sobre o rendimento de biomassa não é significativo (Ercoli *et al.*, 1999).

No Sul da Europa, o *Miscanthus* é muitas vezes colhido no fim do inverno, princípio da primavera, quando a biomassa atinge um baixo teor de humidade, evitando custos adicionais na secagem da mesma. No entanto, durante o inverno, a cultura perde uma parte considerável da biomassa que pode ser recuperada se a colheita for realizada antes do inverno. Em relação às condições de crescimento, a otimização é conseguida com temperaturas amenas e chuvas fortes bem distribuídas ao longo do ano. Tendo em conta as suas exigências térmicas, em ambiente mediterrânico, o seu crescimento no verão, torna assim necessário o uso de água para irrigação (Cosentino *et al.*, 2007).

Como já foi dito, o *Miscanthus* possui via fotossintética em C4. Plantas com fotossíntese C4 possuem um melhor potencial de rendimento do que as plantas com a fotossíntese em C3 devido ao uso mais eficiente da radiação, água e azoto. Estas plantas exigem condições de temperatura mais elevadas do que as plantas em C3 para iniciar o seu crescimento na primavera. Experiências em ambiente controlado mostraram que *M. x giganteus* começa o crescimento quando as temperaturas do solo atingem 10-12 ° C. A temperatura limite para a expansão foliar das plantas varia entre 5 e 10 ° C, e existe uma considerável variação na resposta térmica da expansão das folhas de diferentes genótipos (Lewandowski *et al.*, 2000).

A eficiência do uso da água foi estimada a partir de várias experiências e pode variar de 80 a 340 g.g⁻¹ (massa de água por unidade de matéria seca, também equivalente a litros de água por kg de matéria seca) (Lewandowski *et al.*, 2000). Embora a seu uso eficiente de água seja maior do que a maioria das culturas em C3, o seu crescimento pode ser muitas vezes limitado pela água.

O rizoma desempenha um papel fundamental na economia de nutrientes dos *Miscanthus*. A utilização eficiente de azoto é principalmente imputável à translocação do azoto para a parte aérea na primavera e, em seguida, na re-translocação para os rizomas no final da estação de crescimento das plantas. Na primeira plantação, os rizomas podem ser superficiais e subdesenvolvidos e podem ser destruídos pelas condições de tempo frio e húmido do inverno. Para um bom estabelecimento da cultura de *Miscanthus* são necessários, pelo menos, dois períodos de crescimento antes que o crescimento ótimo da parte aérea possa ocorrer (Lewandowski *et al.*, 2000).

As principais vantagens agronómicas da produção de *Miscanthus* são os seus altos rendimentos, e sua baixa necessidade de fertilizantes e pesticidas. Testes têm mostrado que a biomassa *M. x giganteus* pode ser usada como combustível sólido, em materiais de construção e como fonte de celulose. As desvantagens principais incluem os custos de estabelecimento relativamente elevados e a sua estreita base genética (Lewandowski *et al.*, 2000).

A figura 1.4 resume o processo de produção de *Miscanthus*, desde a propagação até à sua utilização final.

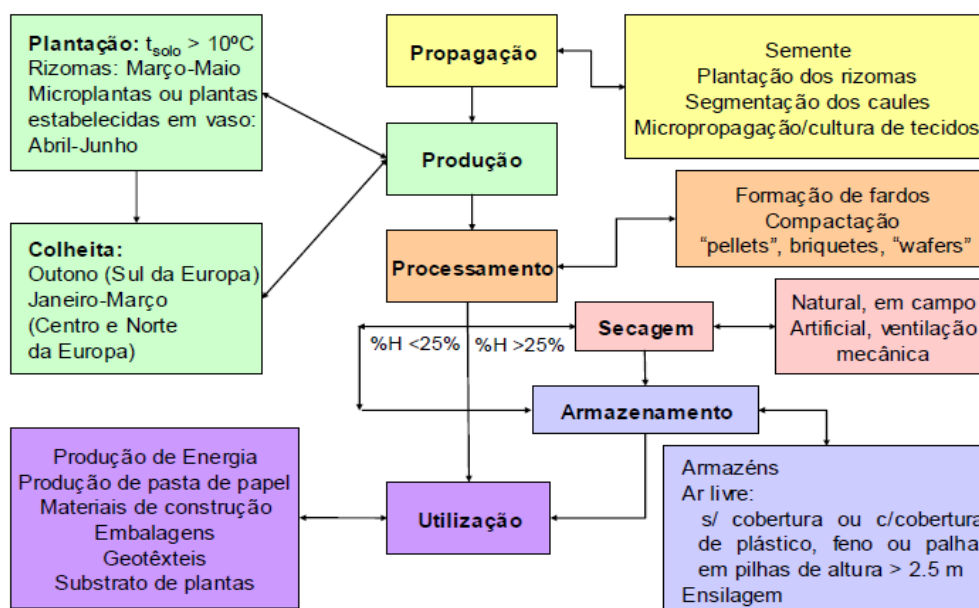


Figura 1.4 - Fluxograma da produção de *Miscanthus* (Fernando, 2005).

1.1.3.1. Produtividade

De acordo com Srtullu *et al.* (2011), a produtividade máxima de *Miscanthus* é atingida entre o terceiro e quarto ano de cultivo e encontra-se entre as 28- 30t.ha⁻¹.

De acordo com Ercoli *et al.*, (1999), o peso seco da biomassa referente aos caules e folhas de *Miscanthus*, é afetado pelo ano de colheita e pela interação entre irrigação e nível médio de azoto.

1.1.3.2. Fertilização

Pouca investigação foi ainda realizada nas exigências nutricionais de *Miscanthus* mas alguns cálculos foram efetuados com o objetivo de determinar a quantidade de nutrientes que têm de ser substituídos a fim de manter um equilíbrio adequado do solo. Devido aos baixos requisitos nutricionais de *Miscanthus* acredita-se que o solo e a atmosfera serão capazes de fornecer a maior parte dos nutrientes mas que a adição de azoto, fósforo e potássio pode, por vezes, ser necessária. A altura mais adequada para a aplicação de nutrientes é na primavera, entre a colheita e o novo ciclo de crescimento (El Bassam, 2010).

A remoção de azoto no momento da colheita é muito baixa e, portanto, o requisito de fertilizantes de azoto serão consideravelmente baixos. Portanto, é essencial ter em conta as reservas subterrâneas de biomassa e a disponibilidade de azoto no solo para determinar a necessidade de fertilizantes de azoto de *M. x giganteus* (Strullu *et al.*, 2011). O mesmo se aplica ao P e ao K. De acordo com Fernando (2005), 50kg N, 20kg P₂O₅ e 100kg de K₂O, ha⁻¹, são suficientes para garantir a manutenção sustentada de produtividades adequadas.

1.1.3.3. Irrigação

A água desempenha um grande papel no rendimento das culturas. Durante a época de crescimento das culturas, estima-se que 600 mm de precipitação são necessários para produzir rendimentos de matéria seca de 20t/ha. Um maior rendimento torna-se possível com a irrigação, sobretudo em países do Mediterrâneo, se a disponibilidade de água pela precipitação não atingir os valores necessários à cultura. Para o estabelecimento adequado no primeiro ano de crescimento de plantas jovens, pode ser necessária a irrigação, mesmo em países com elevada precipitação anual, como a Alemanha e a Dinamarca (El Bassam, 2010).

De acordo com Ercoli *et al.*, (1999), o efeito da irrigação na produção de biomassa depende da disponibilidade de azoto, isto é, na ausência de adubação azotada, o peso seco da biomassa não é afetado pela irrigação mas este aumenta com o aumento do nível médio de azoto disponível.

1.1.4. Breve abordagem às diversas utilizações/funções

O *Miscanthus x giganteus* produz rendimentos elevados de biomassa por hectare e foi identificado como uma potencial colheita de alto rendimento para bioenergia na Europa e nos EUA (Vanderghem *et al.*, 2011). É, atualmente, utilizado na produção de etanol, na combustão para produção de calor e eletricidade. Para tal efeito, é colhido no final do inverno para se beneficiar da melhor qualidade em relação aos processos de combustão, ou seja, conteúdo mineral e baixa humidade (Lewandowski e Heinz, 2003). O *Miscanthus* pode também ser utilizado na produção de celulose e de biocombustíveis de segunda geração. A produção de biocombustíveis de segunda geração tem por objetivo ampliar a capacidade de produção de biocombustíveis através da incorporação de biomassa residual de forma sustentável e sem subprodutos indesejáveis. A biomassa residual consiste em resíduos das culturas (como caules, folhas e cascas) e culturas não alimentares, entre outras, o *Miscanthus* (Bezergianni e Dimitriadis, 2013) (figura 1.5).

De acordo com Butler *et al.*, (2013), o *Miscanthus* pode vir a ser usado com matéria-prima para alimentar um reator de pirólise para produção de biocombustível. O elevado teor de cinzas que pode estar associado ao *Miscanthus* resulta num menor rendimento orgânico, mais água e, eventualmente, uma provável separação de fases do bio óleo produzido. Estas características podem levar a que o *Miscanthus* seja mais utilizado para aplicações combinadas de calor e energia ou coincineração em vez de produção de combustíveis através de pirólise (figura 1.5).

De acordo com Merta e Tschegg, (2013), o cimento armado com fibras naturais, utilizado para isolamento de paredes, poderia fornecer um material de construção amigo do ambiente e de baixo custo. O *Miscanthus* é utilizado como fibra de reforço do cimento, apresentando uma resistência à rutura entre 180 e 260 N/mm². Esta fibra apenas aumenta a energia de fratura em 5%, o que pode tornar o seu uso limitado.

A figura 1.6 mostra um conjunto de várias utilizações do *Miscanthus*.

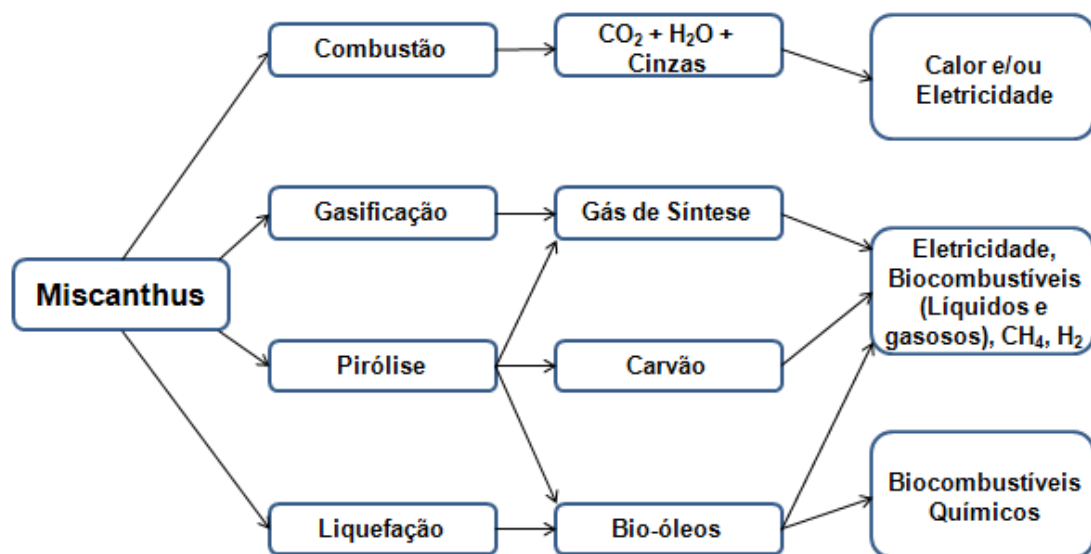


Figura 1.5 - Diversas formas de valorização termoquímicas de *Miscanthus* (Adaptado de Brosse et al., 2012).



Figura 1.6 - Várias utilizações do *Miscanthus* (Fernando, 2005).

1.2. Fitorremediação

O termo “fitorremediação” vem do grego *fito* (que significa planta) e do latim *remedium* (que significa para corrigir ou remover um mal). O conceito de fitorremediação foi sugerido por Chaney em 1983 (Ali et al., 2013).

A fitorremediação não é mais do que a utilização de plantas e microrganismos do solo para a redução de concentrações e efeitos tóxicos de poluentes ambientais. É um mecanismo eficiente,

rentável, ecológico e amigo de ambiente, que pode ser utilizado na remoção de metais pesados ou poluentes orgânicos, tais como, pesticidas ou hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. As plantas têm uma grande capacidade de absorção de poluentes do ambiente e realizam a sua depuração por vários mecanismos. A utilização de plantas na fitorremediação não afeta a utilidade e fertilidade do solo, podendo mesmo ajudar a melhorar a fertilidade do solo com as entradas de matéria orgânica e evitar a erosão e lixiviação de poluentes. A sua utilização é adequada em áreas extensas onde outros processos de remediação não são rentáveis ou praticáveis, tem alguns custos de manutenção, normalmente inferiores a 5% ao custo de outros métodos de remediação alternativos. A utilização de plantas de crescimento rápido, por exemplo o *Miscanthus*, na fitorremediação tem o benefício da valorização para a produção de energia (Ali *et al.*, 2013).

A fitoextração é um processo de absorção de contaminantes do solo ou da água, pelas raízes das plantas e sua posterior translocação para a biomassa vegetal. A translocação do poluente ou composto derivado é um processo bioquímico de extrema importância para uma fitoextração eficaz pois a colheita do sistema radicular da planta geralmente não é viável (Ali *et al.*, 2013)

A fitoextração é uma das técnicas de fitorremediação mais utilizadas na remoção de metais pesados de solos e águas contaminadas. A sua eficiência depende de fatores como as propriedades do solo, a biodisponibilidade dos metais pesados e as plantas utilizadas. As plantas utilizadas para fitoextração devem apresentar algumas características, tais como, uma alta taxa de crescimento, produção de biomassa acima do solo, um sistema radicular muito ramificado e bem distribuído, maior acumulação de metais pesados na biomassa aérea, translocação dos metais pesados acumulados pelas raízes, tolerância aos metais pesados em causa, boa adaptação às condições ambientais e climáticas vigentes, serem resistentes a pragas e doenças, serem de fácil cultivo, fácil colheita e não serem alimento de animais herbívoros de modo a não contaminar a cadeia alimentar (Ali *et al.*, 2013).

Apesar da fitorremediação ser um processo promissor de remoção de metais pesados em solos contaminados, apresenta algumas limitações tais como a biodisponibilidade dos contaminantes presentes no solo, o grau de contaminação do solo, pois as plantas não se desenvolvem em solos altamente poluídos, contaminação da cadeia alimentar, se ocorrerem falhas na gestão e manutenção das plantas (Ali *et al.*, 2013).

1.2.1. Fitorremediação de águas contaminadas com metais pesados

A fragilidade do nosso planeta e a limitação dos recursos disponíveis têm sido alvo de forte consciencialização. A exaustão da utilização dos recursos hídricos tem ocupado uma posição de destaque nestas discussões pois a disponibilidade de água para rega, nas regiões áridas, é cada vez menor devido ao intenso aproveitamento de águas subterrâneas provenientes de aquíferos (Beltrão *et al.*, 1995).

A rega na agricultura representa 70% do consumo da água a nível mundial, sendo o sector que mais água consome. Em Portugal, a agricultura representa 87,3% do consumo de água, cerca de 6550 milhões de metros cúbicos a que correspondem cerca de 524 milhões de euros. Facilmente se compreende que a reutilização de águas residuais para rega agrícola seja interessante em zonas

áridas e semi-áridas mas também em regiões menos pobres em recursos hídricos pois protege as massas hídricas pela redução parcial ou total de descargas de água residuais (Monte e Albuquerque, 2010).

As águas residuais utilizadas para rega devem preencher alguns requisitos, nomeadamente, agronómicos e de proteção da saúde pública. Os requisitos agronómicos centram-se principalmente em a rega satisfazer as necessidades hídricas da planta, podendo conter alguns nutrientes, azoto, fósforo, potássio, zinco, enxofre, boro, mas não transportando sais dissolvidos, metais pesados, cloro residual, tudo substâncias prejudiciais ao crescimento das plantas, e que podem contaminar os solos e as águas subterrâneas. Quanto aos requisitos de saúde pública, é exigido que o teor de microrganismos indicadores de contaminação fecal seja compatível com o tipo de exposição humana e animal à rega e aos produtos regados. É, portanto, fundamental que a água residual utilizada para rega preencha estes requisitos de qualidade (Monte e Albuquerque, 2010).

A exploração de culturas energéticas irrigadas com recurso a águas residuais poderá diminuir os impactos negativos do uso de combustíveis fósseis e, ao mesmo tempo, diminuir a utilização de recursos hídricos e contribuir para o tratamento de efluentes com carácter poluente, particularmente em ambientes com escassez de água, como a bacia do Mediterrâneo. A reutilização de águas residuais pode contribuir para potenciar o crescimento e produtividade das plantas como também para reduzir os custos de cultivo e ajudar a conservar fontes de água potável. As águas residuais são uma fonte de nutrientes para as plantas e matéria orgânica para manter os níveis de fertilidade e produção do solo. A sua utilização pode melhorar o crescimento e a produtividade das plantas, diminuir os custos económicos da produção devido à redução das necessidades em fertilizantes e, ao serem utilizadas águas residuais para rega, diminuir os custos de tratamento das mesmas (Zema *et al.*, 2012).

O uso a longo prazo de efluentes pode provocar alterações nas propriedades do solo, tais como, mudanças físicas e quantidade de matéria orgânica, nutrientes e sais disponíveis no mesmo, o que pode afetar a sustentabilidade do solo, acarretar riscos ambientais, entre outros. A acumulação de sais e as mudanças estruturais do solo são de grande importância pois podem provocar limitações ao desempenho do sistema. Os riscos derivados da acumulação de nutrientes no solo diferem em função das propriedades do solo mas, mesmo assim, é necessário implementar medidas de forma a eliminar esses riscos a fim de evitar a degradação dos solos e garantir a sustentabilidade ambiental (Tzanakakis *et al.*, 2011).

A fitorremediação pode ser aplicada para o tratamento de águas residuais ao mesmo tempo que contribui para o cultivo de culturas energéticas para produção de biomassa ou até para a produção de biocombustíveis.

Por exemplo, num estudo publicado por Pa'l Börjesson e Göran Berndes, o salgueiro pode ser utilizado como filtro para o tratamento de águas residuais, tornando-se bastante atraente do ponto de vista económico, energético e ambiental. Neste caso, os nutrientes ao serem reciclados e reutilizados tornam-se importantes para a produção de energia através da biomassa e utilizando águas que, de outra forma, seriam desperdiçadas. Apesar de todas as vantagens ainda existem algumas barreiras contra a sua implementação em larga escala devido em parte à falta de

conhecimento em relação ao risco de propagação de poluentes e à falta de harmonização de políticas agrícolas, energéticas e ambientais (Börjesson *et al.*, 2006).

A aplicação do processo de fitorremediação de águas residuais como fertilizante de culturas de curta rotação é um método que apresenta algumas vantagens ambientais e económicas pois os custos de fertilização são reduzidos e há um aumento da produção da biomassa. Apesar de este processo poder aumentar a quantidade de fósforo, a partir de águas residuais, a ocupação de terrenos agrícolas plantados com culturas de curta rotação aumentaria significativamente, levando a um aumento de energia renovável a partir da biomassa na Europa (Dimitriou e Rosenqvist, 2011).

1.3 Objetivos do estudo

A produção de culturas energéticas, como o *Miscanthus*, na bacia do mediterrâneo, para ser viável em termos de produtividade, necessita de rega no período do verão, de forma a evitar situações de stress hídrico (Fernando, 2005). De forma a reduzir a utilização de recursos hídricos de boa qualidade na bacia do Mediterrâneo, uma das hipóteses apontadas é a utilização de águas residuais na rega destas culturas dedicadas a energia (e biomateriais). Desta forma, as plantas podem desenvolver-se sem estarem sujeitas a situações de stress hídrico, há uma contribuição para a depuração do efluente em termos de alguns nutrientes ainda existentes nestas águas e que podem causar problemas ambientais quando descarregados (azoto amoniacal, nitratos, fosfatos, etc.). Por outro lado, a utilização de águas residuais pode contribuir para a redução da necessidade em fertilizantes, uma vez que podem fornecer ao solo alguns dos elementos reclamados pelas plantas no seu crescimento.

Desta forma, pretende-se com este trabalho, avaliar a resposta de uma cultura energética, o *Miscanthus*, aquando da utilização de um efluente de suinicultura tratado, enriquecido em zinco ou em cobre, para a sua rega. A resposta do *Miscanthus* a este tipo de irrigação será avaliada através da análise do crescimento e qualidade da biomassa, ao mesmo tempo que se estuda a capacidade de fitorremediação do sistema planta-solo.

Com efeito, sabe-se que o *Miscanthus* apresenta capacidade fitorremediadora para solos contaminados em metais pesados (Fernando, 2005; Wanat *et al.*, 2013) e para águas residuais. A utilização de *Miscanthus* para fitorremediação de águas residuais contaminadas com metais pesados não foi ainda desenvolvida, o que permite trilhar um novo caminho na investigação desta cultura energética no âmbito do melhoramento de um recurso natural tão escasso como é a água.

Sabe-se que os efluentes de suinicultura, brutos ou pré-tratados, ao serem descarregados para os cursos de água provocam a deterioração dos meios hídricos pois são muito ricos em azoto, fósforo e determinados metais pesados, como o zinco e o cobre. A utilização destes efluentes para rega de culturas pode ser de grande proveito, em zonas áridas e semi áridas, devido aos seus solos pobres em matéria orgânica e, conseqüentemente, pouco férteis. Esta forma de aproveitamento dos efluentes de suinicultura pode ser vantajosa porque através da utilização de um produto que pode ainda ter características poluentes, na descarga em meios hídricos, quando aplicado em solos pode fornecer nutrientes às plantas ao mesmo tempo que se melhora a qualidade dos solos aumentando o seu teor em matéria orgânica e diminuindo a necessidade de fertilizantes. Em termos de conteúdo nutricional, os efluentes são constituídos por matéria orgânica e por três macronutrientes principais, azoto, fósforo e potássio. O cobre e o zinco são os micronutrientes mais comuns pois são adicionados às rações dos porcos de engorda (Amaro *et al.*, 2006). No entanto, a aplicação destes efluentes nos solos, deve ser sempre analisada em termos de avaliação do risco associado, uma vez que o excesso de alguns elementos no solo podem contribuir para o aumento da salinidade do mesmo e para processos de toxicidade.

2. METODOLOGIAS E MATERIAIS

2.1. Ensaios de tratabilidade

Com estes ensaios pretendeu-se avaliar a capacidade de fitorremediação de *Miscanthus* para tratar efluentes contaminados com zinco e cobre, (10 mg Zn.dm^{-3} e 1 mg Cu.dm^{-3} , correspondente ao máximo permitido por Lei, Decreto-lei 236/98), ao mesmo tempo que se monitorizou a produtividade e a qualidade da biomassa. Para tal foram utilizados três genótipos de *Miscanthus*, (duas espécies, *Miscanthus sinensis* e *Miscanthus floridulus* e um híbrido, *Miscanthus x giganteus*).

Os ensaios foram monitorizados em vasos com um diâmetro de 0,28 M. Em cada vaso foram colocados 12 kg de solo obtido na área em redor do Edifício IX da FCT/UNL. Todos os vasos foram adubados com nitrolusal (3 g N/m^2), ureia (3 g N/m^2), sulfato de potássio ($17 \text{ g K}_2\text{O/m}^2$) e superfostato simples ($23 \text{ g de P}_2\text{O}_5 / \text{m}^2$), de acordo com o indicado por El Bassam (El Bassam, 2010). Foram utilizados os seguintes adubos comercializados pela empresa ADP – Adubos de Portugal S.A.:

- P – Superfostato simples, contendo 18% de P_2O_5
- K – Sulfato de potássio, contendo 51% de potássio (K_2O),
- N – Nitrolusal 26, uma mistura homogênea de nitrato de amónio e de carbonato de cálcio, contendo 27,0% de azoto (N) e 12,8% de cálcio (CaO); Ureia, contendo 46% de azoto (N).

Em abril de 2012 foram colocados dois rizomas em cada vaso de forma equidistante. Os rizomas foram fornecidos pela Universidade da Catânia (Itália). Em janeiro de 2013, as plantas foram colhidas e analisadas. As plantas foram irrigadas com águas residuais contaminadas com zinco e cobre com o objetivo de estudar a capacidade de fitorremediação de *Miscanthus* e a sua influência na produtividade da planta e na qualidade da sua biomassa. De forma a se ter um ensaio controlo, foram utilizados vasos com adubação NPK, que foram irrigados com água da rede. Todos os ensaios foram realizados em duplicado. A par dos vasos com plantas, foram utilizados vasos apenas com solo de forma a se avaliar a diferença entre o sistema biomassa-solo e solo *per si* (figura 2.1).

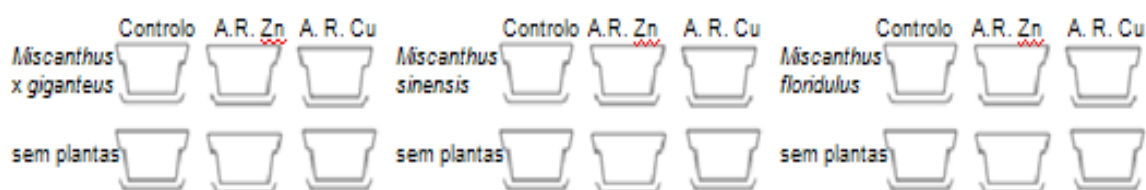


Figura 2.1 - Esquema da disposição dos ensaios.

2.2. Metodologias

2.2.1. Metodologias analíticas utilizadas na caracterização físico-química e biológica das águas utilizadas na irrigação e das águas de percolação.

A água da torneira do edifício Departamental do Campus FCT-UNL foi utilizada para irrigação dos vasos controlo.

As águas residuais tratadas utilizadas nos nossos ensaios, foram recolhidas numa suinicultura na região de Rio Maior e foram contaminadas com zinco ($10 \text{ mg/dm}^3 \text{ Zn}$) e cobre ($1 \text{ mg/dm}^3 \text{ Cu}$), sendo aplicadas nos vasos em regime de irrigação de 950 mm. A gama de concentrações escolhida apresenta os valores máximos admissíveis legislados pelo Decreto-Lei nº 236/98 Anexo XVI e XVIII (Decreto-lei nº 236/98, 1998).

A recolha dos percolados foi efetuada em Janeiro, em véspera de corte. Estas amostras foram recolhidas em frascos de plástico de 1000 ml. As amostras foram depois filtradas por filtros de membrana, com uma porosidade de $0,45 \mu\text{m}$. Muitas dessas amostras não foram analisadas de imediato, tendo sido conservadas segundo a norma ISO 5667-3 (1985).

Os métodos analíticos descritos nas tabelas 2.1 e 2.2 foram utilizados na caracterização das águas utilizadas na irrigação e das águas percoladas.

Tabela 2.1 - Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química das águas de irrigação e dos percolados.

Parâmetros	Métodos analíticos
pH	Eletrometria (APHA <i>et al.</i> , 1985).
Condutividade	Determinação efetuada com um condutivímetro (ISO 7888, 1985).
Sólidos Suspensos Totais (SST)	Filtração através da membrana filtrante de $0,45 \mu\text{m}$, secagem a 105°C e pesagem (APHA <i>et al.</i> , 1985).
Sólidos Totais	Evaporação, secagem a 105°C e pesagem (APHA <i>et al.</i> , 1985).
Fosfatos	Determinação dos fosfatos por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanabe e Olsen, 1965; ISO 6878-1, 1986).
Azoto amoniacal	Destilação, titulação do destilado com H_2SO_4 0.02N (ISO 5664, 1984).
Nitritos, Nitratos	Redução dos nitratos a nitritos, por contacto do extrato filtrado com pó de zinco (Palintest Ltd). Determinação dos nitritos por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado vermelho-púrpura, pela combinação do ácido sulfanílico diazotado com NED (ISO 6777, 1984; Jenkins <i>et al.</i> , 1996).
Oxidabilidade	Oxidação pelo permanganato de potássio a quente, em meio ácido, da matéria orgânica presente nas amostras. Determinação do permanganato consumido pela adição de excesso de oxalato, seguindo-se a titulação com permanganato (APHA <i>et al.</i> , 1985).
Zinco (Zn), Cobre (Cu)	Determinação dos metais dissolvidos, por espectrofotometria de absorção atómica. Cu, Zn através da norma ISO 8288 (1986), quando foi utilizada a chama.

Tabela 2.2 - Métodos analíticos utilizados na caracterização biológica das águas de percolação.

Parâmetros	Métodos analíticos
Carência bioquímica de oxigênio (CBO₅, 20°C).	Determinação de O ₂ dissolvido antes e após cinco dias de incubação a 20°C, ao abrigo da luz, com adição de um inibidor da nitrificação (APHA <i>et al.</i> , 1985).
Germes totais 22°C	Sementeira por incorporação de determinada quantidade da suspensão-mãe e das respectivas diluições decimais, em meio de cultura apropriado (meio Plate Count Agar). Incubação das placas semeadas, durante 68 ± 4 h à temperatura de 22 ± 2°C, em aerobiose. Cálculo do número de microrganismos por mililitro de percolado, a partir do número de colónias desenvolvidas nas placas selecionadas (EN ISO 6887-1; ISO 6222; ISO 8199; ISO/TC 11133-1; ISO/TC 11133-2; NP 1828; NP 1829; NP 2079)
Teste de Microtox	Para o ensaio de ecotoxicidade, os percolados foram testados para a toxicidade aguda utilizando o sistema Microtox®. Este sistema é um bioanalizador que utiliza bactérias luminescentes <i>Vibrio fischeri</i> NRRL B-11177 como organismo-teste (De Vetter <i>et al.</i> , 2008).

2.2.2. Metodologias aplicadas às plantas

A caracterização das plantas foi efetuada aplicando as metodologias descritas neste ponto. Foram também determinados os parâmetros biométricos, altura e diâmetro do caule, área foliar, número de folhas, a composição química e a produtividade da biomassa superior. Os parâmetros biométricos foram determinados após a colheita das plantas.

A altura dos caules foi medida utilizando uma fita métrica, desde a base (cortada ao nível do solo no vaso) até ao ápice (topo do caule). A área foliar foi determinada num medidor de área foliar Li-3100C Area Meter da marca LI-COR Biosciences. O índice de área foliar (cm².cm⁻²) foi calculado com base na expressão seguinte:

$$\text{Índice de Área Foliar} = \frac{\Sigma \text{Área Foliar por vaso}}{\text{Área do vaso}}$$

em que a área do vaso a considerar é de 0,0615 m².

A produtividade da biomassa superior foi determinada, após a colheita, através da sua pesagem. A biomassa aérea foi subdividida em folhas, caule, espiguetas e manta morta. As amostras foram pesadas para a obtenção do peso húmido e posteriormente secas a 70°C durante 24 h, numa estufa de vácuo, para se determinar o peso seco. Depois deste procedimento, as amostras foram cortadas e guardadas em sacos de plástico devidamente etiquetados e armazenados num local seco e fresco até o seu conteúdo ser estudado.

Através da equação seguinte calcularam-se as produtividades, expressos em g.m^{-2} , para as diferentes componentes (folhas, caule, espiguetas e manta morta):

$$\text{Produtividade} = \frac{\text{Peso seco da componente da planta (g)}}{\text{Área do vaso (m}^2\text{)}}$$

A produtividade aérea global foi obtida através da adição das produtividades determinadas para o caule, para as folhas, para as espiguetas e para a manta morta.

A caracterização química da biomassa foi efetuada com base nos métodos analíticos descritos na tabela 2.3

Tabela 2.3 - Métodos analíticos utilizados na caracterização química da biomassa.

Parâmetros	Métodos analíticos
Cinzas	Resíduo mineral obtido após incineração a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 3 h (AOAC, 1990).
Azoto total	Método Kjeldahl: Mineralização com H_2SO_4 , destilação e titulação do destilado com H_2SO_4 0.02N (Watts e Halliwell, 1996).
Fósforo	Digestão a quente com HNO_3 e H_2SO_4 (Watts e Halliwell, 1996). Determinação dos fosfatos no digerido, por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanabe e Olsen, 1965).
Fibra bruta	Método de Van Soest: Extração sequencial de hemiceluloses, celulose e lenhina, utilizando o detergente neutro, ácido e H_2SO_4 72% (Adrian <i>et al.</i> , 2000).
Zn, Cu	Mineralização das amostras por via seca (incineração em mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$) e dissolução das cinzas com ácido nítrico (Vandecasteele e Block, 1993). Determinação dos metais, nos extratos, por espectrofotometria de absorção atómica.

2.2.3 Metodologias aplicadas aos solos

As amostras de solo para análise foram colhidas a uma profundidade de 0-20cm para o perfil superior e de 20-40 cm para o perfil inferior. A recolha foi efetuada com a ajuda de uma espátula de

metal para frascos de plástico. As amostras foram depois secas na estufa a uma temperatura de 75°C e armazenadas em frascos de plástico até serem analisadas (Dyckhoff *et al.*, 1996).

A determinação do pH, da condutividade e do teor em humidade foram realizadas nas amostras húmidas.

O teor em humidade foi calculado e tomado em consideração nas determinações e cálculos que, posteriormente, foram realizados naqueles solos.

Tabela 2.4 - Métodos analíticos utilizados na caracterização química da biomassa.

Parâmetros	Métodos
Humidade	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (4h), repetida até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (NP 84, 1965).
Carbono orgânico	Método Walkley-Black (Walkley e Black, 1934).
pH	Determinação efetuada por potenciometria com eléctrodo de vidro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de $1/2.5$ (Baize, 2000).
Condutividade	Determinação efetuada com um condutímetro, numa suspensão de terra em água destilada, na razão de $1/2.5$ (Baize, 2000).
Nitratos, Nitritos	Extração com KCl 1N, na razão L/S igual a 2.5 (Haigh e Dyckhoff, 1996). Redução dos nitratos a nitritos, por contacto do extrato filtrado com pó de zinco (Palintest Ltd). Os nitritos são determinados por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado vermelho-púrpura, pela combinação do ácido sulfanílico diazotado com NED (Jenkins <i>et al.</i> , 1996).
Azoto amoniacal	Extração com KCl 1N, na razão L/S igual a 2.5. Destilação do extrato, titulação do destilado com H_2SO_4 0.02N (Haigh e Dyckhoff, 1996).
Fósforo total	Digestão a quente com HNO_3 e H_2SO_4 . Determinação dos fosfatos no digerido (Watts e Halliwell, 1996).
Fosfatos extratáveis	Extração com NaHCO_3 0.5M, na razão L/S igual a 200 (Olsen <i>et al.</i> , 1954). Determinação dos fosfatos no extrato filtrado, por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanabe e Olsen, 1965).
Zn, Cu	Água-régia: digestão com água-régia de acordo com a Norma ISO 11466 (1995). Determinação dos metais, no digerido, por espectrofotometria de absorção atómica.

Utilizou-se o programa Microsoft Excel 2007 para a realização da análise de variância – ANOVA 2 entradas e o Teste T: duas amostras com variâncias desiguais, quando necessário, dos resultados obtidos, para os diferentes parâmetros.

Os equipamentos utilizados para as diferentes análises foram:

- * Para o pH - eléctrodo de vidro (CRISON microPH 2001);

- * Para a condutividade - condutivímetro (METTLER TOLEDO – InLab 730 Conductivity);
- * Para os nitritos e nitratos - espectrofotómetro de absorção molecular (Interface Photometer 7000) no comprimento de onda de 520 nm (nitritos) e 570 nm (nitratos);
- * Para o azoto - o destilador e digestor Kjeltac System 1002 Distilling Unit Tecator;
- * Para o fósforo - espectrofotómetro de absorção molecular (Shimadzu Spectrophotometer UV-120-11) a 880 nm;
- * Para o zinco e o cobre – espectrofotómetro de absorção atómica (SOLAAR Thermo Electron Corporation M Series) com chamas de acetileno/ar.

3. RESULTADOS E SUA DISCUSSÃO

3.1. Caracterização da água residual

Os parâmetros físico-químicos da água residual e da água da torneira (controlo) utilizadas para irrigação do ensaio encontram-se na tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Parâmetros físico-químicos da água de torneira e da água residual.

	Água residual	Água da torneira
pH	6,97± 0,00	6,32 ± 0,00
Condutividade (mS/cm)	0,565± 0,006	0,445 ± 0,000
Oxidabilidade (mg/L O ₂)	17,7 ± 0,8	0,08 ± 0,08
Azoto amoniacal (mg/L N)	27,7 ± 0,3	<0,14
Fosfatos (mg/L P)	0,349 ± 0,001	0,042 ± 0,002
Nitritos (mg/L N)	0,008± 0,001	0,030± 0,003
Nitratos (mg/L N)	2,50± 0,03	5,50± 0,08
Sólidos suspensos totais (SST) (mg/L)	38,0 ± 6,0	468 ± 4
Sólidos totais (ST) (mg/L)	468 ± 4	-

Em relação à água da torneira apenas há a referir que o valor de pH se encontra abaixo do legislado ($6,5 \leq \text{pH} \leq 9$). Os restantes parâmetros encontram-se de acordo com a legislação, Anexo VI, DL 236/98.

Em relação à água residual, todos os parâmetros se encontram de acordo com o Anexo XVI do DL 236/98, que legisla a qualidade das águas destinadas à rega. De acordo com o anexo XVIII do DL 236/98, referente aos valores limite de emissão na descarga de águas residuais, apenas o azoto amoniacal registou um valor superior ao valor limite de emissão (10 mg/L). Os restantes parâmetros encontram-se dentro do legislado.

Após este estudo, a água residual foi enriquecida em zinco / cobre consoante o ensaio de fitorremediação pretendido.

3.2. Caracterização das águas de percolação

Na tabela 3.2 apresentam-se os valores médios dos parâmetros obtidos na caracterização físico-química das águas de percolação para os vasos com e sem plantas, irrigados com água da torneira, controlo, e irrigados com água residual rica nos metais pesados, zinco (10 mg/dm³ Zn) e cobre (1 mg/dm³ Cu). Os valores apresentados nos vasos com plantas são referentes à média dos

resultados obtidos nos três genótipos pois não se verificaram diferenças de qualidade nas águas de percolação obtidas entre genótipos.

Tabela 3.2 - Parâmetros físico-químicos das águas de percolação.

Parâmetros		Controlo	AR Zn	AR Cu
pH	Com plantas	7,54±0,16	7,59±0,08	7,15±0,16
	Sem plantas	7,63±0,00	7,57±0,00	7,07±0,00
Condutividade (ms/cm)	Com plantas	0,78± 0,28	0,93±0,09	1,01±0,27
	Sem plantas	0,55±0,01	0,85±0,01	0,78±0,01
Nitritos (mg/L N)	Com plantas	[0,000-0,007]	0,17±0,03	0,14±0,08
	Sem plantas	0,02±0,01	0,14±0,01	0,05±0,01
Nitratos (mg/L N)	Com plantas	0,32±0,14	4,4±2,7	6,4±3,7
	Sem plantas	0,42±0,01	15,7±0,1	5,5±0,1
Ortofosfatos (mg/L P)	Com plantas	0,18±0,06	0,18±0,10	0,31±0,20
	Sem plantas	0,41±0,01	0,46±0,01	2,03±0,01
Oxidabilidade (mg/L O ₂)	Com plantas	1,2±0,8	10,1±1,8	6,7±1,8
	Sem plantas	4,1±0,1	13,6±0,1	8,8±0,1
Azoto Amoniacal (mg/L N)	Com plantas	<0,14	5,2±0,6	2,4±2,1
	Sem plantas	<0,14	7,8±0,1	10,9±0,1
CBO5 (mg/L O ₂)	Com plantas	3,3±2,9	10±5	6,7±2,9
	Sem plantas	10±5	15±5	10±5
Germes Totais (log UFC/ml)	Com plantas	4,3 ± 0,6	3,0±0,2	4,6±0,2
	Sem plantas	5,0 ± 0,1	4,2±0,1	5,1±0,1

No caso do pH não se verificaram diferenças significativas, o que poderá significar que o pH dos percolados não foi afetado pela presença ou não de *Miscanthus* nos vasos e pela rega com as águas residuais (AR's). Apenas na rega com o efluente enriquecido em Cu se verificou um ligeiro decréscimo observado nos pH's dos percolados.

Na condutividade constatou-se um ligeiro aumento nos vasos com plantas em comparação com os vasos sem plantas, o que pode querer dizer que houve uma maior lixiviação dos iões disponibilizados pela água residual, na presença das plantas. Tal pode dever-se à libertação de exsudados ácidos pelas raízes que ajudam a mobilizar os iões presentes nas águas residuais e solos.

No caso dos vasos com plantas, a condutividade do controlo é inferior à dos vasos irrigados com água residual, de forma lógica, uma vez que as águas residuais possuem teores mais elevados em matéria orgânica e inorgânica. Verificou-se ainda um aumento da condutividade dos percolados em relação às águas utilizadas para irrigação. Isto pode querer dizer que durante a irrigação poderá ter havido lixiviação de iões presentes no solo.

Em relação aos nitritos, não se verificam diferenças significativas entre os vasos com ou sem plantas. Por comparação com as águas utilizadas na irrigação, constatou-se que o valor de nitritos aumentou. Este aumento pode ter sido provocado pela lixiviação de compostos azotados presentes

no solo devido à sua fertilização (tabela 3.1 e 3.2). Verificou-se, igualmente, que a rega com AR's elevou os teores de nitritos nos percolados. Atendendo a que as AR's não apresentavam um valor em nitritos muito elevado, face à água da torneira, estes nitritos podem resultar de processos de redução dos nitratos presentes nas AR's ou de processos oxidativos do azoto amoniacal presente em elevada quantidade no efluente.

No caso do valor de nitratos, apenas se verificam diferenças significativas entre vasos com e sem plantas no caso dos vasos irrigados com água residual rica em zinco, cujos vasos com plantas registam um valor de nitratos inferior aos vasos sem plantas. Significa que neste caso, o crescimento da biomassa armadilhou os nitratos, quer os provenientes das águas de rega, quer os provenientes de processos de oxidação e mineralização de outras formas de azoto. Quando comparados os valores de nitratos das águas de percolação com as águas de irrigação, verificou-se que o valor de nitratos presente nas águas percoladas dos vasos controlo sofreu uma diminuição significativa em relação à água da torneira utilizada na irrigação, funcionando o solo como um meio retentor destes iões. No caso dos vasos irrigados com água residual verificou-se um aumento significativo entre as águas de rega e os percolados, sobretudo nos vasos sem plantas regados com AR's Zn (tabela 3.1 e 3.2). Neste processo, o aumento de nitratos deveu-se a processos de oxidação e de mineralização de outras formas presentes quer no solo quer nas águas de rega.

O fósforo, um macronutriente responsável pela eutrofização das águas mas também essencial ao desenvolvimento das plantas, pode ser encontrado nas águas residuais sob a forma de fosfatos, entre outras, sendo os fosfatos muito mobilizáveis do solo para as águas. O teor de ortofosfatos nas águas percoladas foi superior nos vasos sem plantas do que nos vasos com plantas, independentemente da água utilizada para irrigação dos mesmos. O *Miscanthus* mostrou uma propensão para absorver e reter o ião fosfato, o que de acordo com o que acima foi descrito, será um benefício do ponto de vista ambiental. Este teor de ortofosfatos é também superior ao valor de fósforo presente nas águas utilizadas para irrigação (vasos controlo e vasos sem plantas regados com AR's), o que pode ser devido à fertilização do solo, mas também à perda por percolação de fosfatos adsorvidos na matriz do solo ou mineralização de formas de fósforo presentes nas AR's e no solo. A rega com AR's enriquecidas em cobre originou percolados com teores mais elevados em fosfatos do que os vasos controlo ou os regados com AR's enriquecidas em Zn. Provavelmente porque este elemento poderá ter uma capacidade de troca com os fosfatos do solo superior à observada com o Zn e com o controlo.

A oxidabilidade e a CBO_5 foram inferiores nos vasos com plantas, identificando o papel da biomassa na remediação das AR's. Comparando a oxidabilidade das águas percoladas com as águas utilizadas na irrigação, verificou-se que, no caso do controlo, houve um aumento deste valor o que pode ter sido devido à percolação de componentes solúveis presentes no solo. Comparando a água residual e os percolados dos vasos irrigados com água residual rica em zinco ou em cobre, verificou-se uma diminuição da oxidabilidade nos percolados, mais acentuada nos vasos irrigados com água residual rica em cobre. Em termos de fitorremediação, esta tendência mostrou que, o sistema solo-planta, teve um maior efeito fitorremediador do que apenas o solo.

O azoto amoniacal não foi detetado nos vasos controlo e a água da torneira também não apresentava azoto amoniacal. No caso das águas de percolação dos vasos irrigados com água residual rica em zinco e cobre verificou-se uma remoção significativa nos vasos com plantas (tabela 3.1 e 3.2), superior à observada nos vasos sem plantas. O que pode significar que a planta reteve o azoto amoniacal através das suas raízes, tendo utilizado este nutriente. Este é um efeito benéfico pois limita a lixiviação deste componente poluente para os lençóis freáticos.

A presença de germes totais pode estar relacionada com a concentração de matéria orgânica disponível nas águas utilizadas para irrigação. É de notar que nos vasos com plantas se verificou uma menor presença de germes do que nos vasos sem plantas, mas sem significado, tendo-se observado que a rega com metais pesados não afetou, de forma significativa, o número de microrganismos totais viáveis. É de notar, no entanto, que na rega com AR's enriquecidas em Zn, se observou uma tendência para um número mais reduzido de microrganismos totais viáveis, por comparação com o controlo e com a rega com AR's enriquecidas em cobre, indicando que o teor de zinco experimentado pode ter afetado, devido à sua toxicidade, o desenvolvimento e crescimento microbiano.

A toxicidade das águas residuais utilizadas na irrigação e das águas percoladas foi analisada através do teste de Microtox. Na tabela 3.3 observam-se os resultados de toxicidade obtidos.

Tabela 3.3 - Resultados do ensaio de ecotoxicidade, teste de Microtox, para as águas residuais contaminadas por zinco e cobre, bem como para os percolados.

	EC ₅₀ (mg/L) aos 30 minutos	Unidades de toxicidade (UT's)
AR Zn (10mg.dm ⁻³)	8,41	12
AR Cu (1 mg.dm ⁻³)	100	1
Percolados	100	1

De acordo com os resultados apresentados na tabela 3.3 verificou-se que a água residual rica em zinco apresenta toxicidade, podendo mesmo ser considerada como tóxica (UT's 8-16) (De Vetter *et al.*, 2008). Como os lixiviados não apresentaram toxicidade, isto quer dizer que o sistema solo biomassa e o solo *per si* demonstraram capacidade de depurar o efluente e a sua toxicidade. A água residual rica em cobre e as suas águas percoladas não apresentaram toxicidade.

A análise dos teores em zinco e cobre das águas percoladas permite avaliar se ocorreu fitorremediação, por parte dos três genótipos de *Miscanthus* em estudo. Na tabela 3.4 e nas figuras 3.1 e 3.2 pode observar-se o comportamento do sistema planta-solo e o sistema solo em relação ao teor de zinco nas águas percoladas. De salientar que o teor mais elevado de zinco regista-se para o consórcio planta-solo (*M. x giganteus* e *M. sinensis*), irrigado com água residual rica em zinco. Este resultado indica que a presença de plantas no solo, com a emissão de exsudados ácidos para o meio, permite uma maior mobilização do Zn proveniente das águas residuais.

Tabela 3.4 – Teor de Zinco nas águas de percolação (mg/dm³).

	<i>M. x giganteus</i>	<i>M. sinensis</i>	<i>M. floridulus</i>	Solo
Controlo	<0,007	<0,007	<0,007	0,027 ± 0,015
AR Zn	1,18 ± 0,20	1,00 ± 0,20	0,45 ± 0,20	0,68 ± 0,20

Na análise das águas de percolação verificou-se que o teor de zinco é superior naquelas recolhidas de vasos onde a irrigação utilizada foi água residual rica em zinco, como esperado (figura 3.1).

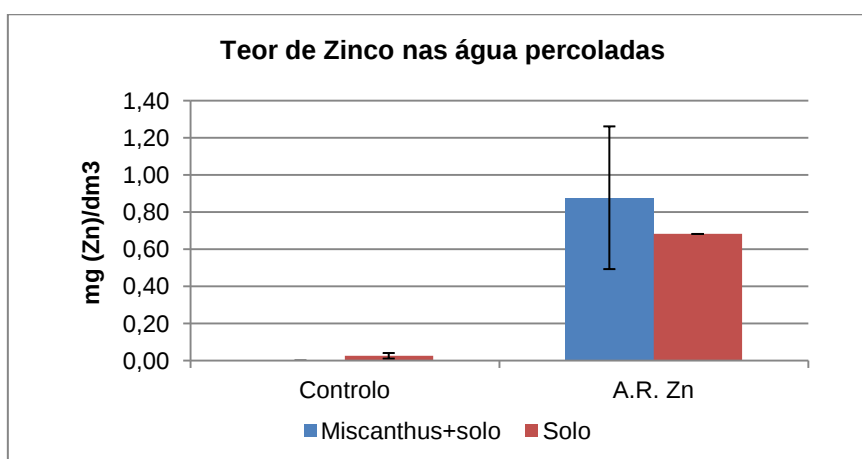


Figura 3.1 - Teor de Zinco nas águas de percolação (mg Zn/dm³).

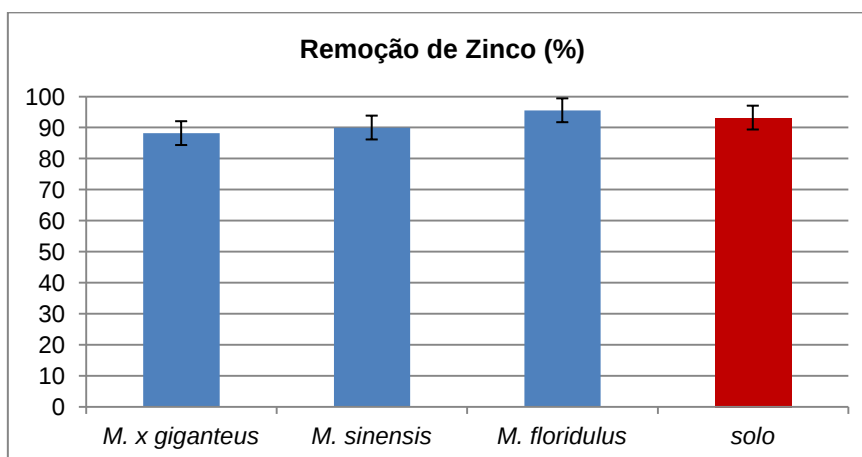


Figura 3.2 - Percentagem de remoção de Zinco das águas residuais pelo sistema planta-solo e sistema solo (%).

De acordo com os resultados obtidos para as águas percoladas observa-se que o *Miscanthus* atua como fitorremediador de zinco, isto é, entre 88% a 96% do zinco fornecido na irrigação foi removido pelo consórcio planta-solo, apesar de não se terem observado diferenças significativas entre o solo, o sistema planta-solo e os três genótipos de *Miscanthus* em estudo (Figura 3.2).

Convém referir que o *Miscanthus floridulus* é o genótipo que maior percentagem de remoção de zinco apresenta, apesar das diferenças entre genótipos não serem significativas (figura 3.2). À que referir também que nos vasos sem plantas irrigados com água residual rica em zinco, o solo é capaz de reter 93% do zinco fornecido.

Tabela 3.5 – Teor de Cobre nas águas de percolação (mg/dm³).

	<i>M. x giganteus</i>	<i>M. sinensis</i>	<i>M. floridulus</i>	Solo
Controlo	0,018 ± 0,001	0,020 ± 0,001	0,019 ± 0,001	0,012 ± 0,005
AR Cu	0,080 ± 0,013	0,088 ± 0,013	0,027 ± 0,013	0,215 ± 0,023

Na tabela 3.5 e nas figuras 3.3 e 3.4 observa-se o comportamento do sistema planta-solo e o sistema solo em relação ao teor de cobre nas águas percoladas.

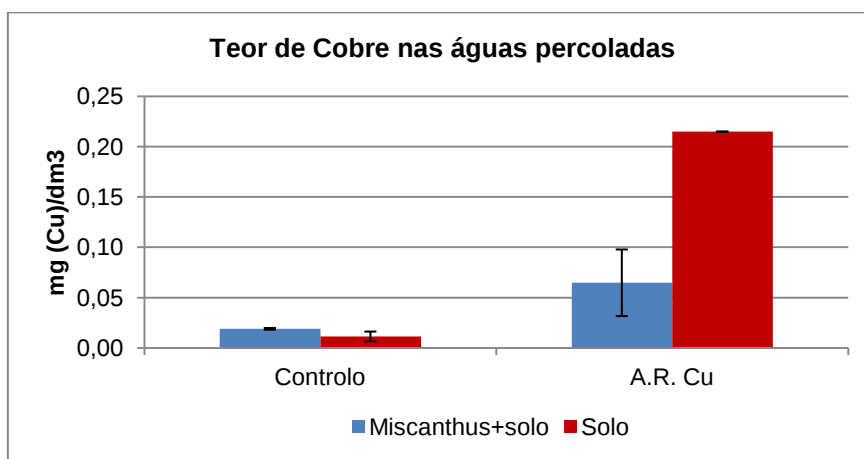


Figura 3.3 - Teor de Cobre nas águas percoladas (mg Cu/dm³).

De acordo com os resultados obtidos (figura 3.3), o teor em cobre é muito superior nas águas percoladas nos vasos sem plantas do que nos vasos com plantas, ambos irrigados com água residual rica em cobre. Neste caso, ao contrário do que foi observado no ensaio com AR's Zn, a presença das raízes teve um efeito retentor do ião cobre, indicando que o sistema solo-planta apresenta um efeito fitorremediador superior ao do sistema solo. As águas de percolação provenientes dos vasos regados com efluente enriquecido em cobre apresentaram um valor superior em cobre do que as águas de percolação obtidas no controlo, como esperado.

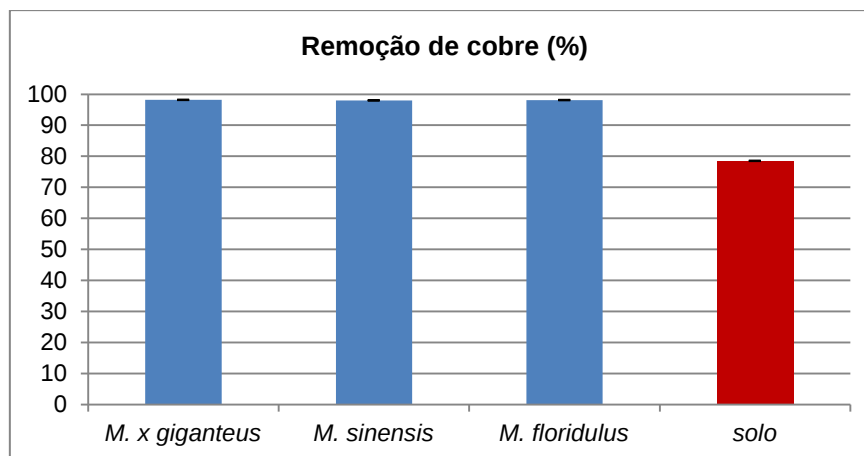


Figura 3.4 - Percentagem de remoção de Cobre das águas percoladas (%).

Em comparação com o teor de Cu da irrigação com água residual contaminada (1 mg Cu/dm^3), a percentagem de remoção foi significativa (79-98%), sendo mais pronunciada no sistema solo-biomassa. No caso do cobre, claramente, a ação de fitorremediação exercida pelas raízes e rizomas de *Miscanthus* juntamente com o solo, foi mais significativa do que a ação de fitorremediação do sistema solo (figura 3.4).

3.3. Caracterização da Biomassa

3.3.1. Parâmetros Morfológicos e de Produtividade

3.3.1.1. Altura do Caule

A altura da planta e o diâmetro do caule são duas das principais características que indicam o rendimento de biomassa.

No primeiro ano, o *Miscanthus* apresenta uma altura inferior aos anos seguintes pois grande parte da energia é usada para o desenvolvimento do seu extenso sistema radicular, que será parte importante no armazenamento de nutrientes durante a senescência da planta (El Bassam, 2010).

A tabela 3.6 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente à altura média dos caules.

Tabela 3.6 - Altura média dos caules (cm).

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	95 ± 32	82 ± 33	92 ± 29
<i>M. sinensis</i>	46 ± 35	73 ± 49	94 ± 6
<i>M. floridulus</i>	120 ± 39	77 ± 17	99 ± 31

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas na altura média dos caules entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,53$; ANOVA), nem entre os diferentes genótipos em

estudo (valor de $p = 0,22$; ANOVA). Contudo é de referir que é no genótipo *Miscanthus floridulus* controlo que se regista a altura mais elevada dos caules (120 ± 39). No *Miscanthus sinensis* registam-se as plantas mais baixas, também controlo (46 ± 35).

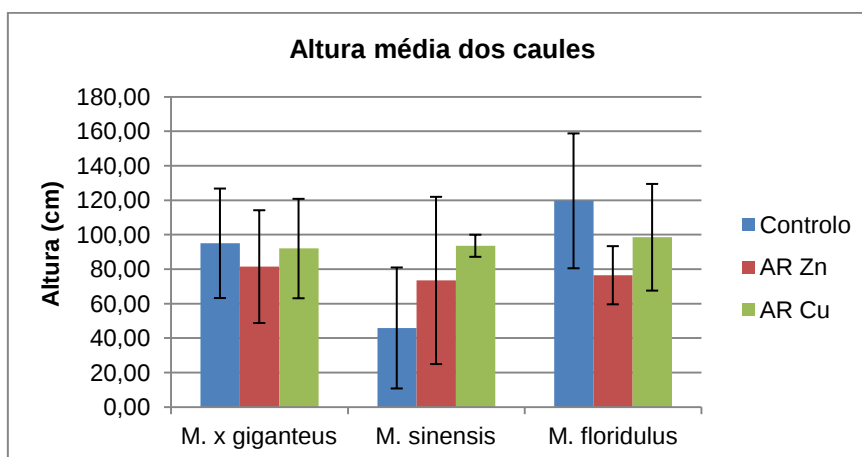


Figura 3.5 - Altura dos caules de *Miscanthus* (cm) para os diferentes tipos de irrigação.

De acordo com os resultados obtidos (figura 3.5, tabela 3.6) os diferentes tipos de irrigação não influenciam o crescimento dos três genótipos estudados, pelo que não se observa fitotoxicidade. De notar que apenas as plantas irrigadas com águas residuais do genótipo *Miscanthus sinensis*, apresentam caules mais altos que as plantas do ensaio controlo, porém sem diferenças significativas. As plantas mais altas do ensaio com uma altura média de 120 cm pertencem ao genótipo *Miscanthus floridulus* e foram irrigadas com água controlo. As plantas mais baixas do ensaio com 46 cm de altura média, pertencem ao genótipo *Miscanthus sinensis* e foram irrigadas com água controlo. De acordo com Zema (2012), as águas residuais contribuem para um maior crescimento da planta. O que se pode comprovar pela obtenção de plantas mais altas, apesar destas diferenças não serem significativas em relação ao controlo. Tal pode dever-se à grande carga orgânica das águas residuais, nomeadamente, em azoto. De acordo com Wanat (2013), o *Miscanthus x giganteus* tem uma elevada resistência à toxicidade de metais pesados pois pode ser cultivado em solos contaminados, com baixa carga orgânica e pH e, mesmo assim, desenvolver-se com sucesso, podendo ocorrer um decréscimo da parte aérea da planta.

A tabela 3.7 e a figura 3.6 apresentam os resultados obtidos no ensaio referente ao diâmetro médio dos caules.

Tabela 3.7 - Diâmetro médio dos caules (mm).

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	3,1 ± 1,1	3,6 ± 0,8	3,8 ± 0,6
<i>M. sinensis</i>	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,3	2,7 ± 0,3
<i>M. floridulus</i>	5,9 ± 1,6	4,5 ± 0,7	6,0 ± 1,6

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no diâmetro médio dos caules entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,26$; ANOVA) mas verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes genótipos (valor de $p = 1,78 \times 10^{-7}$; ANOVA) com o *Miscanthus x giganteus* com valores de diâmetro médio dos caules iguais ao *Miscanthus sinensis* e ambos superiores aos valores do *Miscanthus floridulus* (Teste T). Todavia é de referir que a planta com maior diâmetro é do genótipo *Miscanthus floridulus*, para o regime de irrigação com água residual rica em cobre ($6,0 \pm 1,6$); e o diâmetro mais pequeno é do genótipo *Miscanthus sinensis* controlo ($2,5 \pm 0,1$).

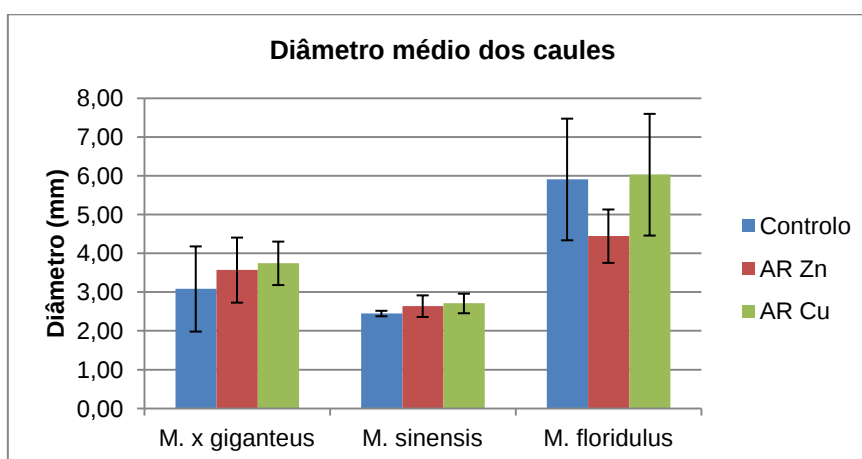


Figura 3.6 - Diâmetro dos caules de *Miscanthus* (mm) para os diferentes tipos de irrigação.

O diâmetro dos caules pode ser menor nas plantas irrigadas com águas residuais do que nas plantas controlo (Zema *et al.*, 2012). Neste ensaio o diâmetro dos caules não é influenciado pelo tipo de irrigação utilizado mas convém referir que o genótipo *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em zinco apresenta um diâmetro inferior ao das plantas irrigadas com água residual rica em cobre e com o ensaio controlo, como se pode ver na figura 3.6. Tanto para o *Miscanthus x giganteus* como para o *M. sinensis*, as plantas que apresentam um diâmetro maior são as irrigadas com água residual rica em cobre e as que apresentam diâmetro mais pequeno são as controlo.

3.3.1.2. Índice da área foliar

A tabela 3.8 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao Índice de área foliar médio.

Tabela 3.8 - Índice de área foliar médio (cm^2/cm^2).

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	$2,63 \pm 0,19$	$3,62 \pm 0,79$	$2,72 \pm 0,09$
<i>M. sinensis</i>	$0,24 \pm 0,04$	$0,69 \pm 0,10$	$0,47 \pm 0,13$
<i>M. floridulus</i>	$0,58 \pm 0,13$	$1,69 \pm 0,22$	$0,99 \pm 0,20$

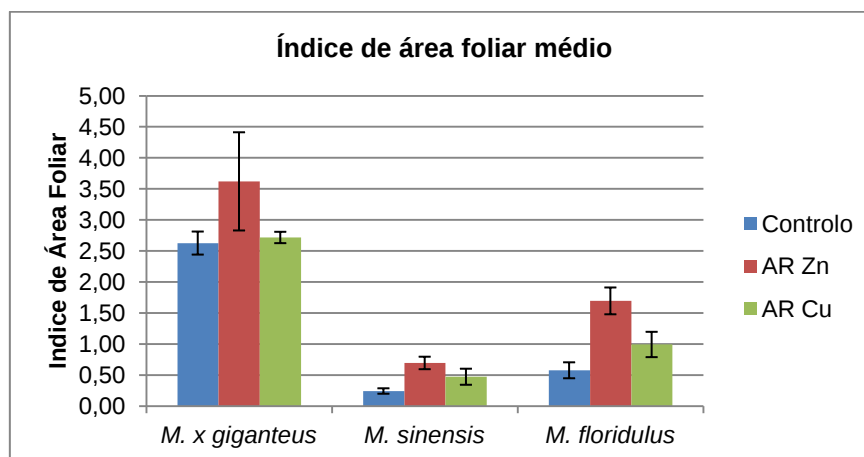


Figura 3.7 - Índice da área foliar médio (cm²cm⁻²) para os diferentes tipos de irrigação.

O índice de área foliar não apresentou diferenças significativas. Os três genótipos apresentam a mesma resposta aos diferentes tipos de irrigação, com o genótipo *Miscanthus x giganteus* a apresentar o maior índice de área foliar do ensaio. Apesar de o índice de área foliar não apresentar diferenças significativas, todos os genótipos respondem com um aumento de área foliar quando irrigados com águas residuais ricas em zinco e cobre em relação às plantas controlo, tal como observado por Zema (2012). Nos três genótipos estudados, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam maior índice de área foliar, como se pode ver na figura 3.7.

3.3.1.3. Número de folhas por planta

A tabela 3.9 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao número médio de folhas por planta.

Tabela 3.9 - Número médio de folhas por planta.

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	28 ± 16	46 ± 14	52 ± 22
<i>M. sinensis</i>	16 ± 6	51 ± 19	33 ± 6
<i>M. floridulus</i>	12 ± 6	27 ± 11	16 ± 2

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas para o número de folhas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,0008$; ANOVA), com valores de número de folhas por planta iguais entre as duas águas residuais e superiores ao controlo (Teste T). Observam-se diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,0004$, ANOVA), com valores de número de folhas por planta iguais entre o *Miscanthus x giganteus* e *Miscanthus sinensis* e com estes valores a serem superiores aos valores de *Miscanthus floridulus* (Teste T). No entanto, é de referir que a tipologia com mais folhas pertence ao genótipo *Miscanthus x giganteus*,

irrigada com água residual rica em cobre e o *Miscanthus floridulus* controle é a tipologia que apresenta menos folhas ($11,67 \pm 5,51$). O maior número de folhas por planta está diretamente relacionado com o maior número de afilamentos que foi observado no *Miscanthus x giganteus*.

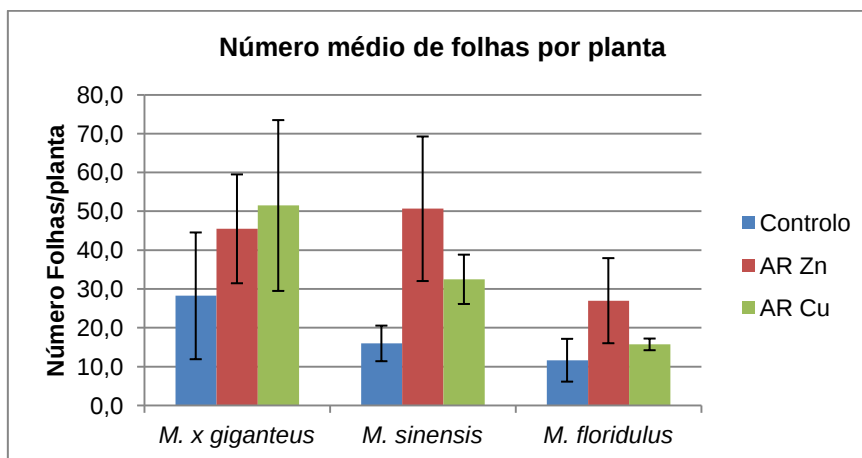


Figura 3.8 - Número médio de folhas por planta para os diferentes tipos de irrigação.

No caso do número de folhas por planta, este parâmetro não apresenta um comportamento uniforme entre genótipos. De notar que no genótipo *Miscanthus x giganteus* as plantas irrigadas com água residual rica em cobre são as que apresentaram mais folhas por planta enquanto nos outros dois genótipos em estudo, são as plantas irrigadas com água residual rica em zinco que apresentam o maior número de folhas por planta. Os três genótipos apresentam um aumento do número de folhas por planta naquelas irrigadas com águas residuais ricas em zinco e cobre em comparação com as plantas controlo (figura 3.8 e tabela 3.9). De acordo com Baum (2006), o aumento da produção da biomassa aérea está diretamente relacionado com o aumento da fitoextração de zinco e cobre.

3.3.1.4. Produtividade

No sul da Europa, quando a água não é um fator limitante, o *Miscanthus* apresenta uma das maiores produtividades de colheita (El Bassam, 2010). A produção máxima de biomassa acima do solo é atingida no final do verão (Lewandowski *et al.*, 2000). Embora a colheita tardia diminua a produção de biomassa, esta deve ser realizada em fevereiro/março, quando a concentração de matéria seca é máxima e a maior parte dos nutrientes já se encontram armazenados nos rizomas (El Bassam, 2010). Isso pode ser importante, por exemplo, quando o *Miscanthus* é utilizado para a produção de energia por combustão, onde é necessária a secagem do material vegetal antes do processamento (Lewandowski *et al.*, 2000).

A produtividade, em termos de caules, dos genótipos em estudo é afetada pelas águas residuais ricas em metais pesados utilizadas na irrigação, embora sem significado estatístico, exceto no genótipo *Miscanthus sinensis*, onde as plantas irrigadas com essas águas apresentam uma maior produtividade em relação às plantas controlo. A figura 3.9 demonstra esses resultados. O genótipo que apresentou uma maior produção de caules foi o *M. floridulus*.

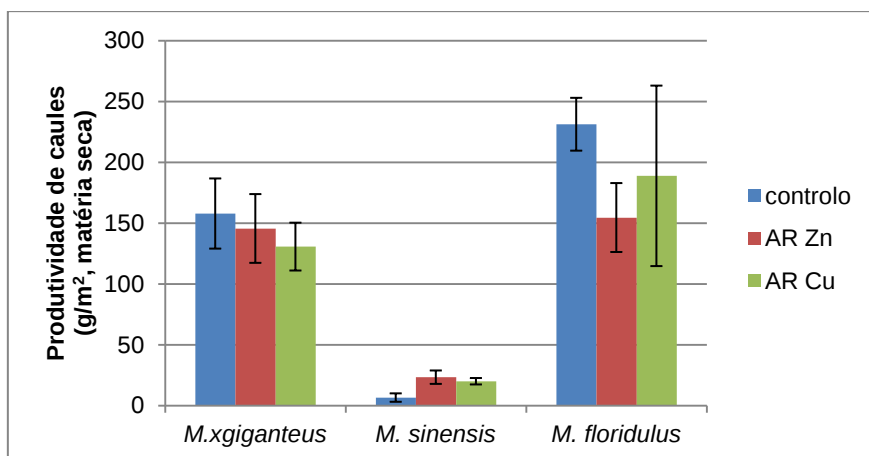


Figura 3.9 - Produtividade média de caules para os diferentes tipos de irrigação (g.m^{-2} , matéria seca)

No caso das folhas, o genótipo *Miscanthus x giganteus* é o que apresenta maior produtividade. Neste caso, e ao contrário do que acontece com a produtividade dos caules, a produtividade das plantas em termos de folhas não é afetada pelas águas residuais ricas em metais pesados utilizadas na irrigação. Os três genótipos em estudos mostram um aumento de produtividade das plantas irrigadas com águas residuais ricas em zinco e cobre em relação às plantas controle, sendo a diferença mais notável no genótipo *Miscanthus floridulus*.

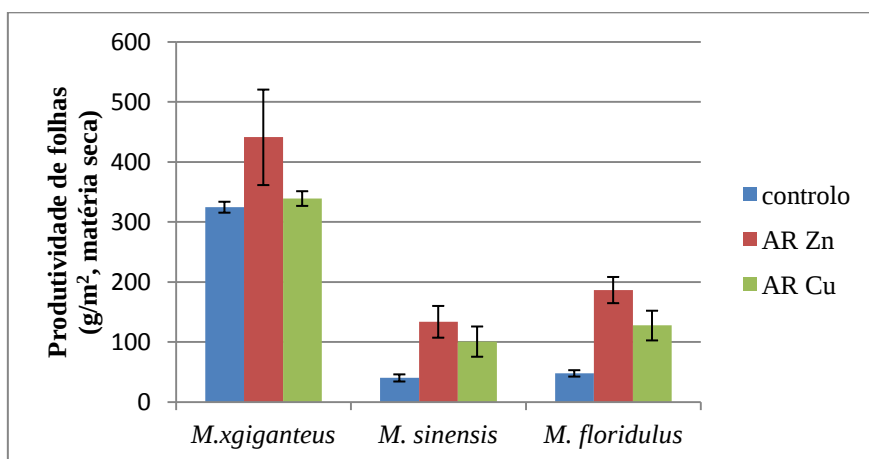


Figura 3.10 - Produtividade média de folhas para os diferentes tipos de irrigação (g.m^{-2} , matéria seca).

Tabela 3.10 - Produtividade média total de *Miscanthus* para os diferentes tipos de irrigação (g.m^{-2} , matéria seca).

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	502 $\pm$ 49	617 $\pm$ 156	493 $\pm$ 61
<i>M. sinensis</i>	64 $\pm$ 0	170 $\pm$ 53	137 $\pm$ 34
<i>M. floridulus</i>	311 $\pm$ 4	370 $\pm$ 42	331 $\pm$ 103

A tabela 3.10 indica a produtividade total, ou seja, o somatório da produção de caules, folhas e também das folhas secas e da espiguetas. Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para a produtividade total entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,18$; ANOVA) mas verificaram-se diferenças estatísticas entre os diferentes genótipos (valor de $p = 3,6 \times 10^{-5}$; ANOVA), com o *Miscanthus x giganteus* a apresentar valores de produtividade total superiores aos outros dois genótipos e com o *Miscanthus sinensis* a apresentar os valores de produtividade total mais baixos (Teste T). Porém, é de referir que o genótipo *Miscanthus x giganteus* irrigado com água residual rica em zinco é o que apresenta uma produtividade mais elevada para os três tipos de irrigação. O *Miscanthus sinensis* controlo é o genótipo que apresenta a mais baixa produtividade para os três tipos de irrigação.

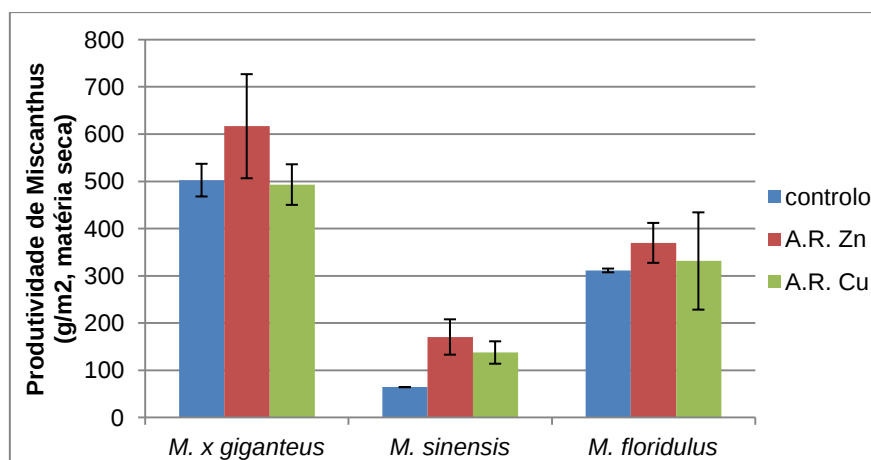


Figura 3.11 - Produtividade Total média de *Miscanthus* para os diferentes tipos de irrigação (g.m^{-2} , matéria seca).

De acordo com os resultados obtidos, *Miscanthus x giganteus* é o mais produtivo dos três genótipos estudados, seguindo-se o *Miscanthus floridulus* e, com o *Miscanthus sinensis* a ser o menos produtivo do ensaio. É de salientar que a irrigação com águas residuais ricas em zinco e cobre não só não afeta negativamente a produtividade das plantas como a aumenta, tal como referido por Zema *et al.*, 2012. A fração que mais peso tem na produtividade total dos três genótipos é a parcela relativa às folhas. Convém, também, notar que dos três genótipos em estudo, apenas dois, *Miscanthus x giganteus* e *Miscanthus sinensis*, possuem espiguetas, independentemente do tipo de irrigação utilizado. O *Miscanthus x giganteus* é também o mais produtivo nesta fração (espiguetas). A

água residual rica em zinco aumenta a produtividade dos três genótipos em estudo, como se pode ver na tabela 3.10 e na figura 3.11.

Tabela 3.11 - Produtividade Média de biomassa não *Miscanthus* para os diferentes tipos de irrigação (g.m⁻², matéria seca).

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	0	0	5,1 ± 4,7
<i>M. sinensis</i>	39,8 ± 37	14,1 ± 0	2,6 ± 2,6
<i>M. floridulus</i>	8,6 ± 8,3	70 ± 46	244 ± 221
s/plantas	102 ± 102	0,3 ± 0,1	10 ± 0

A tabela 3.11 indica a produtividade média de biomassa não *Miscanthus*. Em relação à produção de biomassa não *Miscanthus* (ervas daninhas), esta é superior nos vasos com o genótipo *Miscanthus floridulus* e nos vasos sem *Miscanthus* em relação aos outros genótipos, embora sem diferenças significativas. Não se verificam também diferenças significativas entre tipos de rega. No entanto, pontualmente, em alguns vasos, as ervas daninhas cresceram melhor do que noutros, não se associando este crescimento a nenhum motivo particular (nem o tipo de rega nem o genótipo, ou a faculdade de não haver *Miscanthus*).

3.3.2. Caracterização Química da Biomassa

3.3.2.1. Teor de cinzas

O teor de cinzas é um dos parâmetros relativos à qualidade da biomassa utilizada para produção de energia. Elevados teores de cinzas significam um problema em termos de durabilidade dos equipamentos, e também de produção de um resíduo que tem de ter destino. Este parâmetro é analisado nos diversos constituintes da amostra, caule, folhas, espiguetas, manta morta (folhas secas) e biomassa não *Miscanthus*.

Na tabela 3.12 são apresentados os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cinzas dos caules.

Tabela 3.12 - Teor de cinzas dos caules (% , matéria seca).

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	3,46 ± 0,06	3,05 ± 0,48	2,72 ± 0,05
<i>M. sinensis</i>	5,98 ± 0,47	4,61 ± 0,41	3,92 ± 0,31
<i>M. floridulus</i>	3,12 ± 0,04	3,42 ± 0,19	3,40 ± 0,30

Não se constata diferenças estatisticamente significativas para o teor de cinzas nos caules entre os diferentes tipos de irrigação. Verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes genótipos (valor de $p = 9,21 \times 10^{-5}$; ANOVA), com teor de cinzas dos caules superiores para

o *Miscanthus sinensis* em relação aos outros dois genótipos, e com teor de cinzas dos caules iguais entre o *Miscanthus x giganteus* e o *Miscanthus floridulus* (Teste t). Contudo é de referir que o teor mais elevado de cinzas dos caules está registado para o genótipo *Miscanthus sinensis* controlo ($5,98 \pm 0,47$) e que o teor mais baixo de cinzas pertence ao *Miscanthus x giganteus* irrigado com água residual rica em cobre ($2,72 \pm 0,05$).

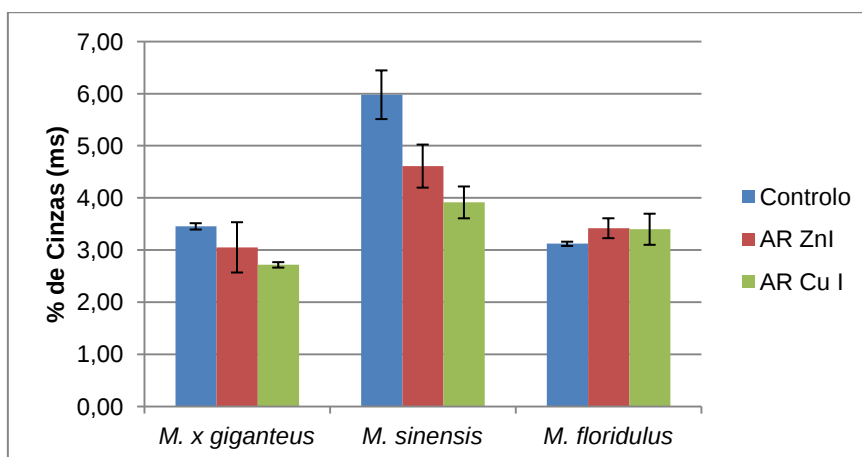


Figura 3.12 - Teor médio de cinzas de caules *Miscanthus* (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

A utilização de águas residuais ricas em zinco e cobre para a irrigação não contribui para o aumento do teor de cinzas, o que representa um aspeto positivo da reutilização destas águas. Como se pode ver na figura 3.12, o teor de cinzas dos caules diminui com a utilização de águas residuais para a irrigação das plantas (embora sem significado estatístico). Apenas no genótipo *Miscanthus floridulus* isso não aconteceu, tendo-se verificado uma tendência para o aumento, embora esse aumento não seja significativo. O *M. sinensis* foi o genótipo que apresentou um teor em cinzas superior, por comparação com os outros genótipos. Este valor pode resultar de um processo de concentração, uma vez que foi o genótipo menos produtivo.

A tabela 3.13 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cinzas das folhas.

Tabela 3.13 - Teor de cinzas das folhas (% de matéria seca).

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	$8,9 \pm 2,6$	$8,4 \pm 0,0$	$8,8 \pm 0,5$
<i>M. sinensis</i>	$13,6 \pm 1,8$	$11,9 \pm 1,0$	$11,6 \pm 0,8$
<i>M. floridulus</i>	$9,5 \pm 0,4$	$9,4 \pm 0,4$	$9,1 \pm 1,4$

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de cinzas das folhas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,94$; ANOVA) mas verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre genótipos (valor de $p = 0,001$; ANOVA), com teor de cinzas das

folhas superiores para o *Miscanthus sinensis* em relação aos outros dois genótipos, e com teor de cinzas das folhas iguais entre o *Miscanthus x giganteus* e o *Miscanthus floridulus* (Teste T), tal como aconteceu nos caules. Contudo é de referir que o teor de cinzas das folhas mais elevado é registado para o *Miscanthus sinensis* controlo ($13,6 \pm 1,8$) e o mais baixo teor de cinzas é observado no *Miscanthus x giganteus* irrigado com água residual rica em zinco ($8,4 \pm 0,0$).

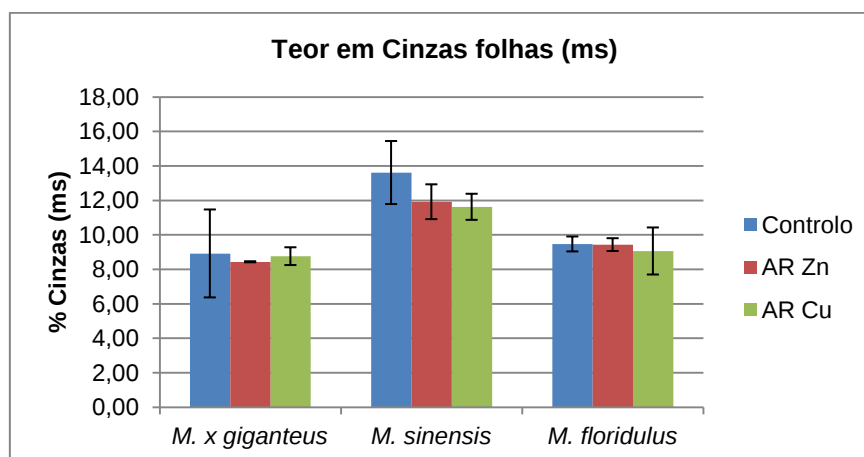


Figura 3.13 - Teor médio de cinzas de folhas *Miscanthus* (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

A utilização de águas residuais ricas em zinco e cobre para a irrigação não afeta o teor de cinzas, nas folhas, de forma significativa. Como se pode ver na figura 3.13, para o caso do genótipo *Miscanthus sinensis*, o teor de cinzas das folhas diminui com a utilização de águas residuais para a irrigação das plantas (embora sem significado). Nos outros dois genótipos, *Miscanthus x giganteus* e *Miscanthus floridulus*, não se registam diferenças significativas entre os dois tipos de irrigação e o controlo. O maior teor de cinzas observado para o *M. sinensis* pode resultar, como já anteriormente explicado, da menor produtividade observada com este genótipo, que originou uma maior concentração da matéria mineral.

A tabela 3.14 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cinzas da espiguetta.

Tabela 3.14 - Teor de cinzas da espiguetta (% matéria seca).

	Controlo	Ar Zn	Ar Cu
<i>M. x giganteus</i>	4,24±0,01	4,42±0,01	4,98±0,01
<i>M. sinensis</i>	4,24±0,01	5,61±0,01	5,57±0,01
<i>M. floridulus</i>	*	*	*

* Não houve espiguetta nestes vasos.

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de cinzas da espiguetta entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,24$; ANOVA) nem entre genótipos (valor de $p =$

0,23; ANOVA). Contudo é de referir o teor de cinzas de espiguetas mais elevado é registado para o *Miscanthus sinensis*, irrigado com água residual rica em zinco (5,61), e o mais baixo para o *Miscanthus x giganteus* e *Miscanthus sinensis*, ambos controlo (4,24).

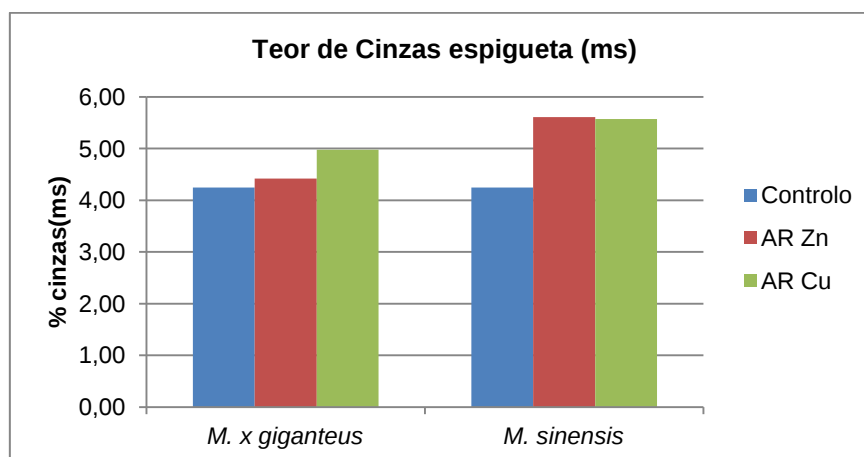


Figura 3.14 - Teor médio de cinzas de espiguetas *Miscanthus* (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso da espiguetas, apenas os génotipos *Miscanthus x giganteus* e *Miscanthus sinensis* floriram, formando a espiguetas. No caso da espiguetas, as plantas irrigadas com águas residuais ricas em zinco e cobre apresentam maior percentagem de cinzas, em comparação com as plantas controlo, embora esse aumento não seja significativo.

A tabela 3.15 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cinzas da manta morta (folhas secas).

Tabela 3.15 - Teor de cinzas da manta morta (% matéria seca).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	50 ± 17	61 ± 3	61 ± 1
<i>M. sinensis</i>	55 ± 0	46 ± 0	39 ± 0
<i>M. floridulus</i>	81 ± 7	34 ± 14	34 ± 0

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas para o teor de cinzas da manta morta entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,001$; ANOVA), e entre génotipos (valor de $p = 0,01$; ANOVA). No caso do *M. x giganteus*, a manta morta dos vasos regados com AR's apresentaram teores em cinzas superiores ao controlo. No caso de *M. sinensis* e *M. floridulus*, a manta morta dos vasos controlo apresentou teores superiores em cinzas aos vasos regados com AR's. Nos vasos controlo, a manta morta de *M. floridulus* foi a que apresentou maior teor de cinzas e nos vasos com AR's, os vasos com *M. x giganteus* foram os que apresentaram uma manta morta com mais cinzas.

Contudo é de referir o teor de cinzas da manta morta mais elevado é registado para o *Miscanthus floridulus* controlo (81 ± 7) e o teor mais baixo é observado para o *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em cobre (34 ± 0).

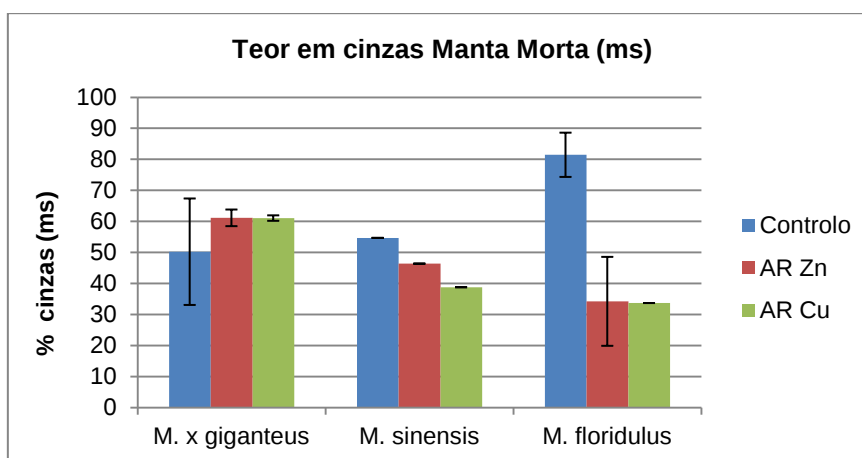


Figura 3.15 - Teor médio de cinzas de Manta Morta *Miscanthus* (% de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso da manta morta e do genótipo *Miscanthus floridulus*, regista-se um elevado teor de cinzas nas plantas controlo em relação às plantas irrigadas com águas residuais tanto ricas em zinco como em cobre. No genótipo *Miscanthus x giganteus* verifica-se um aumento do teor de cinzas da manta morta obtida nos vasos irrigados com águas residuais ricas em metais pesados em comparação com os vasos controlo, embora sem significado estatístico. No caso do genótipo *Miscanthus sinensis*, apesar das diferenças não serem significativas, as plantas irrigadas com águas residuais ricas em zinco e cobre apresentam menor percentagem de cinzas por matéria seca, em comparação com as plantas controlo, como se pode constatar na figura 3.15. O elevado teor de cinzas apresentado por esta fração, pode também ser ocasionado por mistura de algumas partículas de solo com esta fração aquando da colheita.

A tabela 3.16 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cinzas da biomassa não *Miscanthus* (ervas daninhas).

Tabela 3.16 - Teor de cinzas da biomassa não *Miscanthus* (% matéria seca).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	*	*	15,1 ± 0,1
<i>M. sinensis</i>	14,5 ± 0,1	36,6 ± 10,9	71 ± 1
<i>M. floridulus</i>	39,9 ± 0,1	15,9 ± 2,0	12,9 ± 0,1
s/ plantas	24,7 ± 0,2	*	42,1 ± 0,1

* Não houve biomassa não *Miscanthus* nestes vasos ou biomassa suficiente para a realização das análises

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os vasos com os diferentes genótipos em estudo e sem plantas e entre tipos de rega. Contudo é de referir que o teor de cinzas de biomassa não *Miscanthus* mais elevado é registado para o *Miscanthus sinensis*, irrigado com água residual rica em cobre (71 ± 1) e o mais baixo é observado para o *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em cobre ($12,9 \pm 0,0$).

Globalmente, podemos afirmar que as folhas são a fração que mais acumula cinzas, seguindo-se a espiguetta e por fim os caules. Se consideramos a matéria morta e a biomassa não *Miscanthus* verificamos que a concentração em cinzas nestas frações é muito elevada, muito superior à observada nas folhas verdes do *Miscanthus*.

3.3.2.2. Teor de azoto

Os efluentes de suinicultura são muito ricos em azoto. A utilização deste tipo de efluente para rega pode diminuir a necessidade de fertilizantes (Amaro *et al.*, 2006). O teor de azoto presente na biomassa vai influenciar a utilização da biomassa para a produção de energia. Quanto maior o teor de azoto presente na biomassa, maior será a libertação de gases NO_x , gases com efeito de estufa, aquando a sua combustão para a produção de energia (Biewinga e van der Bijl, 1996).

O teor de azoto presente na biomassa pode ser afetado pela interação entre o azoto utilizado na fertilização e a irrigação, isto é, quando a planta é irrigada e fertilizada com azoto, o teor de azoto na biomassa pode aumentar (Ercoli *et al.*, 1999).

Este parâmetro é analisado através dos diversos constituintes da amostra, caule, folhas, espiguetta, manta morta e biomassa não *Miscanthus*.

A tabela 3.17 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de azoto nos caules.

Tabela 3.17 - Teor de azoto nos caules (% N, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	$0,09 \pm 0,01$	$0,23 \pm 0,08$	$0,09 \pm 0,01$
<i>M. sinensis</i>	$0,26 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,01$	$0,49 \pm 0,01$
<i>M. floridulus</i>	$0,09 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,01$	$0,24 \pm 0,01$

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de azoto dos caules entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,4$; ANOVA) nem entre genótipos (valor de $p = 0,5$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de azoto mais elevado é observado para o *Miscanthus sinensis* irrigado com água residual rica em cobre ($0,49 \pm 0,00$) e os mais baixos são registado para o *Miscanthus x giganteus* controlo e irrigado com água residual rica em cobre ($0,09 \pm 0,01$; $0,09 \pm 0,01$) e o *Miscanthus floridulus* controlo ($0,09 \pm 0,01$).

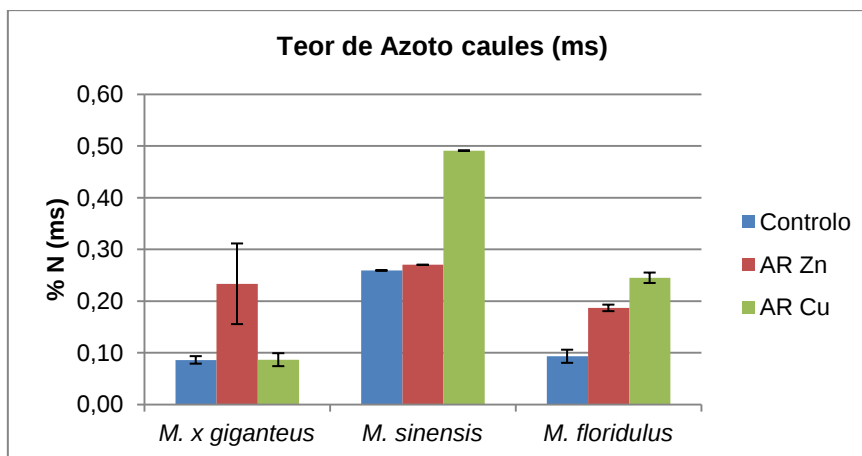


Figura 3.16 - Teor médio de azoto de caules de *Miscanthus* (% N, matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

De uma forma geral, verifica-se que os caules obtidos nos vasos regados com AR's apresentam um teor de azoto superior ao dos caules obtidos no controlo, tal como o resultado obtido por Ercoli (1999).

Nos genótipos *Miscanthus sinensis* e *Miscanthus floridulus*, as plantas irrigadas com água residual rica em cobre apresentam maior teor de azoto do que as plantas irrigadas com água residual rica em zinco e as plantas controlo. No caso do *Miscanthus x giganteus*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam maior teor de azoto do que as plantas irrigadas com água residual rica em cobre, que apresentam o mesmo teor de azoto que as plantas controlo (figura 3.16).

A tabela 3.18 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de azoto nas folhas.

Tabela 3.18 - Teor de azoto nas folhas (% N, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	0,40 ± 0,10	0,51 ± 0,16	0,44 ± 0,05
<i>M. sinensis</i>	0,39 ± 0,02	0,47 ± 0,04	0,41 ± 0,03
<i>M. floridulus</i>	0,59 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,45 ± 0,03

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de azoto presente nas folhas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,9$; ANOVA) nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,5$; ANOVA). Contudo é de referir que o valor mais elevado de azoto está registado para *Miscanthus floridulus* controlo ($0,59 \pm 0,00$) e o mais baixo para o *Miscanthus sinensis* controlo ($0,39 \pm 0,02$).

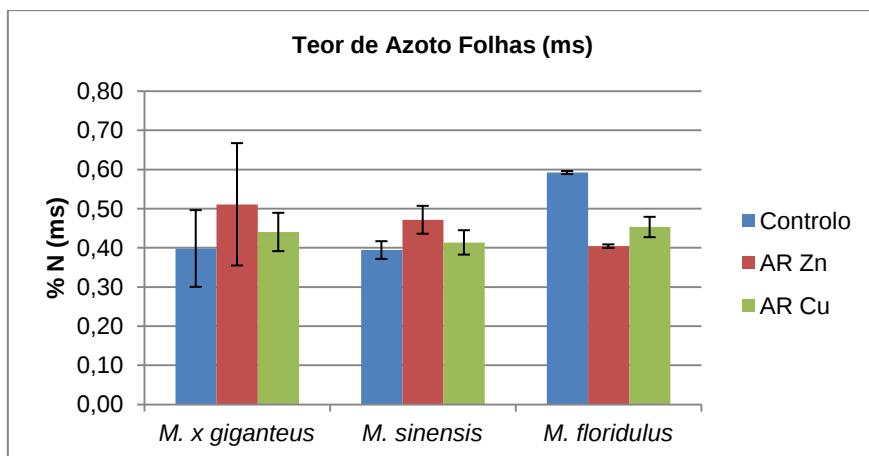


Figura 3.17 – Teor médio de azoto de folhas de *Miscanthus* (% N, matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso das folhas, o teor de azoto é superior nas plantas irrigadas com águas residuais ricas em metais pesados exceto no genótipo *Miscanthus floridulus*. Nos genótipos *Miscanthus sinensis* e *Miscanthus x giganteus*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam maior teor de azoto do que as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e que as plantas controlo, respetivamente. No caso do *Miscanthus floridulus*, as plantas controlo apresentam maior teor de azoto do que as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e que as plantas irrigadas com água residual rica em zinco, respetivamente (tabela 3.18; figura 3.17).

A tabela 3.19 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de azoto na espiguetas. As plantas do genótipo *Miscanthus floridulus* não desenvolveram espiguetas, como tal, esse genótipo não irá ser discutido.

Tabela 3.19 - Teor de azoto na espiguetas (% N, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	0,59	0,69	0,63
<i>M. sinensis</i>	0,59	0,62	0,41
<i>M. floridulus</i>	*	*	*

Nota: como havia muito pouco material vegetal, foi efetuada apenas uma determinação.

* Não houve espiguetas nestes vasos.

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de azoto presente na espiguetas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,39$; ANOVA) nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,28$; ANOVA). Porém, é de referir que o valor mais elevado de azoto na espiguetas está registado para *Miscanthus x giganteus* irrigado com água residual rica em zinco (0,69) e o mais baixo, para o *Miscanthus sinensis* irrigado com água residual rica em cobre (0,41).

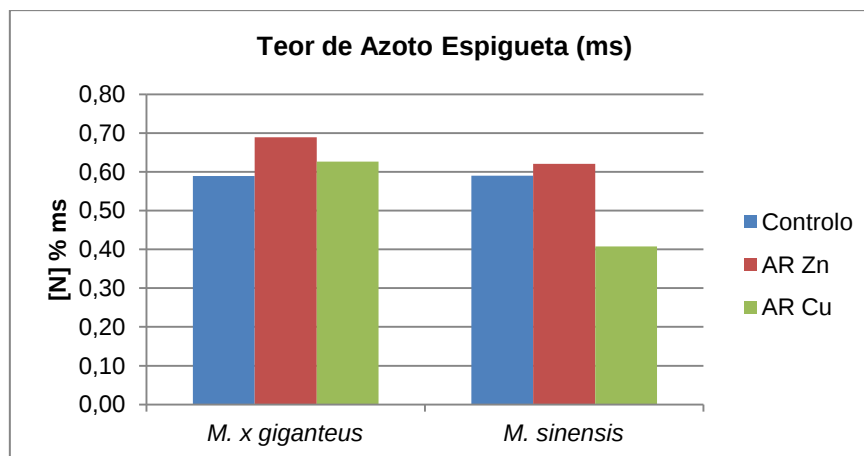


Figura 3.18 - Teor médio de azoto de espiguetas de *Miscanthus* (% N, matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso da espiguetas, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam um teor de azoto mais elevado do que as plantas controlo, independentemente do genótipo. No caso do genótipo *Miscanthus x giganteus*, as plantas irrigadas com águas residuais ricas em metais pesados apresentam um teor de azoto mais elevado do que as plantas controlo. No genótipo *Miscanthus sinensis*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam um teor de azoto mais elevado do que as plantas controlo, e as plantas irrigadas com água residual rica em cobre são as que apresentam menor teor de azoto (figura 3.18).

A tabela 3.20 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de azoto na manta morta.

Tabela 3.20 - Teor de azoto na manta morta (% N, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	0,87 ± 0,09	1,01 ± 0,23	0,94 ± 0,06
<i>M. sinensis</i>	0,31 ± 0,01	1,21 ± 0,01	0,74 ± 0,01
<i>M. floridulus</i>	0,66 ± 0,12	1,35 ± 0,44	0,37 ± 0,01

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas no teor de azoto presente na manta morta entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,004$; ANOVA), com a irrigação com água residual rica em zinco a apresentar teores de azoto mais elevados na manta morta do que a irrigação com água residual rica em cobre e controlo, com estes dois últimos regimes de irrigação a apresentarem valores iguais entre si (Teste T). Não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,53$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de azoto mais elevado na manta morta é registado no *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em zinco ($1,35 \pm 0,44$); e o teor de azoto mais baixo é observado no *Miscanthus sinensis* controlo ($0,31 \pm 0,00$).

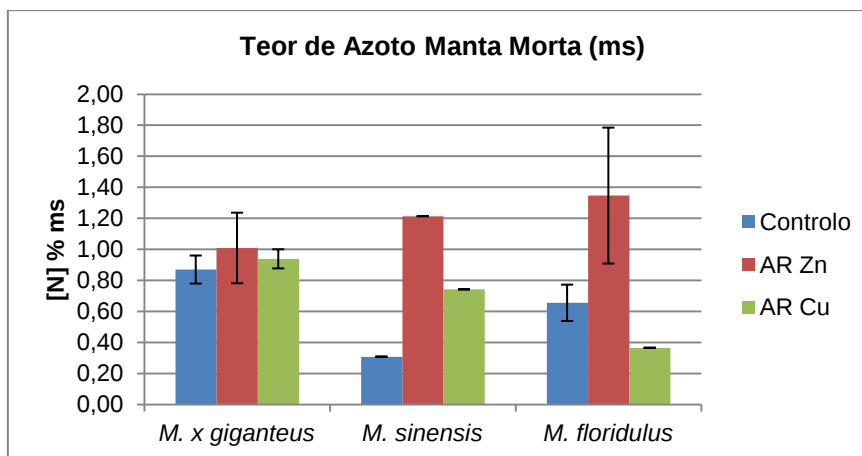


Figura 3.19 - Teor médio de azoto de manta morta de *Miscanthus* (% N, matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso da manta morta, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam um teor de azoto mais elevado do que as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e do que as plantas controlo, independentemente do genótipo. No caso do genótipo *Miscanthus x giganteus*, as plantas irrigadas com águas residuais ricas em metais pesados apresentam um teor de azoto mais elevado do que as planta controlo. No genótipo *Miscanthus sinensis*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam um teor de azoto mais elevado do que as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e do que as plantas controlo, respetivamente. No caso do genótipo *Miscanthus floridulus*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam um teor de azoto mais elevado do que as plantas controlo e do que as plantas irrigadas com água residual rica em cobre (figura 3.19).

A tabela 3.21 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de azoto na biomassa não *Miscanthus*.

Tabela 3.21 - Teor de azoto na biomassa não *Miscanthus* (% N, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	*	*	1,54 ± 0,00
<i>M. sinensis</i>	2,00 ± 0,00	2,24 ± 0,30	2,61 ± 0,00
<i>M. floridulus</i>	1,17 ± 0,00	1,86 ± 0,06	1,24 ± 0,00
<i>s/plantas</i>	1,32 ± 0,17	*	1,76 ± 0,22

* Não houve biomassa não *Miscanthus* nestes vasos.

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de azoto na biomassa não *Miscanthus* entre os diferentes tipos de irrigação. Não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os vasos com diferentes genótipos e sem plantas, embora os vasos com *Miscanthus sinensis* apresentem os teores mais elevados de azoto na biomassa não *Miscanthus*. Contudo é de referir que o teor de azoto mais elevado está registado para o *Miscanthus sinensis*

irrigado com água residual rica em cobre ($2,61 \pm 0,01$); e o mais baixo, para o *Miscanthus floridulus* controlo ($1,17 \pm 0,01$).

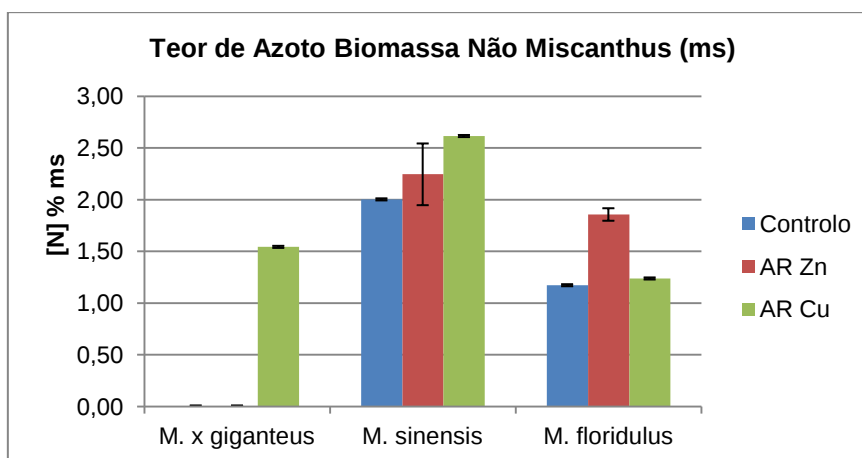


Figura 3.20 - Teor médio de azoto de Biomassa não *Miscanthus* (% N, matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso da biomassa não *Miscanthus*, o teor de azoto apresenta diferentes comportamentos para os diferentes genótipos. No caso do genótipo *Miscanthus x giganteus*, apenas temos resultados para as plantas irrigadas com águas residuais ricas em cobre. No genótipo *Miscanthus sinensis*, as plantas irrigadas com água residual rica em cobre apresentam um teor de azoto mais elevado do que as plantas irrigadas com água residual rica em zinco e do que as plantas controlo, respetivamente. No caso do genótipo *Miscanthus floridulus*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam um teor de azoto mais elevado do que as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e do que as plantas controlo (figura 3.20). A biomassa não *Miscanthus* foi a fração que registou um maior teor de azoto, sendo a fração correspondente aos caules aquela que apresentou menor teor de azoto. De uma forma geral, a utilização de águas residuais ricas em metais pesados aumentou o teor de azoto presente na biomassa, uma vez que estas águas apresentam teores em N superiores aos da água da rede utilizada no controlo.

3.3.2.3. Teor de fósforo

A utilização de efluentes de suinicultura na irrigação pode diminuir as necessidades de fertilização fosfatada pois estas águas são muito ricas em fósforo (Amaro *et al.*, 2006).

O teor de fósforo é analisado através dos diversos constituintes da amostra, caule, folhas, espiguetas, manta morta e biomassa não *Miscanthus*.

A tabela 3.22 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de fósforo nos caules.

Tabela 3.22 - Teor de fósforo nos caules (%P, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	0,01 ± 0,004	0,041 ± 0,014	0,015 ± 0,00
<i>M. sinensis</i>	0,014 ± 0,004	0,041 ± 0,002	0,022 ± 0,022
<i>M. floridulus</i>	0,06 ± 0,02	0,020 ± 0,001	0,063 ± 0,024

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de fósforo dos caules entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,05$; ANOVA), nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,51$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de fósforo mais elevado está registado no *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em cobre ($0,06 \pm 0,024$); e o mais baixo para o *Miscanthus x giganteus* e *Miscanthus floridulus* controlo ($0,01 \pm 0,004$; $0,06 \pm 0,02$).

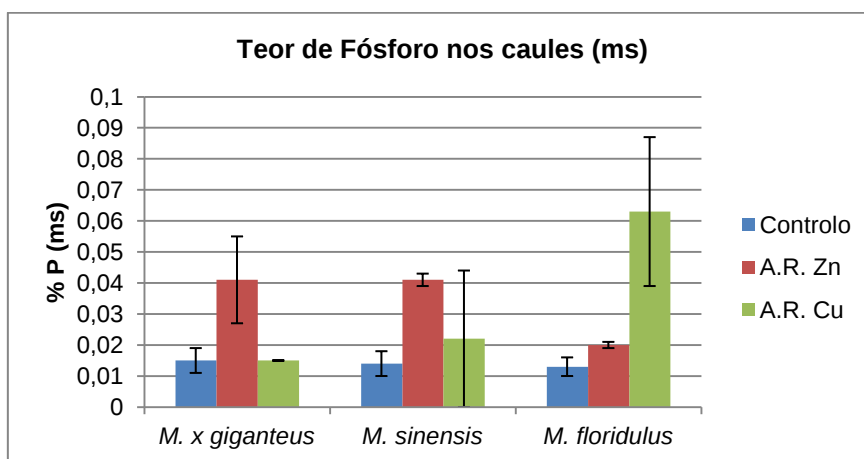


Figura 3.21 - Teor médio de fósforo nos caules (% P, de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

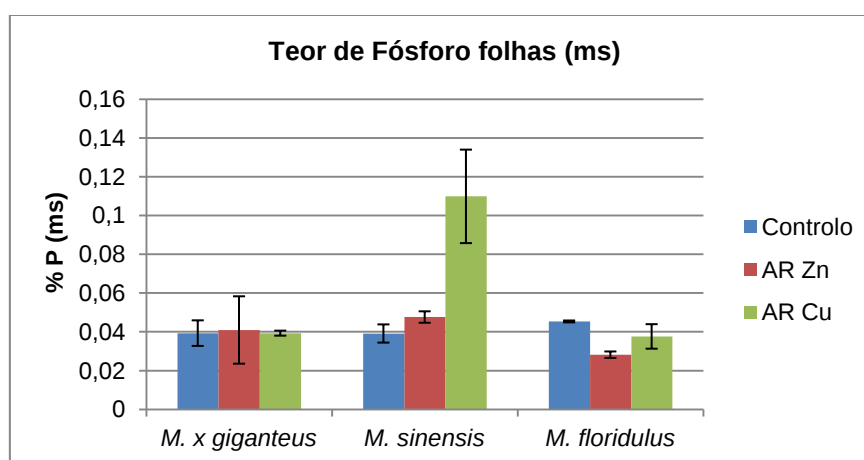
Nos caules, o teor de fósforo é superior nas plantas irrigadas com águas residuais ricas em metais pesados. Nos genótipos *M. x giganteus* e *Miscanthus sinensis*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco apresentam maior teor de fósforo do que as plantas irrigadas com água residual rica em cobre. As plantas controlo são as que apresentam menor teor de fósforo, independentemente do genótipo. No caso do *Miscanthus floridulus*, as plantas irrigadas com água residual rica em cobre apresentam maior teor de fósforo do que as plantas irrigadas com água residual rica em zinco, contrário aos outros dois genótipos. As plantas controlo são as que apresentam menor teor de fósforo (figura 3.21).

A tabela 3.23 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de fósforo nas folhas.

Tabela 3.23 - Teor de fósforo nas Folhas (% P, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	0,039 ± 0,007	0,041 ± 0,017	0,039 ± 0,001
<i>M. sinensis</i>	0,039 ± 0,005	0,048 ± 0,003	0,110 ± 0,024
<i>M. floridulus</i>	0,045 ± 0,000	0,028 ± 0,002	0,038 ± 0,006

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de fósforo presente nas folhas entre os diferentes tipos de irrigação e entre os diferentes genótipos. Contudo é de referir que o teor de fósforo mais elevado está registado para o *Miscanthus sinensis* irrigado com água residual rica em cobre (0,110 ± 0,024); e o mais baixo, para o *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em zinco (0,028 ± 0,002).

**Figura 3.22** - Teor médio de fósforo nas folhas (% P, de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

Na análise do teor de fósforo nas folhas verifica-se que para os três genótipos em estudo, a absorção de fósforo foi diferente. No caso do genótipo *Miscanthus x giganteus* não há diferenças significativas entre os diferentes tipos de irrigação. No genótipo *Miscanthus sinensis*, as plantas irrigadas com água residual rica em cobre registam o máximo teor de fósforo verificado nos três genótipos. Apesar de existirem diferenças entre as plantas irrigadas com água residual rica em zinco e as plantas controlo, estas não são significativas. No *Miscanthus floridulus*, as diferenças registadas entre os diferentes tipos de irrigação não são significativas. De notar que, neste genótipo, as plantas controlo são as que registam maior teor de fósforo (figura 3.22).

A tabela 3.24 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de fósforo na espiguetas. Neste caso, como as plantas do genótipo *Miscanthus floridulus* não possuem espiguetas, não irão ser discutidas.

Tabela 3.24 - Teor de fósforo na espiguetas (% P, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	0,105	0,143	0,089
<i>M. sinensis</i>	0,105	0,054	0,158
<i>M. floridulus</i>	*	*	*

Nota: como havia muito pouco material vegetal, foi efetuada apenas uma determinação.

* Não houve espiguetas nestes vasos.

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de fósforo na espiguetas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,90$; ANOVA) nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,90$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de fósforo mais elevado está registado no *Miscanthus sinensis* irrigado com água residual rica em cobre (0,158). O teor de fósforo presente na espiguetas mais baixo é observado para o *Miscanthus x giganteus* irrigado com água residual rica em cobre (0,089).

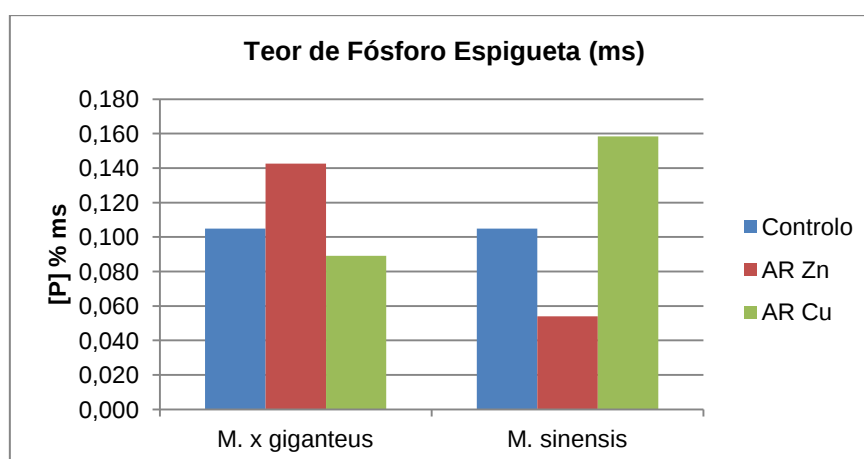


Figura 3.23 - Teor médio de fósforo nas espiguetas (% P, de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

O *Miscanthus x giganteus* e o *Miscanthus sinensis* revelam resultados diferentes. No caso do *Miscanthus x giganteus*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco são as que registam o teor de fósforo mais elevado, seguindo-se as plantas controlo e as plantas irrigadas com água residual rica em cobre, respetivamente. No *Miscanthus sinensis*, as plantas irrigadas com água residual rica em cobre são as que registam maior teor em fósforo, seguindo-se as plantas controlo. As plantas irrigadas com água residual rica em zinco são as que registam menor teor de fósforo do ensaio (figura 3.23).

A tabela 3.25 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de fósforo na manta morta.

Tabela 3.25 - Teor de fósforo na Manta Morta (% P, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	0,101 ± 0,008	0,238 ± 0,111	0,172 ± 0,006
<i>M. sinensis</i>	0,148 ± 0,001	0,146 ± 0,001	0,264 ± 0,001
<i>M. floridulus</i>	0,118 ± 0,019	0,150 ± 0,017	0,240 ± 0,000

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas para o teor de fósforo na manta morta entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,03$; ANOVA), com as águas residuais a apresentar valores superiores ao controlo. Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de fósforo na manta morta entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,86$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de fósforo mais elevado está registado no *Miscanthus sinensis* irrigado com água residual rica em cobre ($0,26 \pm 0,00$). E o teor de fósforo mais baixo na manta morta é observado no *Miscanthus x giganteus* controlo ($0,10 \pm 0,01$).

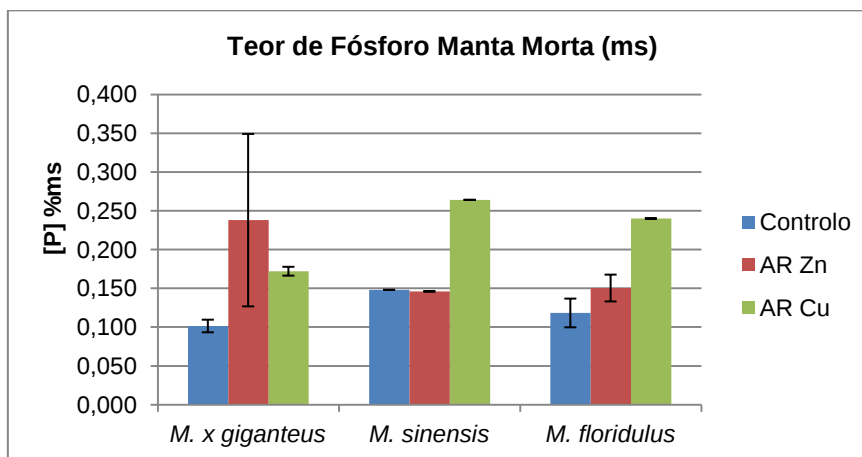


Figura 3.24 - Teor médio de fósforo na manta morta (% P, de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

Na manta morta, os três genótipos apresentam diferenças entre si. No caso do *Miscanthus x giganteus*, as plantas irrigadas com águas residuais ricas em metais pesados são as que registam teores mais elevados de fósforo em relação às plantas controlo, com as plantas irrigadas com água residual rica em zinco a registar teor de fósforo mais elevado do que as irrigadas com água residual rica em cobre. No *Miscanthus sinensis*, as plantas controlo e as plantas irrigadas com água residual rica em zinco não mostram diferenças significativas entre si. No genótipo *Miscanthus floridulus*, as plantas irrigadas com água residual rica em cobre são as que registam teor de fósforo mais elevado, seguindo-se as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e as plantas controlo, respetivamente (figura 3.24).

A tabela 3.26 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de fósforo na biomassa não *Miscanthus*.

Tabela 3.26 - Teor de fósforo na Biomassa Não *Miscanthus* (% P, ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	*	*	0,355 ± 0,001
<i>M. sinensis</i>	0,502 ± 0,001	0,245 ± 0,044	0,317 ± 0,001
<i>M. floridulus</i>	0,366 ± 0,001	0,442 ± 0,001	0,195 ± 0,001
s/plantas	0,382 ± 0,028	*	0,233 ± 0,057

* Não houve biomassa não *Miscanthus* nestes vasos.

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de fósforo presente na biomassa não *Miscanthus* entre os diferentes tipos de irrigação e entre os vasos com diferentes genótipos e os sem plantas. Contudo é de referir que o teor de fósforo mais elevado está registado no *Miscanthus sinensis* controlo (0,502 ± 0,001). E o teor de fósforo mais baixo é observado no *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em cobre (0,195 ± 0,001).

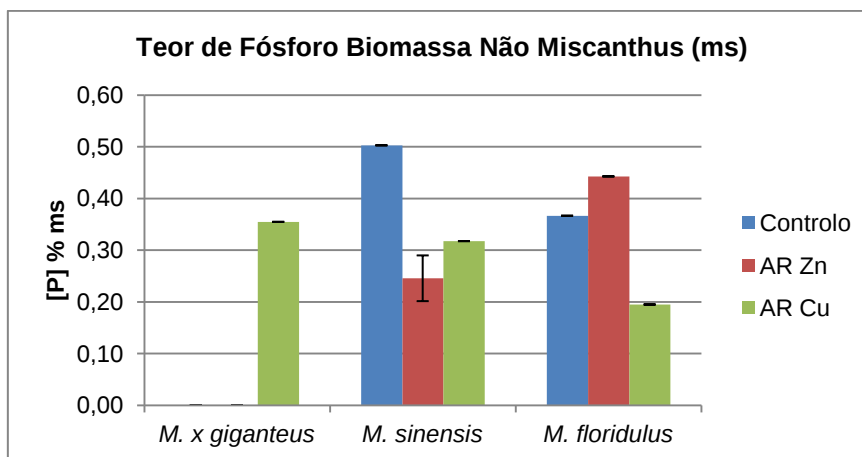


Figura 3.25 - Teor médio de fósforo na biomassa não *Miscanthus* (% P, de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

Quanto à biomassa não *Miscanthus*, no caso do *Miscanthus x giganteus*, só temos registos para as plantas irrigadas com água residual rica em cobre. No *Miscanthus sinensis*, as plantas controlo são as que registam o teor mais elevado de fósforo do ensaio, seguindo-se as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e as plantas irrigadas com água residual rica em zinco. No caso do genótipo *Miscanthus floridulus*, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco são as que registam maior teor de fósforo, seguindo-se as plantas controlo e as plantas irrigadas com água residual rica em cobre (figura 3.25).

A biomassa não *Miscanthus* foi a fração que registou um maior teor de fósforo, sendo a fração correspondente aos caules aquela que apresentou menor teor de fósforo. Todas as frações mostraram teores de fósforo mais elevado do que o controlo, quando irrigadas com água residual rica em cobre. Nas frações correspondentes às folhas, espiguetas e biomassa não *Miscanthus*, quando

irrigadas com água residual rica em zinco apresentaram teores de fósforo mais baixos do que o controlo.

A biomassa não *Miscanthus* foi a única fração onde as plantas controlo apresentaram maior teor de fósforo do que as irrigadas com águas residuais ricas em zinco ou cobre.

3.3.2.4. Metais

Zinco

O zinco e o cobre podem ser encontrados na alimentação dos porcos porque melhoram a eficiência de alimentação e saúde dos mesmos. Como os porcos só conseguem absorver cerca de 10 a 20% do que ingerem destes metais, os seus efluentes são bastante ricos nestes elementos poluentes não biodegradáveis (Suzuki *et al.*, 2010). O crescimento e a produtividade de *Miscanthus* não parecem ser afetados pelo zinco, e este pode crescer em solos contaminados sem que a sua produtividade e valor económico sejam reduzidos (Fernando e Oliveira, 2004).

O teor de zinco é analisado através dos diversos constituintes da amostra, caule, folhas, espiguetas, manta morta e biomassa não *Miscanthus*.

A tabela 3.27 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de zinco nos caules.

Tabela 3.27 - Teor de Zinco nos caules (mg (Zn), kg⁻¹ ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	21,7 ± 7,8	40,9 ± 11,7	15,7 ± 13,2
<i>M. sinensis</i>	23,3 ± 2,9	62,1 ± 21,9	21,1 ± 5,8
<i>M. floridulus</i>	2,5 ± 1,4	6,1 ± 1,2	4,5 ± 3,2

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas no teor de zinco nos caules entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,03$; ANOVA). A rega com AR's em Zn resultou em teores de Zn nos caules superiores também. Verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,01$; ANOVA), com o *Miscanthus x giganteus* com valores iguais ao *Miscanthus sinensis* e ambos com valores superiores ao *Miscanthus floridulus* (Teste T). Contudo é de referir que o teor de Zinco mais elevado está registado no *Miscanthus sinensis* irrigado com água residual rica Zinco (62,12 ± 21,88). E o mais baixo teor de zinco é observado no *Miscanthus floridulus* controlo (2,46 ± 1,36).

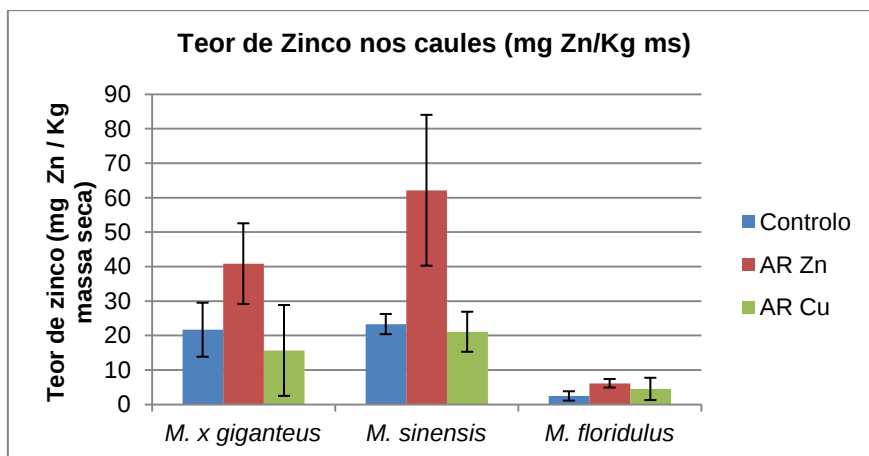


Figura 3.26 - Teor médio de Zinco nos caules de *Miscanthus* (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

Nos caules, todas as plantas, independentemente do genótipo, que registam maior teor de zinco são as irrigadas com águas residuais ricas em zinco, o que era esperado, uma vez que nesta rega se estava a administrar Zn em solução. Aparentemente, o *M. floridulus* é o genótipo que apresenta menor capacidade para fitoextrair Zn da solução do solo (figura 3.26).

A tabela 3.28 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de zinco nas folhas.

Tabela 3.28 - Teor de Zinco nas folhas (mg Zn, kg⁻¹ ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	37,1 ± 8,2	86,2 ± 10,4	32,4 ± 2,3
<i>M. sinensis</i>	24,9 ± 4,0	86,1 ± 3,9	20,8 ± 3,2
<i>M. floridulus</i>	46,7 ± 8,0	70,3 ± 39,7	136 ± 113

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de zinco presente nas folhas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,40$; ANOVA) nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,45$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de Zinco mais elevado está registado no *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica cobre ($136,4 \pm 112,6$), provavelmente, devido a alguma contaminação. O teor de zinco mais baixo nas folhas observa-se para o *Miscanthus sinensis* irrigado com água residual rica em cobre ($20,8 \pm 3,2$).

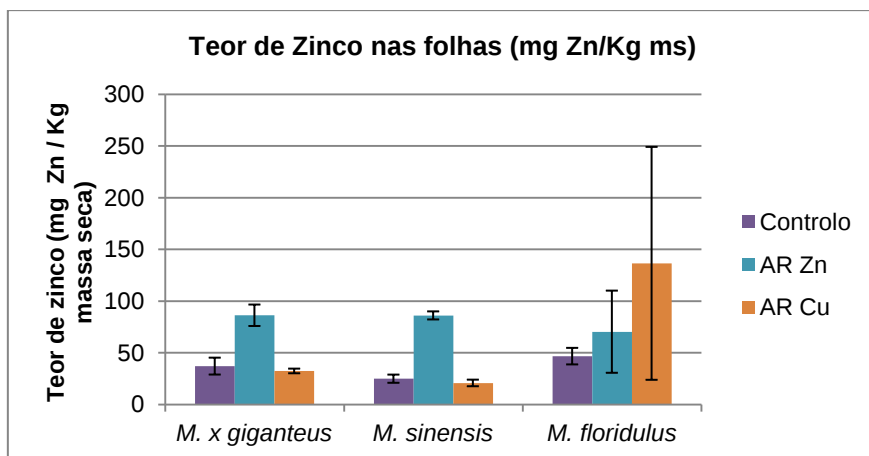


Figura 3.27 - Teor médio de Zinco nas folhas de *Miscanthus* (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

Nas folhas, no caso dos genótipos *Miscanthus x giganteus* e *Miscanthus sinensis*, as plantas que registam maior teor de zinco são as irrigadas com águas residuais enriquecidas com zinco, como esperado pois há mais zinco disponível para absorção (embora sem diferenças estatisticamente significativas), seguindo-se as plantas controlo e as plantas irrigadas com água residual rica em cobre, estes dois últimos a não registarem diferenças significativas entre si. Apenas no *Miscanthus floridulus* o teor de zinco é maior nas plantas irrigadas com água residual rica em cobre do que as plantas irrigadas com água residual rica em zinco, provavelmente, devido a algum tipo de contaminação.(figura 3.27)

A tabela 3.29 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de zinco na espiguetta. Neste caso, como as plantas do genótipo *Miscanthus floridulus* não possuem espiguetta, não serão discutidas.

Tabela 3.29 - Teor de Zinco na Espiguetta (mg Zn, kg⁻¹ ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	26,5	38,4	20,6
<i>M. sinensis</i>	26,5	21,9	23,2
<i>M. floridulus</i>	*	*	*

Nota: como havia muito pouco material vegetal, foi efetuada apenas uma determinação.

* Não houve espiguetta nestes vasos.

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de zinco presente na espiguetta entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,61$; ANOVA) nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,52$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de zinco mais elevado está registado no *Miscanthus x giganteus*, irrigado com água residual rica em zinco (38,4). O mais baixo teor de zinco presente na espiguetta observa-se no *Miscanthus x giganteus* irrigado com água residual rica em cobre (20,6).

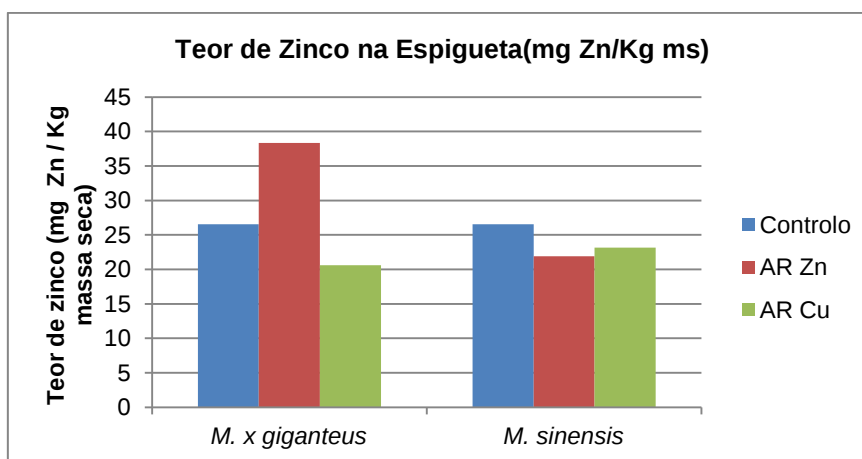


Figura 3.28 - Teor médio de Zinco nas espiguetas de *Miscanthus* (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso da espiguetas, como as plantas do genótipo *Miscanthus floridulus* não possuem espiguetas, não serão discutidas. No genótipo *Miscanthus x giganteus*, e como aconteceu para as duas parcelas anteriores, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco são as que registam maior teor de zinco, o que representa uma correlação entre zinco disponível na solução do solo e Zn na espiguetas. No caso do genótipo *Miscanthus sinensis*, e ao contrário do esperado, as plantas irrigadas com água residual rica em zinco são as que registam o teor mais baixo de zinco, não se registando diferenças entre tipos de irrigação. Neste genótipo a correlação entre teores de Zn na biomassa e teores de Zn no solo só se verificaram para as frações caules e folhas (figura 3.28).

A tabela 3.30 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de zinco na manta morta.

Tabela 3.30 - Teor de Zinco na Manta Morta (mg Zn, kg⁻¹ ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	126 ± 45	721 ± 7	172 ± 25
<i>M. sinensis</i>	140 ± 0	1305 ± 0	132 ± 0
<i>M. floridulus</i>	287 ± 224	589 ± 79	136 ± 0

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas no teor de zinco da manta morta entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 1,82 \times 10^{-6}$; ANOVA), com teores de zinco superiores para a água residual rica em zinco e com a água residual rica em cobre com valores iguais ao controlo (Teste T). Verifica-se então uma correlação entre os teores de Zn solubilizado nas águas de rega e os teores de Zn na manta morta. Não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes genótipos. Contudo é de referir que o teor de zinco mais elevado está registado no *Miscanthus sinensis*, irrigado com água residual rica zinco (1305 ± 0). Todavia, como não se observam diferenças significativas no teor deste metal nas folhas (discutido anteriormente) e, tendo

em consideração que a manta morta analisada é constituída principalmente por folhas mortas, conclui-se que as diferenças encontradas no teor de zinco não se devem à assimilação que a planta faz deste metal mas à sua presença no solo contido na manta morta e devido à água de rega. Assim sendo, as diferenças encontradas devem-se à contaminação pelo solo e água de rega e não à heterogeneidade *per si*.

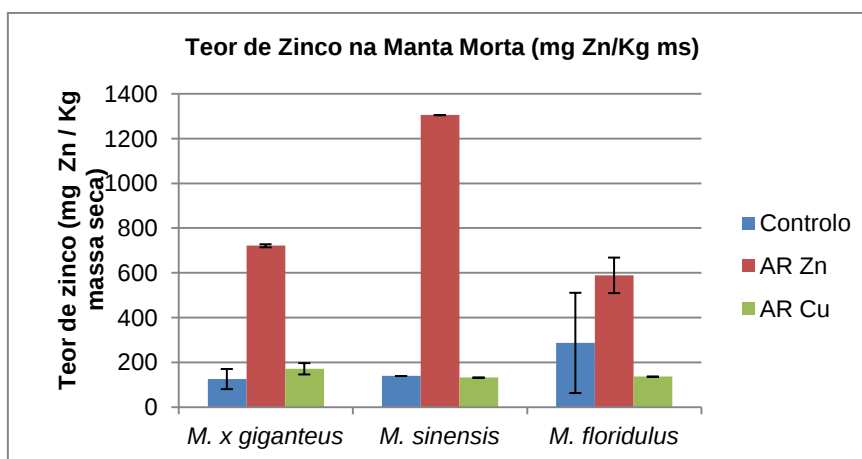


Figura 3.29 - Teor médio de Zinco na manta morta de *Miscanthus* (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

O teor de zinco na manta morta é superior nas plantas irrigadas com água residual rica em zinco, independentemente do genótipo. No caso do *Miscanthus sinensis*, onde se registou o máximo, este poderá ser causado por uma contaminação com o solo e devido à rega com AR's. As plantas controlo e as plantas irrigadas com água residual rica em cobre, para os genótipos *Miscanthus x giganteus* e *Miscanthus sinensis*, não registam diferenças significativas entre si. No caso do *Miscanthus floridulus*, as plantas controlo apresentam um teor de zinco superior ao das plantas irrigadas com água residual rica em cobre, mas sem significado estatístico (figura 3.29).

A tabela 3.31 e a figura 3.30 apresentam os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de zinco na biomassa não *Miscanthus*.

Tabela 3.31 - Teor de Zinco na Biomassa não *Miscanthus* (mg Zn, kg⁻¹ ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	*	*	55,1 ± 0,1
<i>M. sinensis</i>	36,5 ± 0,1	340 ± 70	111 ± 0
<i>M. floridulus</i>	60,1 ± 0,1	138 ± 29	23,9 ± 0,1
s/ plantas	38,0 ± 0,1	*	172 ± 1

* Não houve biomassa não *Miscanthus* nestes vasos.

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas no teor de zinco da biomassa não *Miscanthus* entre os diferentes tipos de irrigação (valor de p = 0,003; ANOVA), obtendo-se valores

superiores quando os vasos são regados com AR's ricas em zinco. Não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os vasos com diferentes genótipos e sem plantas. Contudo é de referir que o teor de zinco mais elevado observa-se para o *Miscanthus sinensis*, irrigado com água residual rica em Zinco (340 ± 70). E o mais baixo teor de zinco observa-se no *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em cobre ($23,9 \pm 0,1$).

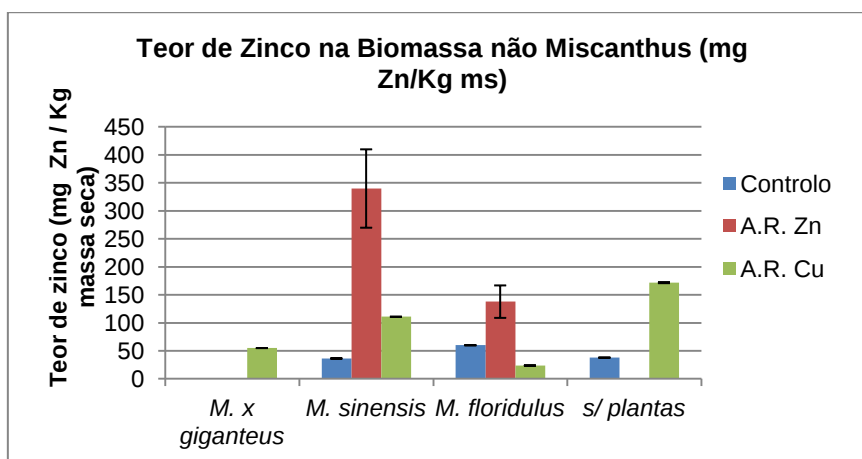


Figura 3.30 - Teor médio de Zinco na biomassa não *Miscanthus* (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

A manta morta foi a fração que registou um maior teor de zinco, sendo a fração correspondente à espiguetta aquela que apresentou menor teor de zinco. Todas as frações, mostraram teores de zinco mais elevado do que o controlo, quando irrigadas com água residual rica em zinco, o que era esperado. Nas frações correspondentes a caules, espiguetta, manta morta e biomassa não *Miscanthus*, quando irrigadas com água residual rica em cobre, apresentaram teores de zinco mais baixos do que o controlo.

Cobre

O zinco e o cobre podem ser encontrados alimentação dos porcos porque melhoram a eficiência de alimentação e saúde dos mesmos. Como os porcos só conseguem absorver cerca de 10 a 20% do que ingerem destes metais, os seus efluentes são bastante ricos nestes elementos poluentes não biodegradáveis (Suzuki *et al.*, 2010).

A tabela 3.32 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cobre nos caules.

Tabela 3.32 - Teor de Cobre nos Caules (mg Cu, kg⁻¹ ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	2,02 ± 0,91	2,67 ± 0,20	3,30 ± 0,02
<i>M. sinensis</i>	4,51 ± 0,78	5,50 ± 2,47	8,46 ± 0,24
<i>M. floridulus</i>	4,47 ± 2,87	1,75 ± 0,80	2,57 ± 0,76

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de cobre nos caules entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,43$; ANOVA). Verificam-se diferenças estatisticamente significativas no teor de cobre nos caules entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,02$; ANOVA), com o *Miscanthus sinensis* a apresentar valores superiores ao *Miscanthus floridulus* e ao *Miscanthus x giganteus* e com estes dois últimos a apresentarem valores semelhantes entre si (Teste T). Contudo é de referir que o teor de cobre mais elevado está registado para o *Miscanthus sinensis*, irrigado com água residual rica em cobre ($8,46 \pm 0,24$). E o teor mais baixo de cobre é observado para o *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em zinco ($1,75 \pm 0,80$). Teores mais elevados em cobre obtidos nos caules de *M. sinensis* podem também dever-se a um efeito de concentração, uma vez que este genótipo apresentou uma produtividade mais reduzida.

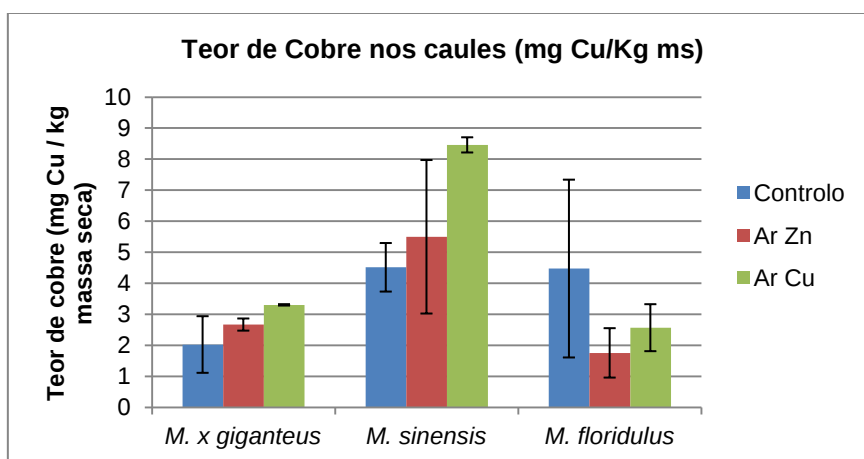


Figura 3.31 - Teor médio de cobre nos caules de *Miscanthus* (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

Tanto no *Miscanthus x giganteus* como no *Miscanthus sinensis*, as plantas irrigadas com água residual rica em cobre são as que apresentam teor de cobre mais elevado, seguindo-se as plantas irrigadas com água residual rica em zinco e as plantas controlo. No *Miscanthus floridulus*, as plantas controlo são as que apresentam maior teor em cobre, seguindo-se as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e as plantas irrigadas com água residual rica em zinco (figura 3.31). Aparentemente, só se verifica uma correlação entre o cobre nas águas e nos caules no *M. sinensis*. Neste genótipo quando há mais cobre na água de rega também se observa mais cobre nos caules.

A tabela 3.33 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cobre nas folhas.

Tabela 3.33 - Teor de Cobre nas Folhas (mg Cu, kg ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	6,76 ± 1,76	5,70 ± 1,50	12,7 ± 1,9
<i>M. sinensis</i>	7,35 ± 2,08	6,99 ± 1,45	21,3 ± 1,9
<i>M. floridulus</i>	15,1 ± 6,8	5,53 ± 0,64	10,3 ± 1,4

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas para o teor de cobre nas folhas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,01$; ANOVA), com a biomassa obtida nos vasos com água residual rica em cobre a apresentar valores mais elevados que a biomassa de vasos com água residual rica em zinco e vasos controlo (Teste T). Não se verificam diferenças estatisticamente significativas para o teor de cobre nas folhas entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,27$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de cobre mais elevado está registado no *Miscanthus sinensis*, irrigado com água residual rica em cobre ($21,3 \pm 1,9$). E o teor mais baixo de cobre é observado no *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em zinco ($5,53 \pm 0,64$).

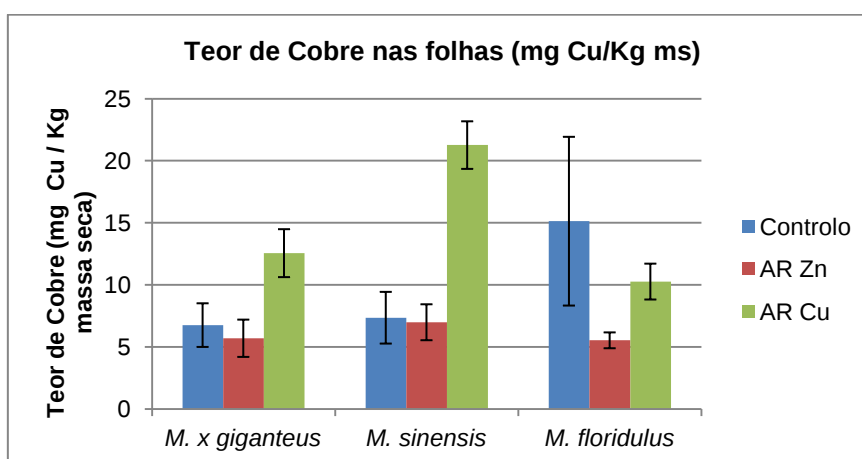


Figura 3.32 - Teor médio de cobre nas folhas de *Miscanthus* (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso das folhas é um pouco diferente do discutido anteriormente para os caules. O teor de cobre nas folhas, de forma geral, é maior do que aquele presente nos caules. São as plantas irrigadas com água residual rica em cobre que apresentam o teor mais elevado de cobre, seguindo-se as plantas controlo e as irrigadas com água residual rica em zinco, para os genótipos *Miscanthus x giganteus* e *sinensis*. No caso do *Miscanthus floridulus*, e tal como aconteceu nos caules, as plantas controlo são as que apresentam teor de cobre mais elevado, seguindo-se as plantas irrigadas com águas residuais ricas em cobre e zinco, respetivamente. O facto das folhas obtidas nos vasos regados com AR's ricas em cobre apresentarem maior teor em cobre, significa que estas plantas (sobretudo *M x giganteus* e *M. sinensis*), terem capacidade para extrair e absorver este elemento metálico mobilizando-o para as folhas, num processo que se pode considerar de fitorremediação (figura 3.32).

A tabela 3.34 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cobre na espiguetas. No caso da espiguetas, como as plantas do genótipo *Miscanthus floridulus* não possuem espiguetas, não irão ser discutidas.

Tabela 3.34 - Teor de Cobre na Espiguetas (mg Cu, kg ms).

	Controlo	AR Zn	AR Cu
<i>M. x giganteus</i>	1,85	5,32	3,01
<i>M. sinensis</i>	1,85	<LD	0,27
<i>M. floridulus</i>	*	*	*

Nota: como havia muito pouco material vegetal, foi efetuada apenas uma determinação. LD – Limite de deteção

* Não houve espiguetas nestes vasos.

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de cobre presente na espiguetas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,86$; ANOVA) nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,22$; ANOVA). Contudo é de referir que o teor de cobre mais elevado está registado para o *Miscanthus x giganteus*, irrigado com água residual rica em zinco (5,32). E o teor mais baixo de cobre observa-se para o *Miscanthus sinensis* irrigado com água residual rica em zinco (não foi detetado).

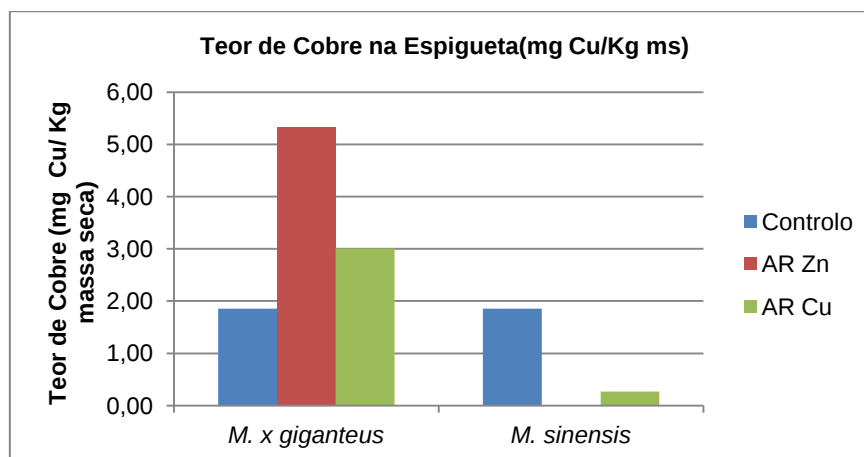


Figura 3.33 - Teor médio de cobre na espiguetas de *Miscanthus* (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

No caso da espiguetas, como as plantas do genótipo *Miscanthus floridulus* não possuem espiguetas, não irão ser discutidas. Em relação às plantas controlo, tanto para o *Miscanthus x giganteus* como para o *Miscanthus sinensis*, estas não apresentam diferenças significativas entre elas. No caso do *Miscanthus sinensis*, o teor de cobre não é detetado nas plantas irrigadas com água residual rica em zinco e as plantas irrigadas com água residual rica em cobre são as que apresentam o teor de cobre mais baixo. No caso do *Miscanthus x giganteus*, as plantas irrigadas com água

residual rica em zinco são as que apresentam teor mais elevado em cobre, seguindo-se as plantas irrigadas com água residual rica em cobre e as plantas controlo (figura 3.33).

A tabela 3.35 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cobre na manta morta.

Tabela 3.35 - Teor de Cobre na Manta Morta (mg Cu, kg⁻¹ ms).

	Controlo	AR'S Zn	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	11,5 ± 4,4	10,7 ± 8,1	248 ± 1
<i>M. sinensis</i>	10,3 ± 0,0	15,4 ± 0,0	415 ± 0
<i>M. floridulus</i>	9,7 ± 0,0	9,2 ± 2,9	147 ± 0

Verificam-se diferenças significativas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 8,68 \times 10^{-10}$; ANOVA), com a água residual rica em cobre a apresentar valores superiores à água residual rica em zinco e ao controlo, e com estes dois últimos tipos de irrigação a apresentarem valores iguais entre si (Teste T). Verificam-se diferenças significativas entre os diferentes genótipos (valor de $p = 1,13 \times 10^{-5}$; ANOVA), verificando-se que o *M. sinensis* é o genótipo que mais acumula cobre na manta morta quando os vasos são regados com AR's ricas em cobre. Contudo é de referir que o teor de cobre mais elevado está registado no *Miscanthus sinensis*, irrigado com água residual rica em cobre (415 ± 0). Também se observaram diferenças significativas no teor deste metal nas folhas (discutido anteriormente) e tendo em consideração que a manta morta analisada é constituída principalmente por folhas mortas, conclui-se que as diferenças encontradas no teor de cobre se devem à assimilação que a planta faz deste metal e também à sua presença no solo contido na manta morta e devido à contaminação com a água de rega.

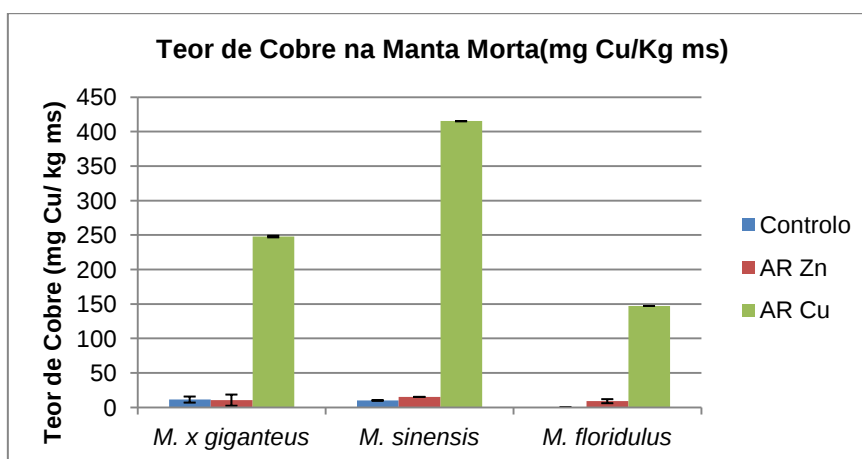


Figura 3.34 - Teor médio de cobre na manta morta de *Miscanthus* (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes tipos de irrigação.

As plantas irrigadas com água residual rica em zinco não apresentam diferenças significativas nos três genótipos em estudo. As plantas controlo também não apresentam diferenças significativas

entre genótipos. O teor de cobre registado para a manta morta obtida nos vasos com *M. sinensis* é superior ao verificado com o *M. x giganteus* e esse superior ao *M. floridulus* (figura 3.34).

A tabela 3.36 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cobre na biomassa não *Miscanthus*.

Tabela 3.36 - Teor de Cobre na Biomassa não *Miscanthus* (mg Cu, kg⁻¹ ms).

	Controlo	AR's Zn	AR's Cu
<i>M. x giganteus</i>	*	*	41,4 ± 0,0
<i>M. sinensis</i>	9,44 ± 0,01	29,8 ± 3,6	152 ± 0
<i>M. floridulus</i>	17,2 ± 0,1	27,3 ± 1,2	18,1 ± 0,0
<i>s/ plantas</i>	23,6 ± 0,1	*	85,0 ± 2,1

* Não houve biomassa não *Miscanthus* nestes vasos.

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas no teor de cobre da biomassa não *Miscanthus* entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 2,29 \times 10^{-12}$; ANOVA), obtendo-se valores mais elevados de cobre nos vasos regados com AR's de Cu. Não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes genótipos e os vasos sem plantas. Contudo é de referir que o teor de Cobre mais elevado está registado no *Miscanthus sinensis*, irrigado com água residual rica em cobre (152 ± 0). E o teor mais baixo de cobre observa-se para o *Miscanthus sinensis* controlo (9,44 ± 0,01).

A manta morta foi a fração que registou um maior teor de cobre, sendo a fração correspondente à espiguetta aquela que apresentou menor teor de cobre. Genericamente, observou-se um acréscimo de cobre com a rega com água residual rica em cobre, o que era esperado tal como aconteceu com o zinco.

3.3.2.5 Fibra Total

Para sabermos se a biomassa apresenta qualidade para ser processada e economicamente valorizada para a ser utilizada para a produção de energia e/ou pasta de papel, convém determinar o seu teor em fibra (Fernando, 2005).

Na tabela 3.37 são apresentados os valores médios, em percentagem, de lenhina, celulose, hemicelulose e fibra total dos três genótipos em estudo.

Tabela 3.37 – Teor de fibra e seus constituintes para cada genótipo para os diferentes tipos de irrigação (% , matéria seca).

	Genótipo	Controlo	AR's Zn	AR's Cu
Lenhina	<i>M. x giganteus</i>	54,8	59,3	62,3
	<i>M. sinensis</i>	52,7	52,7	52,7
	<i>M. floridulus</i>	56,4	57,1	52,5
Celulose	<i>M. x giganteus</i>	8,06	6,41	8,25
	<i>M. sinensis</i>	8,56	7,14	9,29
	<i>M. floridulus</i>	9,06	7,86	10,3
Hemiceluloses	<i>M. x giganteus</i>	28,8	22,5	20,9
	<i>M. sinensis</i>	26,3	27,8	25,6
	<i>M. floridulus</i>	25,3	30,0	32,3
Fibra total	<i>M. x giganteus</i>	91,7	88,2	91,4
	<i>M. sinensis</i>	87,6	87,6	87,6
	<i>M. floridulus</i>	90,7	94,9	95,1

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de fibra e seus constituintes entre os diferentes tipos de irrigação. Contudo é de referir que o teor de lenhina mais elevado é observado para o *Miscanthus x giganteus* irrigado com água residual rica em cobre (62,3). No caso da celulose, o genótipo que apresenta maior teor é o *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em cobre (10,3). Para as hemiceluloses, o teor mais elevado é observado no *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em cobre (32,3). Para a fibra total, o teor mais elevado é observado no *Miscanthus floridulus* irrigado com água residual rica em cobre (95,1).

O *Miscanthus floridulus* é o que apresenta valores mais elevados de fibra e seus constituintes exceto para a lenhina, onde é o *Miscanthus x giganteus* a apresentar valores mais elevados.

Na figura 3.35 observa-se a percentagem de fibra total para cada genótipo em estudo, independentemente do tipo de irrigação utilizado.

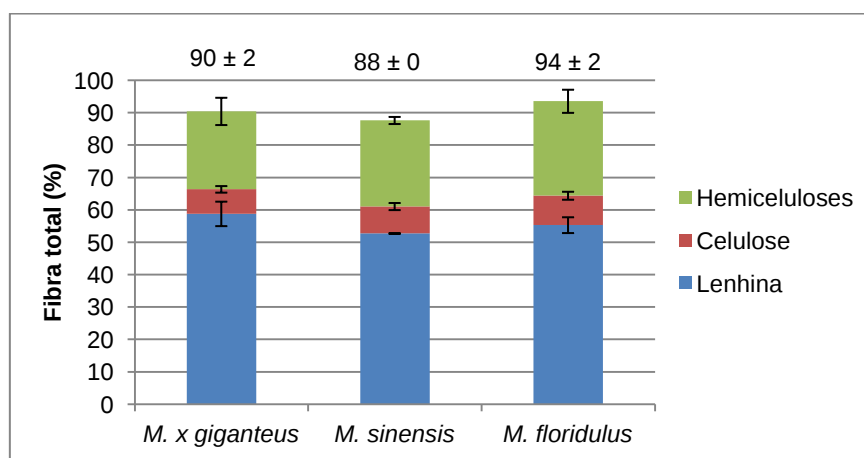


Figura 3.35 - Percentagem de fibra total para cada genótipo em estudo.

De acordo com a tabela 3.37 e a figura 3.35 concluiu-se que os genótipos não apresentam diferenças significativas para a lenhina, sendo o *Miscanthus x giganteus* aquele que apresenta a maior percentagem ($58,8 \pm 3,8$). Em relação à celulose, também não se verificam diferenças significativas entre genótipos, com o *Miscanthus floridulus* a apresentar a maior percentagem ($9,1 \pm 1,2$). Quanto às hemiceluloses, não são observadas diferenças significativas entre genótipos, sendo que o genótipo que apresentou maior percentagem de hemicelulose foi *Miscanthus floridulus* ($29,2 \pm 3,6$). Os três genótipos não apresentam diferenças significativas para a fibra total. Convém referir que o valor mais elevado foi registado para o *Miscanthus floridulus* ($93,6 \pm 2,5$) e que o genótipo *Miscanthus sinensis* foi o que registou o valor mais baixo ($87,6 \pm 0,0$).

A biomassa irrigada com água residual rica em zinco e cobre, com teores de fibra total na ordem dos 88% a 94%, poderá ser viável para a produção de pasta de papel. Contudo, apesar destes resultados se apresentarem muito atraentes para produção de pasta de papel é aconselhável realizar outros ensaios que confirmem estes resultados e utilizar processos químicos e termoquímicos que permitam comprovar a qualidade efetiva da biomassa para este tipo de utilização. Por outro lado, verifica-se que a maior parte da fibra é lenhina, o que para utilização para pasta para papel pode condicionar o seu uso.

3.4. Caracterização do Solo

3.4.1 Parâmetros físico-químicos

Na tabela 3.38 são apresentados os valores de pH e condutividade dos solos 0-20cm do ensaio.

Tabela 3.38 – Parâmetros físico-químicos do solo 0-20cm.

		pH	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)
Solo 0-20cm	Controlo	<i>M. x giganteus</i>	7,02
		<i>M. sinensis</i>	7,16
		<i>M. floridulus</i>	7,53
		S/plantas	7,02
	AR'S Zn	<i>M. x giganteus</i>	7,77
		<i>M. sinensis</i>	7,89
		<i>M. floridulus</i>	7,97
		S/plantas	7,67
	AR'S Cu	<i>M. x giganteus</i>	7,70
		<i>M. sinensis</i>	7,86
		<i>M. floridulus</i>	7,90
		S/plantas	7,59

Verificam-se diferenças significativas, em termos de pH, entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 7,13 \times 10^{-5}$, ANOVA), com as águas residuais a apresentarem valores iguais entre si e superiores ao controlo (Teste T). Não se verificam diferenças entre genótipos e vasos em plantas.

Como se observa na tabela 3.38, a utilização de água residual rica em metais pesados, principalmente o zinco, aumenta o pH da parte superior do solo. No caso dos vasos sem plantas, esse aumento não é tão elevado, de 7,02 (controlo) para 7,67 na utilização de água residual rica em zinco e de 7,02 (controlo) para 7,59 na utilização de água residual rica em cobre. No caso do *Miscanthus x giganteus*, o pH do solo superior é mais elevado para os vasos irrigados com água residual rica em zinco (7,77) do que nos irrigados com água residual rica em cobre (7,70) e ambos são mais elevados do que o controlo (7,02). O mesmo aconteceu para o *Miscanthus sinensis*, com valores de pH de 7,89 para água residual rica em zinco, 7,86 para água residual rica em cobre e 7,16 para o controlo; e para o *Miscanthus floridulus*, com valores de pH de 7,97 para água residual rica em zinco, 7,90 para água residual rica em cobre e 7,53 para o controlo.

No caso da condutividade não se observam diferenças significativas para os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,62$, ANOVA) nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,41$, ANOVA), mas há uma diminuição da condutividade dos vasos, com ou sem plantas, do controlo para os vasos irrigados com água residual rica em zinco, exceto para o genótipo *Miscanthus floridulus*, onde a condutividade do solo irrigado com água residual rica em zinco é superior (497) ao controlo (201). A irrigação com água residual rica em cobre aumenta a condutividade dos solos com *Miscanthus x giganteus* (156) e *Miscanthus sinensis* (88,3) em relação aos respetivos vasos controlo (122; 80,6). A condutividade do solo (0-20cm) no caso dos vasos sem plantas (157) e dos vasos com *Miscanthus floridulus* (128) diminui em relação aos respetivos controlos (675; 201).

Tabela 3.39 – Parâmetros físico-químicos do solo 20-40cm.

		pH	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Solo 20-40cm	Controlo	<i>M. x giganteus</i>	8,12
		<i>M. sinensis</i>	8,90
		<i>M. floridulus</i>	8,28
		S/plantas	7,73
	AR'S Zn	<i>M. x giganteus</i>	7,55
		<i>M. sinensis</i>	8,23
		<i>M. floridulus</i>	9,08
		S/plantas	8,42
	AR'S Cu	<i>M. x giganteus</i>	7,99
		<i>M. sinensis</i>	8,41
		<i>M. floridulus</i>	8,27
		S/plantas	8,27

Como se observa na tabela 3.39, não se verificam diferenças significativas no valor de pH, entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,96$, ANOVA) nem entre os diferentes genótipos e vasos sem plantas (valor de $p = 0,28$, ANOVA). A utilização de água residual rica em zinco, diminui o pH da parte inferior do solo dos vasos de *Miscanthus x giganteus* (7,55) em relação aos vasos controle (8,12) e dos vasos contendo *Miscanthus sinensis* (8,23), também em relação ao controle (8,90). No caso do *Miscanthus floridulus*, o pH do solo inferior aumenta com a utilização de água residual rica em zinco (9,08) para a irrigação em relação ao controle (8,28). Os vasos sem plantas têm o mesmo comportamento dos contendo *Miscanthus floridulus*, com valor de pH igual a 8,42 para os vasos irrigados com água residual rica em zinco e 7,73 para o controle.

Utilizando água residual rica em cobre na irrigação, apenas o pH dos solos inferiores dos vasos sem plantas aumentou (8,27) em relação ao controle (7,73).

No caso da condutividade não se observam diferenças significativas entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,74$, ANOVA) nem entre os diferentes genótipos em estudo (valor de $p = 0,32$, ANOVA), mas há uma diminuição da condutividade dos vasos, com ou sem plantas, controle para os vasos irrigados com água residual rica em zinco, exceto para o genótipo *Miscanthus sinensis*, onde a condutividade do solo irrigado com água residual rica em zinco é superior (55,6) ao controle (53,0). A irrigação com água residual rica em cobre aumenta a condutividade dos solos com *Miscanthus sinensis* (56,4) e *Miscanthus floridulus* (83,1) em relação aos respectivos vasos controle (53,0; 66,8). No caso do *Miscanthus x giganteus* (53,9) e vasos sem plantas (69,7), a condutividade do solo inferior diminui em comparação aos respectivos controles (90,3; 81,1).

3.4.2 Metais

Zinco

A tabela 3.40 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de zinco no solo.

Tabela 3.40 – Teor de Zinco no solo (mg Zn, kg⁻¹ ms).

	Controle	AR'S Zn
<i>M. x giganteus</i>	38,5 ± 4,7	375 ± 353
<i>M. sinensis</i>	31,2 ± 6,2	76,0 ± 39,4
<i>M. floridulus</i>	29,9 ± 6,1	89,2 ± 59,7
Solo	37,1 ± 0,2	356 ± 300

Não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor de zinco no solo entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,11$; ANOVA) nem entre os diferentes genótipos (valor de $p = 0,68$; ANOVA). No entanto, verifica-se uma tendência para um aumento do zinco no solo dos vasos irrigados com água residual rica em zinco (356 ± 300) face ao solo controle (37,1 ± 0,2) demonstrando assim que a irrigação com água residual rica em metais pesados, neste caso zinco, pode enriquecer os solos com poluentes (tabela 3.40). O solo dos vasos com *Miscanthus x giganteus*

irrigado com água residual rica em zinco são os que apresentam teor de zinco mais elevado (375 ± 353) (figura 3.36).

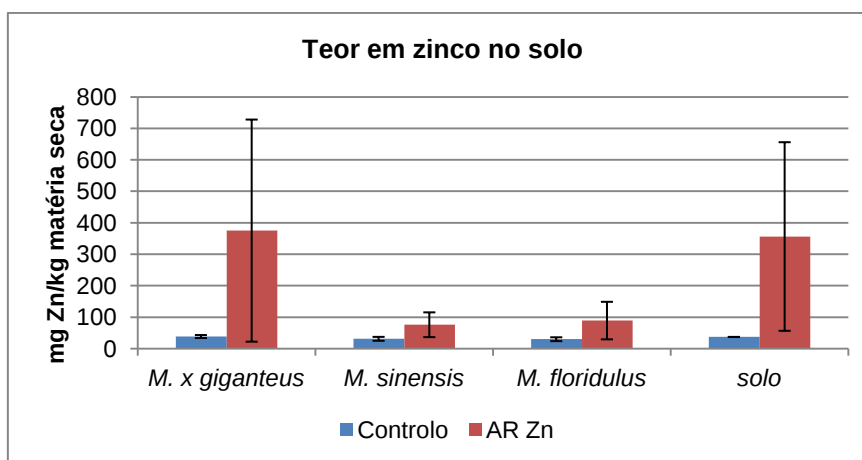


Figura 3.36 - Teor médio de Zinco no solo (mg Zn/ kg de matéria seca) para os diferentes genótipos.

Em relação ao zinco, não se observam diferenças significativas entre o solo do controlo com e sem plantas. Nem se encontram diferenças significativas entre o solo sem plantas e o solo com *Miscanthus x giganteus*, ambos irrigados com água residual rica em zinco; e ainda entre os solos com *Miscanthus sinensis* e *Miscanthus floridulus*. Todavia apresentam-se diferenças significativas entre o solo com *Miscanthus x giganteus* e o solo sem plantas, com conteúdo em zinco muito superior ao do solo com *Miscanthus sinensis* e *Miscanthus floridulus*.

Cobre

A tabela 3.41 apresenta os resultados obtidos no ensaio referente ao teor de cobre no solo.

Tabela 3.41 – Teor de Cobre no solo (mg Cu kg⁻¹, ms).

	Controlo	AR'S Cu
<i>M. x giganteus</i>	8,59 ± 0,19	14,9 ± 6,2
<i>M. sinensis</i>	7,13 ± 0,97	11,4 ± 0,2
<i>M. floridulus</i>	8,82 ± 0,12	12,4 ± 2,0
Solo	9,52 ± 0,14	11,6 ± 2,6

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas no teor de cobre no solo entre os diferentes tipos de irrigação (valor de $p = 0,03$; ANOVA), com os solos regados com a água residual rica em cobre a apresentar valores superiores aos solos do controlo. Não se verificam diferenças estatisticamente diferentes entre os diferentes genótipos e vasos sem plantas (valor de $p = 0,84$; ANOVA).

O solo sem plantas dos vasos irrigados com água residual rica em cobre apresenta um teor mais elevado de cobre ($11,6 \pm 2,6$) do que o solo controlo ($9,52 \pm 0,14$) demonstrando assim que a

irrigação com água residual rica em metais pesados, neste caso cobre, pode enriquecer os solos com poluentes (tabela 3.41 e figura 3.37).

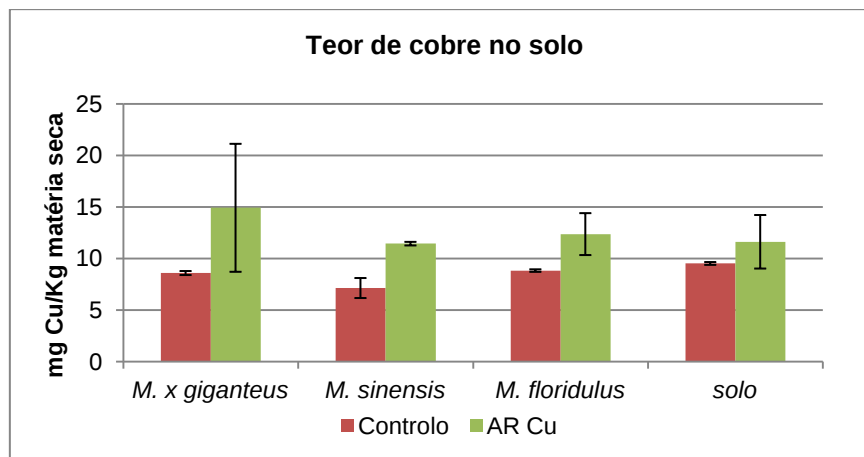


Figura 3.37 - Teor médio de Cobre no solo (mg Cu/ kg de matéria seca) para os diferentes genótipos.

CONCLUSÕES

A aplicação de águas residuais na irrigação dos três genótipos de *Miscanthus* (*Miscanthus x giganteus*, *Miscanthus sinensis* e *Miscanthus floridulus*), não afetou significativamente nem a qualidade nem a produtividade da biomassa. Nos três genótipos, a biomassa irrigada com águas residuais contaminados com zinco apresentou maior produtividade do que as plantas controle. Entre os genótipos, o *Miscanthus x giganteus* foi o mais produtivo, seguido por *Miscanthus floridulus*. O *Miscanthus sinensis* foi o genótipo menos produtivo. Durante todo o ensaio, foi possível observar que a aplicação das águas residuais, nomeadamente a água residual rica em zinco, aumentou, apesar de não ser significativo, a produtividade da biomassa. Foi também possível observar que a biomassa irrigada com água residual apresentou menor teor de cinzas, o que pode ser uma mais-valia se a biomassa for utilizada para queima para a produção de energia. Se for esse o caso há que ter em atenção que o teor de azoto e fósforo na biomassa aumentou naquelas irrigadas com água residual.

O sistema solo-*Miscanthus* realizou 88-96% de remoção de zinco e 98% de remoção de cobre das águas residuais. O solo *per se* removeu 93% de zinco e 79% de cobre das águas residuais, mostrando que a irrigação com águas residuais deve ser claramente controlada, a fim de evitar impactos negativos no meio ambiente, por exemplo, contaminação dos lençóis freáticos. Pode-se então afirmar que os três genótipos de *Miscanthus* apresentam potencial de fitorremediação, mais evidente para o cobre do que para o zinco.

Futuramente, o uso de águas residuais para a irrigação desta cultura energética poderá ser uma boa medida de sustentabilidade na agricultura pois há uma poupança de um dos recursos mais importantes e escassos, a água, não afetando nem a qualidade nem a produtividade da cultura.

BIBLIOGRAFIA

- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A. e Dauvillier, P. (2000) *Análisis nutricional de los alimentos*. Tradução espanhola. Editorial Acribia, S.A., Saragoça, Espanha.
- Ali, H., Khan, E., Sajad, M. A. (2013). Review - Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. *Chemosphere*, 91, pp 869 – 881.
- Amaro, S., Ribeiro, L., Paralta, E., Pinto, F.C. (2006). Aplicação De Efluentes De Suiniculturas Como Fertilizantes Na Agricultura: Impacto Na Qualidade Dos Meios Hídricos, Um Caso De Estudo Em Santiago Do Cacém, *Alentejo*, 8º congresso da água, Água, sede de Sustentabilidade, 13-17 de Março de 2006, Figueira da Foz, pp 1-9.
- AOAC (1990) *Official Methods of Analysis. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs*. Volume I, 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, EUA, pp 1213.
- APHA, AWWA e WPCF (1985) *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 16th Ed. American Public Health Association, American Water Works Association e Water Pollution Control Federation, Washington D.C., EUA, pp 1268.
- Arduini, I., Masoni, A., Ercoli, L. (2006). Effects of high chromium applications on *Miscanthus* during the period of maximum growth. *Environmental and Experimental Botany*, 58, pp 234–243.
- Baum, C., Hryniewicz, K., Leinweber, P., Meißner, R. (2006). Heavy-metal mobilization and uptake by mycorrhizal and nonmycorrhizal willows (*Salix x dasyclados*). *J Plant Nutr Soil Sci* 169, pp 516–522.
- Beltrão, J., Oron, G., Faleiro, M. L., Domingos, H., Brito, J. C. (1995). Rega com águas residuais parcialmente tratadas – Um projeto para o desenvolvimento do Algarve. 8º Congresso do Algarve.
- Bezergianni, S., Dimitriadis, A. (2013). Reviews - Comparison between different types of renewable diesel. *Renewable and Sustainable Energy*, 2, pp 110–116.
- Biewinga, E. and van der Bijl, G. (1996) *Sustainability of energy crops in Europe. A methodology developed and applied*, Centre for Agriculture and Environment, Utrecht, February, CLM 234, pp 209.
- Boehmel, C., Lewandowski, I., Claupein, W. (2006). Comparing annual and perennial energy cropping systems with different management intensities. *Agricultural Systems*, 28, pp 224 – 236.
- Börjesson, P., Berndes, G. (2006). The prospects for willow plantations for wastewater treatment in Sweden. *Biomass and Bioenergy*, 30, pp 428 – 438.
- Brosse, N., Dufour, A., Meng, X., Sun, Q., Ragauskas, A. (2012). Review - *Miscanthus*: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, pp 1 - 19.
- Butler, E., Devlin, G., Meier, D., McDonnell, K. (2013). Characterisation of spruce, salix, *Miscanthus* and wheat straw for pyrolysis applications. *Bioresource Technology*, 131, pp 202 –209.
- Cadoux, S., Riche, A., Yates, N., Machet, JM. (2012). Nutrient requirements of *Miscanthus x giganteus*: Conclusions from a review of published studies. *Biomass and Bioenergy*, 38, pp 14 - 22.
- Christian, D.G., Poulton, P.R., Riche, A.B., Yates, N.E., Todd, A.D. (2006). The recovery over several seasons of 15N-labelled fertilizer applied to *Miscanthus x giganteus* ranging from 1 to 3 years old. *Biomass and Bioenergy*, 30, pp 125 - 133.

- Christian, D.G., Riche, A.B., Yates, N.E. (2008). Growth, yield and mineral content of *Miscanthus × giganteus* grown as a biofuel for 14 successive harvests. *Industrial Crops and Products*, 28, pp 320 – 327.
- Clifton-Brown, J. C., Lewandowski, Andersson B., Basch, G., Christian D., Kjeldsen, J., Jørgensen, U., Mortensen, J., Riche, A., Schwarz, K., Tayebi K., Teixeira F. (2001). Performance of 15 *Miscanthus* genotypes at five sites in Europe. *Agronomy Journal*, 93, pp 1013 – 1019.
- Clifton-Brown, J. C., Lewandowski, I., Bangerth, F. and Jones, M. B. (2002). Comparative responses to water stress in stay-green, rapid- and slow senescing genotypes of the biomass crop, *Miscanthus*. *New Phytologist*, 154, 2, pp 335 – 345.
- Clifton-Brown, J.C., Breuer, J., Jones, M.B. (2007). Carbon mitigation by the energy crop, *Miscanthus*. *Global Change Biology*, 13, pp 2296 – 2307.
- Cosentino, S., Patan, C., Sanzone, E., Copani, V., Foti, S. (2007). Effects of soil water content and nitrogen supply on the productivity of *Miscanthus × giganteus* Greef et Deu. in a Mediterranean environment. *Industrial Crops and Products*, 25, pp 75 – 88.
- Danalatos, N.G., Archontoulis, S.V., Mitsios, I. (2007). Potential growth and biomass productivity of *Miscanthus × giganteus* as affected by plant density and N fertilization in central Greece. *Biomass and Bioenergy*, 31, pp 145 – 152.
- De Vetter, L., Depaetere, G., Janssen, C., Stevens, M., Van Acker, J. (2008). Methodology to assess both the efficacy and ecotoxicology of preservative treated and modified wood. *Ann. For. Sci.*, 65, 504.
- Decreto-lei nº 236/98 (1998) *Normas, critérios e objetivos de qualidade com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos*, Diário da República nº 176, I Série-A, 1 de Agosto 1998, pp 3676-3722.
- Dimitriou, I., Rosenqvist H. (2011). Sewage sludge and wastewater fertilization of Short Rotation Coppice (SRC) for increased bioenergy production biological and economic potential. *Biomass and Bioenergy*, 35, pp 835-842.
- Dyckhoff, C., Halliwell, L., Haynes, R. e Watts, S. (1996) Sampling. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 31-66.
- El Bassam, N. (2010) *Handbook of Bioenergy Crops: A Complete Reference to Species, Development and Applications*. London, United Kingdom: Earthscan, Ltd 516 p.
- EN ISO 6887-1 (1999) *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 1. General rules for the preparation of the initial suspension and decimal solutions*.
- Ercoli, L., Mariotti, M., Masoni, A., Bonari, E. (1999). Effect of irrigation and nitrogen fertilization on biomass yield and efficiency of energy use in crop production of *Miscanthus*. *Field Crops Research*, 63, pp 3 - 11.
- Fernando, A. L. (2005). *Fitorremediação por Miscanthus x giganteus de solos contaminados com metais pesados*. Dissertação de Doutoramento, Faculdade de Ciências e Tecnologia / Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 502 p.
- Fernando, A., Oliveira, J. S. (2004). Effects on growth, productivity and biomass quality of *Miscanthus × giganteus* of soils contaminated with heavy metals. *2nd World Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection*, 10 - 14 May 2004, Rome, Italy, pp 387 – 390.
- Huang, C., Liao, W., Lai, Y. (2011). Cultivations studies of Taiwanese native *Miscanthus floridulus* lines. *Biomass and Bioenergy*, 35, pp 1873- 1877.

- ISO 5664 (1984) *Water quality – Determination of ammonium – Distillation and titration method.*
- ISO 6222 (1999) *Water Quality – Enumeration of culturable micro-organisms – Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium.*
- ISO 6777 (1984) *Water quality – Determination of nitrite – Molecular absorption spectrometric method.*
- ISO 6878-1 (1986) *Water quality – Determination of phosphorus – Part 1: Ammonium molybdate spectrometric method.*
- ISO 7888 (1985) *Water quality – Determination of electrical conductivity.*
- ISO 8199 (2005) *Water quality – General guide to the enumeration of microorganism by culture.*
- ISO 8288 (1986) *Water quality – Determination of cobalt, nickel, copper, zinc, cadmium and lead – Flame atomic absorption spectrometric methods.*
- ISO/TC 11133-1 (2000) *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 1. General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory microorganisms by culture.*
- ISO/TC 11133-2 (2003) *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2. Practical guidelines on performance testing of culture media.*
- Jenkins, P., Southern, T., Truesdale, V., e Jeary, A. (1996) Waters. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds). *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 305-350.
- Kahle, P., Beuch, S., Boelcke, B., Leinweber, P., Schulten, H. (2001). Cropping of *Miscanthus* in Central Europe: biomass production and influence on nutrients and soil organic matter. *European Journal of Agronomy*, 15, pp 171 – 184.
- Kao, w., Tsai, T., Chen, W. (1998). Response of photosynthetic Gas Exchange and Chlorophyll a fluorescence of *Miscanthus floridulus* (Labill) Warb. to temperature and irradiance. *Journal of plant Physiology*, 152, pp 407 - 412.
- Lewandowski, I., Clifton-Brown, J. C., Andersson, B., Basch, G., Christian, D. G., Jørgensen, U., Jones, M. B., Riche, A. B., Schwarz, K. U., Tayebi, K. and Teixeira, F. (2003). Environment and harvest time affects the combustion qualities of *Miscanthus* genotypes. *Agronomy Journal*, 95, pp 1274 – 1280.
- Lewandowski, I., Clifton-Brown, J.C., Scurlock, J.M.O., Huisman, W. (2000). *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop. *Biomass and Bioenergy*, 19, pp 209 - 227.
- Lewandowski, I., Heinz, A. (2003). Delayed harvest of *Miscanthus* - influences on biomass quantity and quality and environmental impacts of energy production. *European Journal of Agronomy*, 19, pp 45 – 63.
- Lewandowski, I., Schmidt, U. (2006). Nitrogen, energy and land use efficiencies of *Miscanthus*, reed canary grass and triticale as determined by the boundary line approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 112, 335 – 346.
- Lewandowski, I., Scurlock, J., Lindvall, E., Christou, M. (2003). The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass and Bioenergy*, 25, pp 335 – 361.
- Merta, I., Tschegg, E.K. (2013). Fracture energy of natural fiber reinforced concrete. *Construction and Building Materials*, 40, pp 991 – 997.

- Monte, H. M., Albuquerque, A., *Reutilização de Águas Residuais*, Séries de Guias técnicos 14, Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa (editores), 2010, 319 p.
- NP 1828 (1982) *Microbiologia Alimentar. Colheita de amostras para análise microbiológica*.
- NP 1829 (1982) *Microbiologia Alimentar. Preparação da amostra para análise microbiológica*.
- NP 2079 (1989) *Microbiologia Alimentar. Regras gerais para análise microbiológica*.
- Richter, G.M., Riche, A.B., Dailey, A.G., Gezan, S.A., Powlson, D.S. (2008). Is IK biofuel supply from *Miscanthus* water-limited? *Soil Use Manage*, 24, pp 235 – 245.
- Silva, C.G., Grelier, S., Pichavant, F., Frollini, E., Castellan, A. (2013). Adding value to lignins isolated from sugarcane bagasse and *Miscanthus*. *Industrial Crops and Products*, 42, pp 87 – 95.
- Strullu, L., Cadoux, S., Preudhomme, M., Jeuffroy, M-H., Beaudoin, N. (2011). Biomass production and nitrogen accumulation and remobilization by *Miscanthus* × *giganteus* as influenced by nitrogen stocks in belowground organs. *Field Crops Research*, 121, pp 381 – 391.
- Suzuki, K., Waki, M., Yasuda, T., Fukumoto, Y., Kuroda, K., Sakai, T., Suzuki, N., Suzuki, R., Matsuba, K. (2010). Distribution of phosphorus, copper and zinc in activated sludge treatment process of swine wastewater - Short Communication. *Bioresource Technology*, 101, pp 9399 – 9404.
- Técher, D., Laval-Gilly, P., Bennasroune, A., Henry, S., Martinez-Chois, C., D’Innocenzo, M., Falla, J. (2012). An appraisal of *Miscanthus* × *giganteus* cultivation for fly ash revegetation and soil restoration. *Industrial Crops and Products*, 36, pp 427 - 433.
- Tzanakakis, V.A., Paranychianakis, N.V., Londra, P.A., Angelakis, A.N. (2011). Effluent application to the land: Changes in soil properties and treatment potential. *Ecological Engineering*, 37, pp 1757 – 1764.
- Vandecasteele, C., Block, C.B. (1993). *Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley & Sons, Chichester, Reino Unido, pp 330.
- Vanderghem, C., Richel, A., Jacquet, N., Blecker, C., Paquot, M. (2011). Impact of formic/acetic acid and ammonia pre-treatments on chemical structure and physico-chemical properties of *Miscanthus* × *giganteus* lignins. *Polymer Degradation and Stability*, 96, pp 1761 - 1770.
- Wanat, N., Austruy, A., Joussein, E., Soubrand, M., Hitmi, A., Gauthier-Moussard, C., Lenain, J.F., Vernay, P., Munch, J.C., Pichon, M. (2013). Potentials of *Miscanthus* × *giganteus* grown on highly contaminated Technosols. *Journal of Geochemical Exploration*, 126 – 127, pp 78 – 84.
- Watanabe, F.S., Olsen, S.R. (1965). Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO₃ extracts from the soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 29, pp 677 - 78.
- Watts, S., Halliwell, L. (1996). Appendix 3 - Detailed field and chemical methods for soil. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 475-505.
- Xu, W., Zhang, X., Huang, L., Nie, G., Wang, J. (2013). Higher genetic diversity and gene flow in wild populations of *Miscanthus sinensis* in southwest China. *Biochemical Systematics and Ecology*, 48, pp 174 – 181.
- Ye, D., Montané, D., Farriol, X. (2005). Preparation and characterization of methylcelluloses from *Miscanthus sinensis*. *Carbohydrate Polymers*, 62, pp 258 – 266.

- Zema, D., Bombino, G., Andiloro, S., Zimbone, S. (2012). Irrigation of energy crops with urban wastewater: Effects on biomass yields, soils and heating values. *Agricultural Water Management*, 115, pp 55 - 65.
- Zub, H.W., Arnoult, S., Brancourt-Hulmel, M. (2011). Key traits for biomass production identified in different *Miscanthus* species at two harvest dates. *Biomass and Bioenergy*, 35, pp 637 - 651.