



**NOVA**

NOVA SCHOOL OF  
SCIENCE & TECHNOLOGY

**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
DA BIOMASSA**

**BRUNO MIGUEL NUNES GOMES**

Licenciado em Química

**Produção de culturas oleaginosas para energia em solos  
contaminados com metais pesados**

Produção de *Camelina sativa* (L) Crantz em solos contaminados com Zn, Pb, Ni e Cd

**MESTRADO EM BIOENERGIA**

Universidade NOVA de Lisboa

Março, 2022





## Produção de culturas oleaginosas para energia em solos contaminados com metais pesados

Produção de *Camelina sativa* (L) Crantz em solos contaminados com Zn, Pb, Ni e Cd

**BRUNO MIGUEL NUNES GOMES**

Licenciado em Química

**Orientador:** Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,  
Professora Associada, FCT NOVA

**Coorientador:** Leandro A. Gomes,  
Bolsheiro de doutoramento, FCT NOVA

### **Júri:**

**Presidente:** Prof. Doutora Maria Margarida Boavida Pontes  
Gonçalves, FCT NOVA

**Arguentes:** Prof. Doutor Fernando Jorge Gomes da Costa,  
ISEC

**Vogais:** Prof. Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,  
FCT NOVA



**Produção de culturas oleaginosas para energia em solos contaminados com metais pesados**

“Copyright” © Bruno Miguel Nunes Gomes, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Universidade Nova de Lisboa.

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.

# Agradecimentos

No final desta etapa da minha vida acadêmica não posso deixar de pensar que todas as conquistas e sucesso que obtive deveram-se em grande parte às pessoas que me acompanharam e que, de uma forma ou de outra, me ajudaram a superar todo o tipo de obstáculos e adversidades que tive de enfrentar. Mencionei apenas quem esteve mais presente, mas a todos que me possibilitaram estar hoje onde estou e ser a pessoa quem sou o meu mais sincero obrigado!!

Aos meus pais, irmão, avó e restante família, por sempre estarem presentes em todas as etapas apoiando-me incondicionalmente e por me terem proporcionado a oportunidade de poder estar a escrever esta tese. Os valores que levo em mim para a vida devem-se a vocês por isso pelo que me transmitiram e por todo o amor e carinho agradeço do fundo do coração.

À minha orientadora, a Professora Ana Luísa Fernando um grande obrigado pelo apoio, disponibilidade, paciência e força dados durante o meu percurso. Apesar de algumas dificuldades sentidas a Professora esteve sempre pronta para me ouvir e disponível para ajudar e agradeço-lhe imenso por isso.

Ao Leandro, pela orientação dada no laboratório, pela ajuda nos problemas encontrados, pela amizade e boa disposição. A presença do Leandro foi sem dúvida fundamental para a definição do meu bom percurso neste mestrado e pela conclusão do mesmo. Muito obrigado! E se trabalhei feliz no laboratório foi sem dúvida também devido a ti.

Aos restantes membros do laboratório, Beatriz, Carolina, Joana, Marcelo, Francisco, João, agradeço-vos também pela amizade, carinho e por estarem sempre prontos a ajudar, em especial à Joana que esteve comigo desde o início do mestrado e teve sempre muita paciência para as minhas dúvidas mas que nunca se recusou a ajudar.

À Vanessa, a melhor amiga que alguém pode ter, pela força, motivação, paciência e sobretudo pela amizade e carinho que me deu desde o início da minha vida universitária e que foi muitas vezes a principal razão para o sucesso nas minhas etapas. Apoiaste-me sempre que precisei e não tenho palavras para te agradecer tudo o que fizeste por mim! Obrigado!



À Matilde por sempre me tentar colocar algum juízo na cabeça e por também nunca me ter deixado de apoiar sempre que necessitei. Apesar de sermos dois insensíveis sabes o quanto significas para mim e pela amizade, motivação e por seres também um pilar na minha vida académica e pessoal muito obrigado!

À Mariana por sempre estar disponível para me ajudar, apoiar e ouvir os meus problemas e que mesmo após a licenciatura esteve sempre do meu lado quando precisei mostrando que mais do que madrinha de faculdade, é uma verdadeira amiga! Obrigado madri!

A todos os meus amigos do coração e que contribuíram para que eu pudesse alcançar o meu sonho, Filipa, Sofia, Chico, Bernardo, David, André N., André S., Ricardo, Tiago, Rúben, Francisco, e a tantos outros que diariamente me fazem sentir verdadeiramente feliz agradeço-vos por tudo o que fizeram por mim e pelos amigos que são!!

## Resumo

Atualmente o contexto energético mundial tem por base a utilização de combustíveis fósseis e outro tipo de fontes de energia consideradas não renováveis. Tendo por base um modelo de desenvolvimento sustentável, muito devido às alterações climáticas e poluição ambiental que se fazem sentir, a contínua exploração destas matérias-primas torna-se inviável para as gerações futuras havendo a necessidade de desenvolver modelos e estratégias alternativas. Uma dessas estratégias passa pela utilização de culturas biológicas com o objetivo de produção energética através de diferentes processos de conversão. A *Camelina Sativa* (L.) Crantz é uma cultura oleaginosa que apresenta características apreciáveis para bioenergia, tais como o seu baixo consumo de nutrientes e elevada adaptabilidade a condições adversas. Em junção a estas características a *Camelina Sativa* (L.) Crantz revela também propriedades acumuladoras exibindo potencial fitorremediador de metais pesados presentes no solo. Desta forma o trabalho realizado visou a investigação destas propriedades de hiperacumulação em solos contaminados com Zn (450 e 900 mg/kg), Pb (450 e 900 mg/kg), Ni (450 e 900 mg/kg) e Cd (450 e 900 mg/kg), com a respetiva avaliação e análise da quantidade e qualidade de biomassa produzida pela espécie. Os ensaios foram realizados em vasos com o respetivo controlo das condições de cultivo. Ocorreram quebras de produtividade em todas as contaminações, comparativamente aos ensaios de controlo demonstrando que a presença de cada um dos metais em estudo afetou negativamente a produção de biomassa. A presença destes metais na planta também induziu uma maior quantidade de cinzas produzidas pela sua biomassa. Não houve impactos significativos na absorção dos nutrientes por parte da espécie, exceto no ensaio Pb 450 para a variedade Midas e nos ensaios de Ni e Cd para a variedade Luna. A *Camelina Sativa* (L.) Crantz revelou grande potencial hiperacumulador de cada um dos tipos de metais, armazenando-os maioritariamente no seu sistema radicular.

Palavras-chave: *Camelina Sativa* (L.) Crantz; culturas energéticas; bioenergia; solos contaminados; metais pesados; zinco; chumbo; níquel; cádmio;



## Abstract

Currently, the world energy context is based on the use of fossil fuels and other types of energy sources considered non-renewable. Based on a model of sustainable development, largely due to climate change and environmental pollution that are felt, the continuous exploitation of these raw materials becomes unfeasible for future generations, with the need to develop alternative models and strategies. One of these strategies involves the use of biological crops for the purpose of energy production through different conversion processes. *Camelina Sativa* (L.) Crantz is an oilseed crop that presents considerable characteristics for bioenergy such as, its low consumption of nutrients and high adaptability to adverse conditions. In addition to these characteristics, *Camelina Sativa* (L.) Crantz also reveals accumulating properties showing phytoremediation potential of heavy metals present in the soil. Thus, the work carried out aimed at investigating these hyperaccumulation properties in soils contaminated with Zn (450 and 900 mg/kg), Pb (450 and 900 mg/kg), Ni (450 and 900 mg/kg) and Cd (450 and 900 mg/kg). 900 mg/kg), with the respective evaluation and analysis of the quantity and quality of biomass produced by the species. The assays were carried out in pots with the respective control of the cultivation conditions. Productivity drops occurred in all contaminations, compared to the control tests, demonstrating that the presence of each of the metals under study negatively affected the biomass production. The presence of these metals in the plant also induced a greater amount of ash produced by its biomass. There were no significant impacts on the absorption of nutrients by the species, except in the Pb 450 assay for the Midas variety and in the Ni and Cd assays for the Luna variety. *Camelina Sativa* (L.) Crantz showed great potential for hyperaccumulating each of the types of metals, storing them mainly in its root system.

**Keywords:** *Camelina Sativa* (L.) Crantz; energy crops; bioenergy; contaminated soils; heavy metals; zinc; lead; nickel; cadmium;

# Índice geral

1.	INTRODUÇÃO.....	1
1.1.	CULTURAS ENERGÉTICAS .....	1
1.1.1.	<i>Definição, tipos de culturas e principais aplicações energéticas.....</i>	<i>1</i>
1.1.2.	<i>Caracterização da espécie Camelina sativa (L.) Crantz .....</i>	<i>3</i>
1.2.	CONTAMINAÇÃO DE SOLOS COM METAIS PESADOS .....	6
1.2.1.	<i>Problemática associada à ocupação de solos para fins energéticos.....</i>	<i>6</i>
1.2.2.	<i>Metais pesados.....</i>	<i>7</i>
1.3.	FITORREMEDIAÇÃO .....	11
1.3.1.	<i>O que é a fitorremediação? .....</i>	<i>11</i>
1.3.2.	<i>Desafios inerentes à fitorremediação – definição de espécies hiperacumuladoras.....</i>	<i>13</i>
1.3.3.	<i>Utilização de culturas energéticas para fitorremediação .....</i>	<i>14</i>
2.	OBJETIVOS DO TRABALHO.....	16
3.	METODOLOGIA.....	17
4.	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS EXPERIMENTAIS .....	22
4.1.	CARACTERIZAÇÃO DO SOLO.....	22
4.2.	CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA .....	23
4.2.1.	<i>Parâmetros biométricos .....</i>	<i>23</i>
4.2.2.	<i>Parâmetros físico-químicos .....</i>	<i>39</i>
5.	CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS .....	72
6.	BIBLIOGRAFIA .....	75

## Índice de figuras

FIGURA 1.1 ILUSTRAÇÃO DA MORFOLOGIA DA ESPÉCIE CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ.....	5
FIGURA 1.2 ESPÉCIE CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ .....	5
FIGURA 1.3. DIFERENTES SUB-PROCESSOS DE FITORREMEDIAÇÃO QUE PODEM EXISTIR NA PLANTA[40].....	12
FIGURA 1.4. TÉCNICAS DE RECOMBINAÇÃO GÊNICA, FITORREMEDIAÇÃO COM MICROORGANISMOS E FITORREMEDIAÇÃO COM AUXÍLIO DE AGENTES DE QUELAÇÃO[36] .....	14
FIGURA 3.1. ESQUEMA DE MONTAGEM DOS ENSAIOS DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ, COMUM A AMBAS AS VARIEDADES (LUNA E MIDAS).....	20
FIGURA 4.1. ALTURA ATINGIDA PELA MAIOR PLANTA DA VARIEDADE MIDAS, EM CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	24
FIGURA 4.2. ALTURA ATINGIDA PELA MAIOR PLANTA DA VARIEDADE LUNA, EM CADA TIPO DE COMTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	24
FIGURA 4.3. PRODUTIVIDADE DAS RAÍZES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	26
FIGURA 4.4. PRODUTIVIDADE DAS RAÍZES DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	26
FIGURA 4.5. PRODUTIVIDADES DOS CAULES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	29
FIGURA 4.6. PRODUTIVIDADES DOS CAULES DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	29
FIGURA 4.7. PRODUTIVIDADE DAS SEMENTES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	32
FIGURA 4.8. PRODUTIVIDADE DA BIOMASSA AÉREA DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	33
FIGURA 4.9. PRODUTIVIDADE DA BIOMASSA AÉREA DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	33
FIGURA 4.10. COMPARAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE BIOMASSA PRODUZIDA PELO SISTEMA RADICULAR E A BIOMASSA PRODUZIDA PELA PARTE AÉREA (EXPRESSAS EM % RELATIVAMENTE AO TOTAL) PARA A VARIEDADE MIDAS EM FUNÇÃO DO TIPO DE CONTAMINAÇÃO .....	37
FIGURA 4.11. COMPARAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE BIOMASSA PRODUZIDA PELO SISTEMA RADICULAR E A BIOMASSA PRODUZIDA PELA PARTE AÉREA (EXPRESSAS EM % RELATIVAMENTE AO TOTAL) PARA A VARIEDADE LUNA EM FUNÇÃO DO TIPO DE CONTAMINAÇÃO .....	38

FIGURA 4.12. COMPARAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE BIOMASSA PRODUZIDA PELAS SEMENTES E A BIOMASSA PRODUZIDA PELOS CAULES (EXPRESSAS EM % RELATIVAMENTE À PARTE AÉREA) PARA A VARIEDADE MIDAS, EM FUNÇÃO DO TIPO DE CONTAMINAÇÃO .....	39
FIGURA 4.13. TEOR DE CINZAS NAS RAÍZES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	40
FIGURA 4.14. TEOR DE CINZAS NAS RAÍZES DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	41
FIGURA 4.15. TEOR DE CINZAS NOS CAULES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	42
FIGURA 4.16. TEOR DE CINZAS NOS CAULES DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	43
FIGURA 4.17. TEOR DE CINZAS NAS SEMENTES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	44
FIGURA 4.18. TEOR DE AZOTO NAS RAÍZES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	46
FIGURA 4.19. TEOR DE AZOTO NAS RAÍZES DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	46
FIGURA 4.20. TEOR DE AZOTO NOS CAULES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	47
FIGURA 4.21. TEOR DE AZOTO NOS CAULES DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	48
FIGURA 4.22. TEOR DE AZOTO NAS SEMENTES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	49
FIGURA 4.23. CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO NAS RAÍZES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	51
FIGURA 4.24. CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO NAS RAÍZES DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	51
FIGURA 4.25. CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO NOS CAULES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	52
FIGURA 4.26. CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO NOS CAULES DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	53
FIGURA 4.27. CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO NAS SEMENTES DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	54
FIGURA 4.28. TEOR DE ZINCO NAS ESTRUTURAS DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	56
FIGURA 4.29. TEOR DE ZINCO NAS ESTRUTURAS DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO.....	56

FIGURA 4.30 TEOR DE CHUMBO NAS ESTRUTURAS DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	60
FIGURA 4.31. TEOR DE CHUMBO NAS ESTRUTURAS DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	60
FIGURA 4.32 TEOR DE NÍQUEL NAS ESTRUTURAS DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	64
FIGURA 4.33. TEOR DE NÍQUEL NAS ESTRUTURAS DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	64
FIGURA 4.34 TEOR DE CÁDMIO NAS ESTRUTURAS DA VARIEDADE MIDAS, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	68
FIGURA 4.35. TEOR DE CÁDMIO NAS ESTRUTURAS DA VARIEDADE LUNA, PARA CADA TIPO DE CONTAMINAÇÃO, E RESPETIVOS DESVIOS-PADRÃO .....	68

## Índice de tabelas

TABELA 1.1. CONCENTRAÇÃO MÁSSICA DE CÁDMIO ENCONTRADA EM PLANTAS DE LOCAIS CONTAMINADOS .....	8
TABELA 1.2. CONCENTRAÇÃO MÁSSICA DE COBRE ENCONTRADA EM PLANTAS DE LOCAIS CONTAMINADOS .....	8
TABELA 1.3. CONCENTRAÇÃO MÁSSICA DE CHUMBO ENCONTRADA EM PLANTAS DE LOCAIS CONTAMINADOS .....	9
TABELA 1.4. CONCENTRAÇÃO MÁSSICA DE NÍQUEL ENCONTRADA EM PLANTAS DE LOCAIS CONTAMINADOS .....	10
TABELA 3.1 MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS NA DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO DO SOLO .....	18
TABELA 3.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS AVALIADOS E RESPECTIVA METODOLOGIA UTILIZADA .....	21
TABELA 4.1 PARÂMETROS ASSOCIADOS À CARACTERIZAÇÃO INICIAL DO SOLO UTILIZADO E RESPECTIVOS VALORES OBTIDOS .....	22
TABELA 4.2 INDÍCE DE TOLERÂNCIA, PARA AMBAS AS VARIEDADES, CONSOANTE O TIPO DE CONTAMINAÇÃO .....	36
TABELA 4.3 IA DAS VARIEDADES DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ PARA CADA UMA DAS CONTAMINAÇÕES DE ZINCO .....	58
TABELA 4.4 FT DAS VARIEDADES DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ PARA CADA UMA DAS CONTAMINAÇÕES DE ZINCO .....	59
TABELA 4.5 IA DAS VARIEDADES DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ PARA CADA UMA DAS CONTAMINAÇÕES DE CHUMBO .....	62
TABELA 4.6 FT DAS VARIEDADES DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ PARA CADA UMA DAS CONTAMINAÇÕES DE CHUMBO .....	63
TABELA 4.7 IA DAS VARIEDADES DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ PARA CADA UMA DAS CONTAMINAÇÕES DE NÍQUEL .....	65
TABELA 4.8 FT DAS VARIEDADES DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ PARA CADA UMA DAS CONTAMINAÇÕES DE NÍQUEL .....	66
TABELA 4.9 IA DAS VARIEDADES DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ PARA CADA UMA DAS CONTAMINAÇÕES DE CÁDMIO .....	69
TABELA 4.10 FT DAS VARIEDADES DA CAMELINA SATIVA (L.) CRANTZ PARA CADA UMA DAS CONTAMINAÇÕES DE CÁDMIO .....	70



# 1. Introdução

## 1.1. Culturas energéticas

### 1.1.1. Definição, tipos de culturas e principais aplicações energéticas

Atualmente o sistema de energia global assenta no uso de combustíveis fósseis como o petróleo, gás e carvão (80 % da energia a nível mundial), contudo como resposta à problemática do aquecimento global e ao aumento contínuo da demanda de energia a nível mundial (em média 1,6 % por ano), existe a necessidade de procura por novas fontes de energia renováveis e menos poluentes de forma a combater estes problemas.<sup>[1]</sup>

Desta forma na última década assistimos a um maior investimento e consequente crescimento em fontes de energia renovável registando-se um aumento de 3,7 % no uso destas fontes de energia em 2019.<sup>[2]</sup> Destas fontes de energia destaca-se a biomassa que em 2018 representava 9,3 % da energia global total, e espera-se que entre 2018-2023 a bioenergia proporcione um crescimento de 30 % das fontes de energia renovável.<sup>[3]</sup>

Para melhor definirmos como é que a biomassa pode ser utilizada para a produção de energia devemos primeiro olhar para as diferentes categorias de biomassa existentes cujas são as seguintes:<sup>[4]</sup>

- Resíduos de biomassa agrícola ou proveniente de serrarias e culturas herbáceas
- Biomassa removida de ecossistemas de modo a aumentar a capacidade de carbono e de melhorar o habitat
- Biomassa retirada de ecossistemas destinados à produção de energia (culturas energéticas)

Culturas energéticas são culturas cultivadas especificamente para a obtenção de matéria prima para posterior conversão em energia. Em teoria qualquer espécie pode ser utilizada como uma cultura energética, mas na realidade existem restrições relativas à disponibilidade de matéria-prima, produtividade da espécie, relação custo-benefício e sustentabilidade da cadeia de produção de energia. Sendo assim podemos definir uma cultura energética ideal segundo os seguintes parâmetros:<sup>[5,6,7]</sup>

- alta produtividade de biomassa (produção de matéria seca por hectare)
- produção com baixo consumo energético
- baixos custos de produção
- composição com menor número de contaminantes
- baixo nível de nutrientes requeridos para a produção

Seguindo estes parâmetros conseguimos separar as culturas energéticas existentes em 5 diferentes tipos:<sup>[8,9]</sup>

- Culturas de grãos e sementes: culturas como o milho e o trigo contribuem para a produção de biocombustíveis, e o trigo consegue também ser utilizado na produção de biogás. Resíduos da indústria alimentar podem também ser utilizados como matéria prima em conversões térmicas e biológicas.

- Culturas ricas em açúcar: culturas como a cana de açúcar, beterraba sacarina e sorgo sacarino são as mais utilizadas na produção de bioenergia. A maior parte das culturas ricas em açúcar são convertidas em bioetanol utilizado como biocombustível.

- Culturas oleaginosas: culturas como o óleo de palma, soja, colza e girassol são as mais utilizadas na produção de bioenergia. Estas culturas são maioritariamente convertidas em biodiesel.

- Culturas de biomassa dedicadas: este tipo de culturas engloba árvores de rápido crescimento e espécies perenes. O que diferencia este tipo de culturas dos restantes é o facto de a sua plantação ser exclusiva para a produção de energia, não sendo utilizadas pela indústria alimentar. Estas culturas são maioritariamente usadas na produção de combustíveis de segunda geração e biogás, tendo como exemplo as espécies *Panicum virgatum* e *Miscanthus*.

- Algas: as algas podem ser do tipo micro ou macro. Devido à sua capacidade de realizar fotossíntese, superior quando em comparação com plantas terrestres, a sua velocidade de acumulação de biomassa é também superior tornando as algas uma opção viável para produção de energia.

Os diferentes tipos de energia que podemos obter irão depender das características de cada cultura energética e do tipo de conversão matéria-prima/energia utilizada. Identificam-se assim quatro principais tipos de conversão energética a partir de culturas sendo eles:<sup>[8]</sup>

- Combustão direta: queima direta da biomassa de forma a produzir calor. Pode ser aplicada em grandes centrais na produção de calor ou em atividades domésticas com o mesmo intuito.

- Conversão térmica: a biomassa é queimada de forma a ser convertida em gases de maior densidade energética, óleos ou biocarvões. Os dois principais métodos de conversão térmica são pirólise (queima com ausência de oxigénio) e a gaseificação (queima com presença reduzida de oxigénio). Os produtos obtidos neste tipo de conversão são maioritariamente utilizados na produção de biocombustíveis, contudo alguns dos subprodutos da conversão também poderão ser reaproveitados para outros efeitos.

- Conversão biológica: a biomassa é degradada utilizando um organismo biológico. De entre os métodos de conversão biológica destacam-se a fermentação e digestão anaeróbia. A fermentação consiste na degradação de material orgânico rico em açúcares para posterior conversão em etanol, através da ação fermentativa de uma cultura bacteriana, podendo o

produto deste processo ser utilizado como biocombustível. Já a digestão anaeróbia consiste na degradação de material orgânico na ausência de oxigênio através de uma cultura bacteriana, produzindo-se majoritariamente biogás que pode ser utilizado na produção de calor, eletricidade e como biocombustível.

- Conversão química: o principal processo de conversão química é a transesterificação, onde se obtém esteres metílicos de ácidos gordos para posterior utilização como biodiesel, a partir de óleos. As culturas energéticas adequadas para transesterificação são as culturas oleaginosas e as algas devido ao seu alto teor em lípidos. Neste processo obtém-se também como sub produto o glicerol, utilizado em cosmética, tintas entre outros.

### **1.1.2. Caracterização da espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz**

A *Camelina sativa* (L.) Crantz, ou falso-linho como é vulgarmente conhecida, é uma espécie oleaginosa da família Brassicaceae, cuja tem sido utilizada ao longo do tempo como fonte de alimentação e em técnicas de medicina tradicional, e tem como base as suas boas propriedades agronómicas e potencial industrial, a destacar as baixas necessidades durante a plantação, uma forte resistência ao frio, calor, doenças e pragas, e um crescimento favorável em solos marginais com uma rápida adaptação a vários tipos de condições e ambientes.

Esta rápida adaptação da *Camelina sativa* (L.) Crantz levou a que a planta fosse escolhida, em detrimento de outras, para cultivo em ecossistemas mediterrâneos. A utilização da variedade de inverno fornece uma alternativa para mitigar os efeitos provocados pelas alterações climáticas, preservar a produtividade agrícola e providenciar fontes de rendimento para os agricultores. Contudo apesar dos baixos requerimentos de cultivo a produtividade desta espécie é determinada não só através das condições de cultivo e práticas agrícolas mas também por fatores genéticos sendo que cada variedade terá uma diferente resposta às condições de cultivo estabelecidas.<sup>[10]</sup>

Atualmente a *Camelina sativa* (L.) Crantz é majoritariamente utilizada na produção de biodiesel, nutrição, biorefinarias, cosméticos e produtos farmacêuticos. Esta vasta gama de aplicações deve-se à composição distinta de ácidos gordos do óleo da planta, com uma predominância de 40 % em ácidos  $\alpha$ -linolenico (18:3) e linoleico (18:2). A presença destes ácidos é também fundamental nas propriedades nutricionais e medicinais da planta, regulando o balanço de  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 do organismo humano.<sup>[11]</sup>

A *Camelina sativa* (L.) Crantz é uma herbácea anual que possui diversas variedades, podendo ser cultivada em diferentes estações do ano, exibindo um curto período de crescimento entre 85 a 100 dias. Este cultivo é relativamente simples e não necessita da utilização de pesticidas e herbicidas, tornando-o não perigoso para o ambiente.<sup>[12,13]</sup>

Estas plantas são eretas e conseguem em média atingir alturas entre 30 a 90 cm de comprimento, possuindo uma raiz primária e um caule único e tipicamente ramificado podendo as hastes serem lisas ou esparsamente peludas. À medida que a planta vai envelhecendo o caule tem tendência a tornar-se mais lenhoso. As folhas presentes nas hastes são alternadas e em forma de lança com ausência de pecíolo, podendo atingir comprimentos entre 2 a 8 cm, ao contrário das folhas da roseta cujas são não lobadas e murchas na floração. As flores são pequenas e por norma apresentam tons amarelados, tendo pétalas espatuladas de comprimento entre 4 a 5 mm, quatro sépalas eretas e seis estames apresentados em três pares de comprimento desigual. As sementes são também amarelas apresentando uma superfície rugosa e tendo normalmente na sua composição química entre 38 % a 43 % de óleo e 27 % a 32 % de proteína.<sup>[14]</sup>

Apesar da variabilidade adaptativa da *Camelina sativa* (L.) Crantz, a quantidade e qualidade dos componentes químicos armazenados pela planta irá depender da sua genética e condições de cultivo, tal como nas restantes espécies de plantas. Fatores abióticos como a temperatura, precipitação, luminosidade são os mais relevantes estando diretamente relacionados com a produtividade da planta e a síntese e nível de saturação de ácidos gordos, havendo estudos que revelem uma maior concentração em ácido linoleico quando o cultivo da planta se faz em temperaturas mais baixas. É assim fulcral a determinação das condições ótimas de cultivo (taxa de sementeira, data de sementeira, quantidade de água disponível, utilização de maquinaria e fertilizantes, entre outros) para maximizar a produtividade da planta de acordo com a localização geográfica em que se vai efetuar a plantação. A *Camelinas sativa* (L.) Crantz pode ser cultivada na sua variedade de verão ou de inverno consoante as condições disponíveis e os objetivos pretendidos.<sup>[15,16]</sup>

É necessário também haver o cuidado de avaliar potenciais riscos naturais e humanos que possam danificar as culturas e prejudicar o cultivo, tais como pragas provocadas por insetos, composição química do solo inadequada, equipamento utilizado no cultivo, condições climáticas adversas como neve e granizo, entre outros.<sup>[17]</sup>

De acordo com estudos realizados a taxa ideal de sementeira da *Camelina sativa* (L.) Crantz varia geralmente entre as 400 a 600 sementes por metro quadrado de área de terreno, sendo que a atual recomendação é entre 3,4 a 5,0 kg/ha. A data de sementeira ideal está mais dependente da espécie e localização da plantação, tendo sido encontrados diferentes épocas nas quais o rendimento seria maximizado. De modo geral é correto afirmar que para as culturas de inverno a melhor época de sementeira inicia-se em meados de setembro e para as culturas de verão, em meados de março/abril.<sup>[17,18]</sup>

Relativamente ao método de sementeira, a semente deve ser plantada a cerca de 0,6 cm de profundidade, com um pouco da semente visível à superfície do solo.<sup>[19]</sup>

Apesar de não haver recomendações a nível da fertilização, a mesma pode ser feita para aumentar a concentração de determinadas substâncias no solo. Ao ser efetuada poder-se-à aplicar uma dosagem de 33,63 kg/ha de N e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.<sup>[19]</sup>

O rendimento de plantação obtido para a espécie variará consoante diferentes fatores relacionados com a posição geográfica de cultivo, método de cultivo, entre outros já mencionados. Em França registou-se um rendimento máximo de 2300 kg/ha, com sementeira tardia e com aplicação de 100 kg/ha de N. Na Áustria foram observadas certas linhagens com rendimento de 2800 kg/ha e teor de óleo na semente de até 480 g/kg. Outros estudos relatam também a obtenção de rendimentos máximos de 3000 kg/ha em cultivo de solos pobres com aplicação de 80 kg/ha de N.<sup>[20]</sup>

Nas figuras 1.1 e 1.2 é possível observar, respetivamente, uma ilustração da morfologia da planta e a espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz.<sup>[21,22]</sup>



**Figura 1.1 Ilustração da morfologia da espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz**



**Figura 1.2 Espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz**

Estima-se que a *Camelina sativa* (L.) Crantz seja originalmente proveniente do sudeste europeu e sudoeste asiático, embora a região Rússia-Ucrânica seja também uma forte possibilidade devido a esta ser um hotspot para a diversidade genética da espécie. Esta permissa é suportada por estudos e evidências arqueológicas cujas sugerem que o cultivo da planta começou na era Neolítica, sendo que por volta da Idade do Ferro a *Camelina sativa* (L.) Crantz já se tornaria parte das culturas comercializadas por toda a Europa, apresentando apenas um ligeiro declínio no cultivo durante a Idade Média. Apesar deste acontecimento, no início do século XX a *Camelina sativa* era plantada em vários países europeus (França, Bélgica, Holanda, entre outros) tendo especial relevância económica na antiga União Soviética.<sup>[14,23,24]</sup>

## **1.2. Contaminação de solos com metais pesados**

### **1.2.1. Problemática associada à ocupação de solos para fins energéticos**

Ao longo de várias gerações a produção de biomassa agrícola constituiu um papel fundamental na alimentação das populações, sendo a mesma para consumo direto pelo ser humano ou utilizada como ração na produção de gado para consumo humano, e mais recentemente tendo ganho destaque na disponibilização de matérias-primas para biorefinarias, não havendo outros principais usos para os solos terrestres. Todavia a rápida expansão demográfica do século XX (cuja é contínua até aos dias de hoje) derivada de um período pós-guerra em que a economia e os avanços tecnológicos estavam em crescendo, veio aumentar a demanda de produtos nos setores da alimentação e energia, deixando a humanidade com um importante desafio de satisfazer ambas as necessidades sem esgotar os recursos físicos e biológicos do planeta.<sup>[25,26,27]</sup>

Tendo em conta que a capacidade de produção de biomassa agrícola está diretamente limitada pelo espaço biofísico do planeta, pela qualidade do solo terrestre e por políticas socio-económicas, ao desafio anterior agrega-se outro de igual importância relativamente a qual dos setores deve ser favorecido ao utilizarmos o solo terrestre dado que a maior parte dos terrenos não consegue combinar ambos os setores ao mesmo tempo. A contínua utilização de terrenos para exploração mineira, agricultura intensiva, construção de estradas e construção de áreas residenciais afeta também a qualidade dos mesmos impossibilitando-os a serem utilizados posteriormente para a produção de alimento ou energia. Aliado à degradação do solo a competição pela produção de alimento ou energia provoca uma crescente preocupação pela conservação de vários ecossistemas, perda de segurança e qualidade de produtos alimentares, aumento dos preços de produtos agrícolas e o aumento das emissões de gases de efeito de estufa.<sup>[26,27,28,29]</sup>

Estima-se que atualmente, a nível global, 40 % do solo terrestre é utilizado na produção de ração e alimento para consumo direto pelo ser humano enquanto apenas 13 % do solo é utilizado na produção de biocombustíveis ou têxteis, contudo o aumento da produção energética tendo por base biomassa como forma a combater as alterações climáticas e o esgotamento dos recursos energéticos não renováveis do planeta, leva a que a competição entre os setores de alimentação e energia esteja mais intensa que nunca. Com cerca de 15 % de terrenos danificados a nível mundial, pelas razões mencionadas anteriormente, e com a União Europeia a querer alcançar 32 % de energia proveniente de biomassa até 2030, valor superior aos 20 % já estabelecidos para 2020, de forma a que esta competição seja mitigada e não haja uma sobrecarga nos recursos finitos do planeta é necessária a adoção de

estratégias que possam contornar esta disputa pelo solo terrestre ou que demonstrem alternativas para a recuperação de terrenos danificados.<sup>[26,30]</sup>

### **1.2.2. Metais pesados**

O termo metais pesados, apesar de ser bastante impreciso, é genericamente aceite pela comunidade científica para descrever metais com elevada densidade (superior a 4 g/cm<sup>3</sup>).<sup>[28]</sup> Esta designação é vulgarmente utilizada para descrever metais como chumbo, (Pb), zinco (Zn), cádmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni), entre outros metais de transição. Esta classe de metais é conhecida pela sua toxicidade e capacidade de bioacumulação, características que os fazem ser poluentes bastante eficientes e uma ameaça para a saúde pública e para os ecossistemas.<sup>[32,33]</sup>

A ocorrência de fenómenos naturais como erupções vulcânicas, meteorização de minerais e erosão leva a que este tipo de metais seja encontrado naturalmente no meio ambiente e maioritariamente na forma de hidróxidos, óxidos, sulfatos, compostos orgânicos, entre outros. Derivado da crescente industrialização e urbanização humana, desde o séc XX até à atualidade, o aumento da concentração destes metais na atmosfera, água e solos terrestres era inevitável.<sup>[32]</sup>

Relativamente ao cádmio, estima-se que tenha uma concentração mássica no solo terrestre de 0,41 mg/kg. Concentrações muito elevadas deste metal no solo são normalmente induzidas por ação humana mas podem também ter origem geogénica, tendo como principais fontes as erupções vulcânicas e fertilizantes de fósforo. Consoante o tipo de industrialização de determinado local, a concentração de cádmio encontrada nas plantas também irá variar. Na tabela 1.1 demonstram-se alguns exemplos de como pode ser essa variação em função da planta e da indústria existente.<sup>[34]</sup>

**Tabela 1.1. Concentração mássica de cádmio encontrada em plantas de locais contaminados**

**Cadmium Contents of Plants Grown in Contaminated Sites (mg/kg)**

Pollution Source	Plant/Part	Range/Mean	Country
Ancient mining areas	Grass	1–2	United Kingdom
	Clover	4.9	United Kingdom
Metal-processing industry	Lettuce	45	Australia
	Lettuce	5–14	Poland
	Spinach	6.4	Zambia
	Grass	8.2	United Kingdom
	Mushrooms	3–56	Finland
Sludged, irrigated, or fertilized farmland	Cereal grains	0.1–1.1	Finland
	Lettuce	8–37	Germany
	Lettuce	0.5–23	United States
	Cabbage	130	Russia
	Sudan grass	0.3–3	Hungary

O cobre encontra-se numa concentração mássica de cerca de 14 mg/kg de solo terrestre. O aumento da concentração de cobre no solo terrestre tem sido alvo de estudo ao longo do tempo, identificando-se como principais fontes poluentes os fertilizantes, resíduos de esgoto, estrume, compostos agroquímicos e poluição urbana. Como é comum aos restantes metais, na tabela 1.2 demonstram-se alguns exemplos de como pode ser essa variação em função da planta e da indústria existente:<sup>[34]</sup>

**Tabela 1.2. Concentração mássica de cobre encontrada em plantas de locais contaminados**

**Copper Contamination of Surface Soils (mg/kg)**

Site and Pollution Source	Country	Maximum Content
Old mining area	United Kingdom	2000
Metal-processing industries	Belgium	1089
	Bulgaria	2015
	Canada	3700
	Romania	1387
	Russia*	4622
Sludged, irrigated, fertilized farmlands	United Kingdom	800
	Netherlands	265
	Poland	1600

O chumbo encontra-se no solo com uma concentração mássica de cerca de 27 mg/kg. A contaminação por chumbo de terrenos próximos de minas, e mais recentemente em zonas de fabrico de baterias, é um problema recorrente e com um impacto bastante prejudicial nas cadeias alimentares e conseqüentemente na saúde de animais e humanos. Como é comum aos restantes metais, na tabela 1.3 demonstram-se alguns exemplos de como pode ser essa variação em função da planta e da indústria existente.<sup>[34]</sup>

**Tabela 1.3. Concentração mássica de chumbo encontrada em plantas de locais contaminados**

<b>Lead Contamination of Surface Soils (mg/kg)</b>			
<b>Site and Pollution Source</b>	<b>Country</b>	<b>Maximum Content</b>	
Old mining area	United Kingdom	21,546	
	Belgium	14,000	
Metal-processing industries	Germany	3,074	
	Greece	18,500	
	Holland	1,334	
	Japan	2,100	
	Poland	8,000	
	Russia	3,645	
	United States	6,500	
	Zambia	2,580	
	Battery manufactory	Chile	1,058
		Poland	3,800
United States		135,000	
Urban gardens and vicinities	Canada	888	
	Jamaica	897	
	United Kingdom	15,240	
	United States	10,900	
Sludged farmlands	Germany	>800	
	Holland	253	
	United Kingdom	3,916	
Roadside soils	Germany	885	
	Japan	397	
	Poland	310	
	United States	7,000	

O níquel encontra-se no solo com uma concentração mássica de cerca de 20 mg/kg. O níquel é considerado como um grande poluente, sendo um resíduo comum de indústrias metalúrgicas e da combustão de carvão e petróleo, e podendo ser também encontrado em resíduos de esgoto e em fertilizantes de fósforo. Como é comum aos restantes metais, na tabela 1.4 demonstram-se alguns exemplos de como pode ser essa variação em função da planta e da indústria existente.<sup>[34]</sup>

**Tabela 1.4. Concentração mássica de níquel encontrada em plantas de locais contaminados**

**Nickel Enrichment and Contamination of Surface Soils (mg/kg)**

Site and Pollution Source	Country	Range/Mean
Soils over serpentine rocks	Australia	770
	New Zealand	1,700–5,000
	Rhodesia	3563–7,357
Metal-processing industry	Albania	1243
	Canada	206–26,000
	The United Kingdom	500–600*
	Russia	304–9,288
Sludged farmland	Germany	50–84
	Holland	31–101
	The United Kingdom	23–846

O zinco encontra-se no solo com uma concentração mássica entre 30 a 100 mg/kg. Contrariamente aos metais mencionados anteriormente, o aumento da concentração de zinco no solo terrestre devido à ação humana tem sido bastante vestigial provindo maioritariamente de atividades agrícolas e utilização de pesticidas e herbicidas para o efeito. É possível também haver fontes de zinco naturais tais como a deposição atmosférica e a presença de cinzas.<sup>[34]</sup>

Sendo a poluição dos solos e dos lençóis de água uma preocupação cada vez maior nos dias de hoje, é necessário a implementação de técnicas de descontaminação dos solos que visam remover ou converter os produtos nocivos e tóxicos em outros menos prejudiciais. A este tipo de processos que têm como objetivo remover poluentes do solo chamamos de processos remediadores ou processos de remediação do solo, cujos podem ser divididos em quatro categorias distintas:<sup>[35]</sup>

- Remediação térmica: processo *in situ* baseado no aquecimento das impurezas ou poluentes presentes no solo para sua posterior extração em fase gasosa (evaporação dos poluentes). Este processo é maioritariamente utilizado em solos contaminados por águas previamente poluídas ou por compostos de petróleo e é bastante útil quando é necessário fazer a remediação de um solo que esteja numa localização de difícil acesso, dado que não é necessário escavar o mesmo.
- Espargimento de ar: processo que consiste na injeção de grandes quantidades de ar no solo contaminado de modo a forçar a saída dos poluentes por via gasosa. É maioritariamente usado em locais contaminados por hidrocarbonetos poluentes.
- Encapsulação: processo que se baseia numa “quarentena” do solo, isolando a fração de solo contaminado (com cimento, argila ou têxteis sintéticos) e impedindo o contacto da mesma com o solo saudável ao redor. Apesar de ser bastante efetiva esta técnica não filtra os poluentes do solo contaminado e apenas é útil para impedir a proliferação dos poluentes nas restantes porções de solo, e como tal deve ser utilizada como último recurso

- Bioremediação: processo que se baseia na utilização de um mecanismo biológico como as bactérias ou as plantas para filtrar os poluentes do solo. Esta técnica como envolve a utilização de organismos vivos é a mais natural e, ao contrário das anteriores, pode ser acoplada com outro tipo de atividades que se queiram fazer no solo. Uma das grandes desvantagens da bioremediação é a impossibilidade de ser realizada em climas severos ou extremos.

## 1.3. Fitorremediação

### 1.3.1. O que é a fitorremediação?

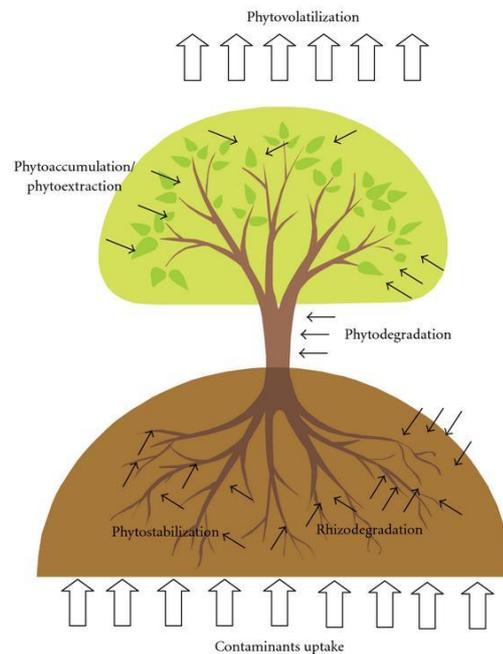
Fitorremediação é um dos tipos de processos remediadores mencionados, englobando-se na categoria da bioremediação. Este processo tem por base o uso de plantas para a extração ou diminuição da biodisponibilidade de poluentes no solo e assenta no fundamento teórico de que as plantas conseguem expandir o seu sistema radicular de modo a controlar a concentração de metais pesados do solo através da absorção dos mesmos.<sup>[36,37]</sup>

Este tipo de processo, tratando-se de um sistema autotrófico, é economicamente bastante viável tendo baixos custos energéticos (energia solar necessária à fotossíntese) e de manutenção, sendo também o processo de remediação mais “amigo do ambiente” comparativamente com os restantes. Para além das vantagens já mencionadas pode ser aplicado em larga escala e aumenta a qualidade do solo devido à acumulação de matéria orgânica no solo.<sup>[36,38]</sup>

Dependendo da zona ou parte da planta analisada iremos ter diferentes maneiras de realizar a fitorremediação atendendo às diferentes características entre raízes, caule e folhas. Desta forma podemos definir os sub-processos que podem ser explorados numa determinada planta:<sup>[36]</sup>

- Fitoestabilização: diminuição da biodisponibilidade de metais pesados no solo.
- Fitoextração: extração dos metais pesados do solo
- Fitovolatilização: extração dos metais pesados do solo, e conseqüente libertação para a atmosfera na forma de compostos voláteis
- Fitodegradação e rizodegradação: degradação de compostos orgânicos poluentes, sendo que a rizodegradação efetua-se no sistema radicular da planta
- Fitofiltração: utilização de culturas hidropónicas com o objetivo de absorver ou adsorver metais pesados que estejam a contaminar águas subterrâneas ou águas residuais

Na figura 1.3 podemos observar em melhor detalhe quais as zonas da planta que irão realizar determinado sub-processo.<sup>[40]</sup>



**Figura 1.3. Diferentes sub-processos de fitorremediação que podem existir na planta<sup>[40]</sup>**

A seleção apropriada das espécies a utilizar na fitorremediação é fundamental para atingir o máximo de eficiência possível durante todo o processo. As culturas escolhidas devem possuir uma elevada tolerância aos efeitos tóxicos dos metais pesados, de modo a não diminuírem a sua produtividade e/ou a não prejudicarem a sua saúde, elevada capacidade de extração dos metais do solo e acumulação dos mesmos em biomassa aérea, elevada produtividade de biomassa, longo sistema radicular, elevada adaptabilidade a crescimento em solos pobres e em condições climáticas adversas e elevada resistência a pragas e insetos que possam danificar a plantação.<sup>[33,39]</sup>

De modo a visar todas estas características pretendidas, uma estratégia viável será a escolha de espécies hiperacumuladoras para realizar a fitorremediação de solos contaminados com metais pesados.

### **1.3.2. Desafios inerentes à fitorremediação – definição de espécies hiperacumuladoras**

Define-se uma espécie hiperacumuladora como uma espécie de planta que tenha a capacidade de acumular uma elevada concentração de metais pesados na sua biomassa aérea sem sofrer sintomas de toxicidade provocada pela presença destes mesmos metais. Esta capacidade de hiperacumulação demonstrada pelas espécies pode traduzir-se em concentrações 100 vezes superior comparativamente a espécies não hiperacumuladoras nas mesmas condições de cultivo, levando a um rendimento de fitorremediação mais atrativo.

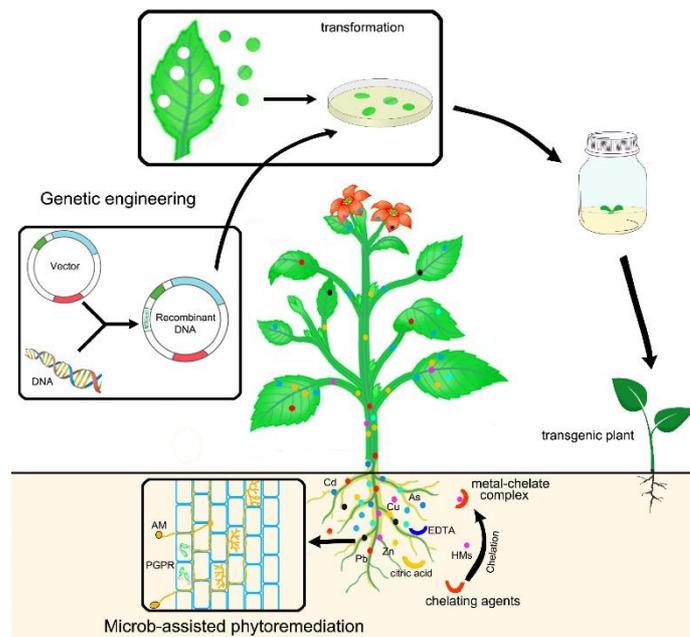
Dada esta permissão a escolha de uma espécie hiperacumuladora torna-se um fator decisivo para o sucesso do processo remediador, contudo deve-se ter em atenção nos critérios de escolha pois algumas espécies hiperacumuladoras são comestíveis e desta forma evita-se a entrada dos metais pesados nas cadeias alimentares devido ao consumo humano ou animal.<sup>[36]</sup>

Atualmente já são conhecidas cerca de 450 espécies hiperacumuladoras de diversas famílias de plantas como Brassicaceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Asterraceae, Lamiaceae, e Scrophulariaceae. Apesar do espetro de espécies já ser bastante amplo, a maior parte tem um curto período de vida e apresenta baixa produtividade o que irá limitar a eficiência da fitorremediação, contudo algumas espécies têm também a vantagem de absorver e acumular diferentes metais pesados em simultâneo.<sup>[36]</sup>

Face a estas desvantagens e como alternativa às plantas hiperacumuladoras podem ser usadas no processo remediador espécies não acumuladoras com elevada produtividade, onde a quantidade de biomassa produzida poderá compensar a reduzida capacidade de absorção dos metais. Apesar de ser uma escolha mais atrativa, devido também à possibilidade de ser economicamente competitiva, o processo de crescimento deste tipo de plantas é mais lento e a adaptabilidade a solos pobres é baixa o que limita o potencial destas espécies.<sup>[36]</sup>

Para contornar as desvantagens inerentes às espécies hiperacumuladoras ou não acumuladoras com elevada produtividade e aumentar o rendimento da fitorremediação adotam-se estratégias do âmbito da hibridação das plantas ou da engenharia genética. A finalidade da adoção destes mecanismos é aumentar substancialmente a produtividade de espécies hiperacumuladoras de forma a apresentarem um melhor desempenho e serem economicamente mais viáveis ou de conferir características hiperacumuladoras (acumulação de metais e tolerância à toxicidade dos mesmos) a espécies com prévia elevada produtividade de biomassa.<sup>[36]</sup>

A figura 1.4 mostra diversas estratégias, a nível de engenharia genética e utilização de microrganismos e agentes de quelação, designadas para o objetivo mencionado anteriormente:<sup>[36]</sup>



**Figura 1.4. Técnicas de recombinação génica, fitorremediação com microorganismos e fitorremediação com auxílio de agentes de quelação<sup>[36]</sup>**

### 1.3.3. Utilização de culturas energéticas para fitorremediação

Como já foi referido o solo terrestre necessário para a plantação de culturas é um recurso finito e limitado, causando competição e disputas entre o setor energético e o setor da alimentação pela utilização de terrenos. A fitorremediação é como que uma janela de oportunidade para as culturas energéticas devido ao potencial de certas culturas energéticas em termos de produtividade e de hiperacumulação de metais. Dado que não é possível a plantação de culturas alimentícias em solos contaminados é possível a definição de estratégias que tenham por fim o uso de culturas energéticas para dois propósitos distintos sem que haja conflito com o setor da alimentação: a produção de biomassa para posterior conversão em energia e a fitorremediação de solos contaminados utilizando culturas energéticas que proliferem neste tipo de condições.<sup>[41]</sup>

O principal desafio será analisar como deve ser explorada este tipo de fitorremediação dita sustentável (devido ao balanço e harmonia entre ambos os setores) de modo a que tenha interesse económico e ambiental. A produtividade e capacidade de acumulação de metais pesados por parte da espécie escolhida são os principais fatores a ter em conta, contudo há diversos tópicos que também não devem ser deixados para segundo plano, tais como as ameaças ao ecossistema e o potencial poluidor da planta. As alterações que poderão existir num dado ecossistema devido à introdução de uma cultura energética no mesmo podem variar entre perda de biodiversidade local e aumento das concentrações de azoto e fósforo no solo e plantas ao redor, traduzindo-se numa maior quantidade de nitratos e fosfatos libertados para a atmosfera aquando dos processos de conversão energética.<sup>[41]</sup>

Previamente à implementação de uma espécie como cultura energética para fitorremediação de um determinado solo contaminado é então fulcral o estudo e análise para aferir a qualidade química da biomassa produzida, o potencial fitorremediador da espécie (características hiperacumuladoras), os aspetos positivos e negativos nos ecossistemas devido à fitorremediação e a produtividade da espécie em solos contaminados com metais pesados. Este tipo de ações deve então ser promovida nacional e internacionalmente como forma a obter uma estratégia viável para superar um dos maiores desafios que a humanidade enfrenta nos dias de hoje.<sup>[41]</sup>

## 2. Objetivos do trabalho

Tendo por base os desafios mencionados anteriormente, no âmbito do projeto MAGIC financiado pela União Europeia pretende-se estudar e avaliar o potencial de crescimento, produtividade, qualidade de biomassa e características acumuladoras da espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz nas variedades Midas (variedade de verão) e Luna (variedade de inverno) produzidas em solos contaminados com metais pesados.

Neste estudo irá ser aferido qual o impacto que os metais zinco, chumbo, cádmio e níquel irão ter em ambas as variedades da espécie de modo a ser feita uma avaliação do potencial fitorremediador da mesma e do seu potencial para bioenergia e bioprodutos.

### 3. Metodologia

De forma a atingir com sucesso os objetivos pretendidos para este trabalho a espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz foi cultivada em vários vasos contaminados com diferentes concentrações de metais pesados, sendo estes o Zn, Pb, Ni e Cd.

De forma a preparar os vasos utilizados foi efetuada uma recolha de solo numa das áreas do *Campus* Universitário da UNL-FCT perto do edifício departamental e com o auxílio de pás e enxadas. O solo foi previamente submetido a um processo de crivagem antes da sua colocação nos vasos.

O solo utilizado foi submetido a várias análises para a determinação de variados parâmetros físico-químicos, cujos influenciam diretamente as capacidade de troca do sistema planta-solo<sup>[42]</sup>. A tabela 3.1 apresenta os vários parâmetros assim como as metodologias utilizadas para a determinação dos mesmos:

**Tabela 3.1 Métodos analíticos utilizados na determinação dos parâmetros de caracterização do solo**

<b>Parâmetros</b>	<b>Métodos</b>
Humidade	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ \text{C}$ (4h), repetida até peso constante, expressa em relação à amostra húmida <sup>[43]</sup>
Carbono orgânico	Método Walkley-Black <sup>[44]</sup>
pH	Determinação efetuada por potenciométrica com elétrodo de vidro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de 1/2.5 <sup>[45]</sup>
Condutividade	Determinação efetuada com um condutivímetro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de 1/2.5 <sup>[45]</sup>
Capacidade de Troca Catiónica	Determinação pelo método de Chapman a pH 7 com $\text{NH}_4\text{OAc}$ 1M <sup>[46]</sup>
Azoto Total	Digestão a quente com $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Determinação do teor de azoto no digerido <sup>[47]</sup>
Fosfatos Extraíveis	Extração com $\text{NaHCO}_3$ 0,5M, na razão L/S igual a 200 <sup>[48]</sup> . 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 <sup>[49]</sup> .
Nitratos e nitritos	Os nitratos são reduzidos a nitritos com a adição de pó de zinco. 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 <sup>[50]</sup>
Fósforo Total	Digestão a quente com $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Determinação dos fosfatos no digerido <sup>[47]</sup>

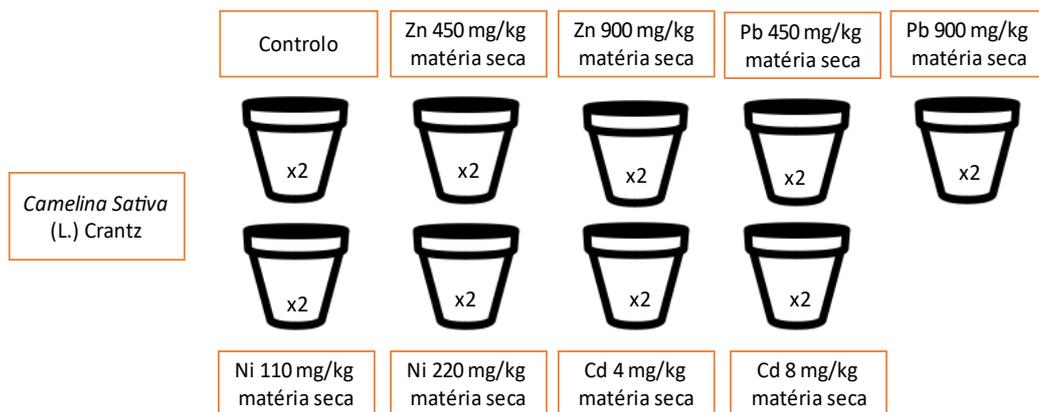
O ensaio foi iniciado em novembro de 2019 utilizando vasos de 30 cm de diâmetro e com uma área circular de  $0,071 \text{ m}^2$ , e realizado numa varanda do edifício departamental no interior do campus da FCT-UNL onde os vasos estavam expostos à luz solar e abrigados de condições adversas. Tal como já foi mencionado o solo utilizado foi submetido a um processo prévio de crivagem com o auxílio de uma malha de 10 mm antes de ser colocado nos vasos, cada um com 12 kg de terra. De modo a evitar o stress hídrico da plantação utilizou-se água da rede de abastecimento da FCT-UNL.

Após o enchimento dos vasos procedeu-se à sementeira de ambas as variedades de *Camelina sativa* (L.) Crantz, e consequente fertilização depois do período de germinação das sementes. Nesta fertilização as quantidades utilizadas foram 3 g N/m<sup>2</sup> (ureia, 46% N); 3 g N/m<sup>2</sup> (mistura nitrolusal, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> + CaCO<sub>3</sub>, 27% N); 17 g K<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup> (sulfato de potássio, 51% K<sub>2</sub>O); 26 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/m<sup>2</sup> (superfosfato, 18% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).

Os vasos foram também contaminados com cada um dos metais pesados escolhidos (Zn, Pb, Ni, Cd). As concentrações de metais pesados foram escolhidas com base nos limites impostos pelo Decreto-Lei 276/2009 (legislação portuguesa que estabelece os limites para a incorporação de lamas contaminadas em solos agrícolas), sendo elas a concentração limite indicada no decreto e o dobro dessa concentração para solos com pH superior a 7 (solos destinados a culturas com fins comerciais). Estes valores são respetivamente Zn: 450 mg/kg e 900 mg/kg; Pb: 450 mg/kg e 900 mg/kg; Ni: 110 mg/kg e 220 mg/kg; Cd: 4 mg/kg e 8 mg/kg<sup>[51]</sup>.

A contaminação dos vasos foi feita através da utilização de sais sendo estes respetivamente Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (nitrato de zinco) para os vasos contaminados com zinco; Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (nitrato de chumbo) para os vasos contaminados com chumbo; Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (nitrato de níquel) para os vasos contaminados com níquel; Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (nitrato de cádmio) para os vasos contaminados com cádmio.

Simultaneamente foram também realizados ensaios de controlo para ambas as variedades de *Camelina sativa* (L.) Crantz para que seja possível comparar os resultados obtidos para esta espécie em solos contaminados e não contaminados. Os ensaios foram realizados em duplicado, tanto para os vasos de controlo como para os vasos com contaminação, totalizando 36 vasos para as duas variedades da espécie. O esquema da montagem final dos vasos, cujo é comum a ambas as variedades, pode ser observado na figura 3.1:



**Figura 3.1. Esquema de montagem dos ensaios da Camelina Sativa (L.) Crantz, comum a ambas as variedades (Luna e Midas)**

Em junho de 2021, procedeu-se à colheita da biomassa (raízes, caules, folhas e sementes) utilizando material de jardinagem auxiliar e uma peneira de modo a colher eventuais raízes que tenham ficado no solo. A biomassa colhida foi posteriormente separada em caules, raízes e sementes, e cada uma destas estruturas foi pesada para determinação da massa húmida da amostra. O número total de plantas por vaso foi contabilizado e a altura da planta de maior caule, para cada vaso, foi também medida com material auxiliar de modo a conferir rigor na medição e diminuir o erro associado. Através destas metodologias foi possível fazer uma análise morfológica de cada cultura tendo por base o número de plantas, altura da maior planta e massa fresca produzida durante o ciclo vegetativo.

Posteriormente e com as diferentes partes da biomassa separadas, as mesmas foram colocadas numa estufa Selecta 207 à temperatura de  $60 \pm 5^\circ\text{C}$  tendo como fim a evaporação total da água presente na biomassa. Este processo teve uma duração variável contudo esta era em média 8 a 10 horas.

Com a biomassa já sem vestígios de água procedeu-se a uma nova pesagem, desta vez para determinar a massa de biomassa seca que foi produzida para utilizar no cálculo da produtividade da planta por vaso. A produtividade sendo um indicador do crescimento e capacidade de criação de biomassa da planta segundo as condições estipuladas é um parâmetro importante no estudo realizado para percebermos o impacto que cada metal pesado pode ter na quantidade e qualidade da biomassa da espécie. O seu cálculo pode ser feito através da seguinte expressão:

$$Produtividade = \frac{Massa\ seca\ (g)}{\acute{A}rea\ do\ vaso\ (m^2)}$$

Foi calculada a produtividade para cada uma das estruturas da planta de modo a aferir a quantidade de biomassa produzida para cada contexto de contaminação estudado.

Por fim a biomassa seca foi moída (para a sua armazenagem ser mais simples) e armazenada em vários sacos de plástico devidamente identificados para posterior análise. Os vários parâmetros físico-químicos analisados assim como a respetiva metodologia encontram-se na tabela 3.2:

**Tabela 3.2 Parâmetros físico-químicos avaliados e respetiva metodologia utilizada**

<b>Parâmetros</b>	<b>Métodos analíticos</b>
Humidade	Perda de peso após secagem a 105 ± 2°C (durante 2h), repetida até peso constante, expressa em relação à amostra húmida <sup>[52]</sup>
Cinzas	Resíduo mineral obtido após incineração a 550 ± 50°C (durante 3h) <sup>[52]</sup>
Azoto total	Método Kjeldahl: Mineralização com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , destilação e titulação do destilado com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,02N <sup>[47]</sup>
Fósforo total	Digestão a quente com HNO <sub>3</sub> e H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> <sup>[47]</sup> . 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 <sup>[49]</sup>
Metais pesados (Zn, Pb, Ni, Cd)	Mineralização das amostras por via seca (incineração em mufla a 550 ± 50°C) e dissolução das cinzas com ácido nítrico <sup>[53]</sup> ; Determinação dos metais, nos extratos, por espectrofotometria de absorção atómica

Na determinação do teor de metais pesados utilizou-se ácido nítrico visto que possibilita o ataque oxidativo a metais, tornando o processo de dissolução rápido e eficaz<sup>[53]</sup>.

## 4. Apresentação e discussão dos resultados experimentais

### 4.1. Caracterização do solo

O solo sendo também uma das variáveis do presente estudo deve ser igualmente caracterizado tendo em conta as suas propriedades físico-químicas. Esta caracterização permite compreender a dinâmica do solo assim como os seus componentes iniciais, previamente à contaminação do mesmo com os metais pesados em estudo. Na tabela 4.1 encontra-se exposta a caracterização inicial, segundo uma variedade de parâmetros, do solo utilizado nos diversos ensaios do presente estudo:

**Tabela 4.1** Parâmetros associados à caracterização inicial do solo utilizado e respetivos valores obtidos

Parâmetro	Valor obtido
Humidade	7,7 ± 0,7 %
Carbono orgânico	3,2 ± 0,5 g <sub>Carbono</sub> /kg
pH	7,66 ± 0,04
Condutividade	0,100 ± 0,005 dS/cm
Capacidade de troca catiónica	9,3 ± 0,6 cmol <sub>c</sub> /kg
Azoto total	0,29 ± 0,00 g/kg
Fosfatos extraíveis	25 ± 2 mg/kg
Fósforo total	0,70 ± 0,12 g/kg
Na	1,50 ± 0,07 g/kg
K	2,1 ± 0,4 g/kg
Ca	43 ± 5 g/kg
Mg	1,99 ± 0,05 g/kg
Zn	68 ± 4 mg/kg
Cd	1,2 ± 0,4 mg/kg
Ni	21 ± 4 mg/kg
Pb	23 ± 3 mg/kg

## **4.2. Caracterização da biomassa**

A análise dos parâmetros biométricos e químicos da biomassa em estudo é uma etapa fundamental para atingir os objetivos deste trabalho experimental. Através desta análise é possível retirar conclusões sobre as diferentes variáveis associadas ao potencial fitorremediador das espécies e traçar o seu perfil de fitorremediação, e através da análise quantitativa e qualitativa da biomassa produzida descobrir se a *Camelina sativa* (L.) Crantz pode ser utilizado num cenário de produção de energia em solos contaminados.

### **4.2.1. Parâmetros biométricos**

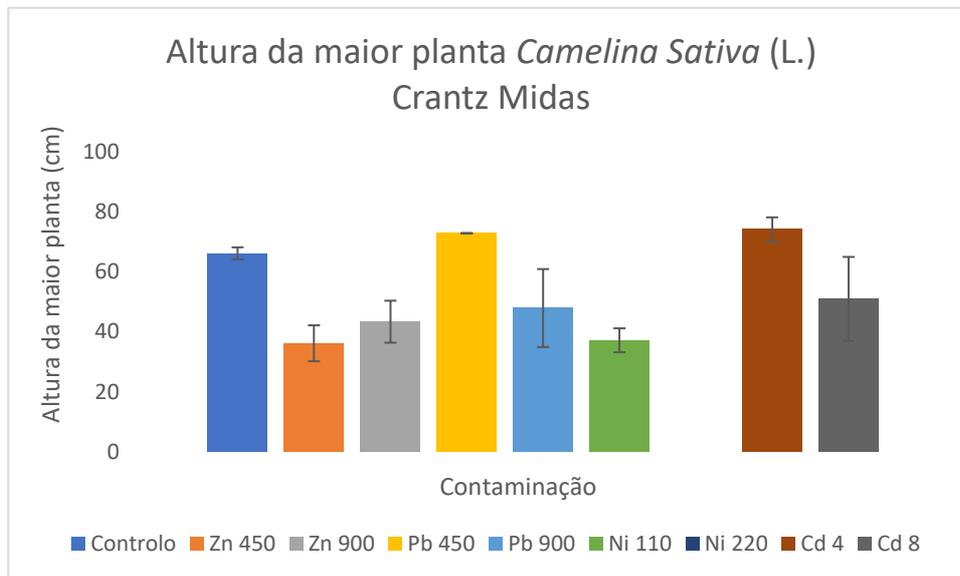
#### **4.2.1.1. Altura da planta**

A determinação do número de plantas por vaso foi realizada através de um método de contagem individual, contudo este parâmetro não será analisado. Como a altura da maior planta é um bom indicador do crescimento da cultura e está diretamente relacionado com a produtividade da espécie, este parâmetro foi também determinado com auxílio de material próprio tal como já foi descrito no capítulo 2. Como já foi também mencionado nesse capítulo, a produtividade é um parâmetro muito importante a partir do qual podemos obter informações sobre a quantidade e qualidade da biomassa produzida consoante as condições do meio envolvente à planta (neste caso as condições adversas serão os metais pesados presentes no solo). Desta forma a produtividade é um bom indicador do crescimento da planta e das condições necessárias para favorecer esse mesmo crescimento.

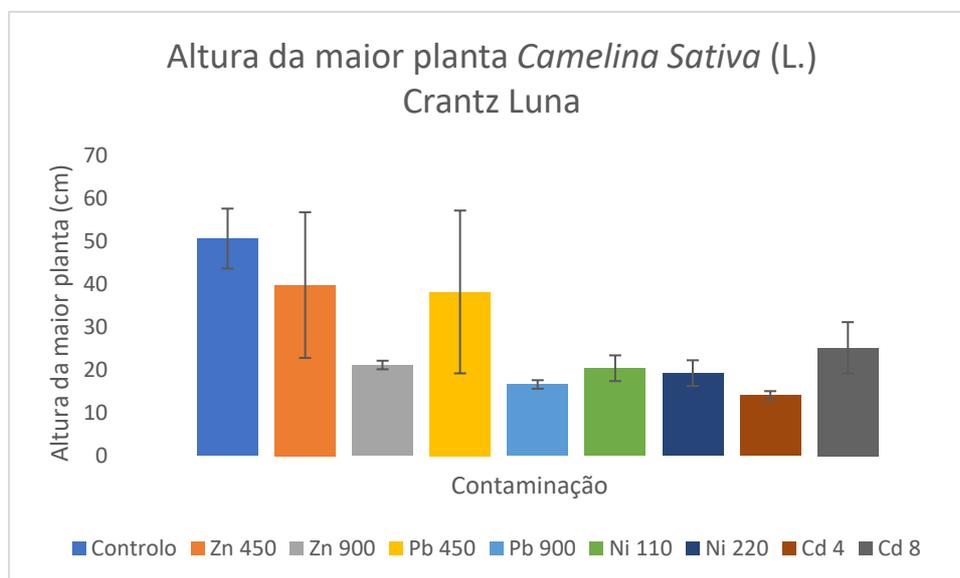
Como o impacto dos metais pesados no estado vegetativo da planta não se dá de forma homogénea é relevante efetuar-se a separação das diferentes estruturas integrantes da planta de forma a analisar o rendimento das mesmas quando em contacto com componentes tóxicos.

Tendo em conta esta permissão, determinou-se a produtividade de cada uma das variedades da espécie em estudo, diferenciando-se três estruturas integrantes da planta – raízes, caules e folhas.

Os resultados obtidos foram anotados para que fosse possível a comparação entre os mesmos a fim de se descobrir a possível relação entre o tipo de contaminação e o crescimento das plantas, para cada vaso do estudo. Primeiramente comparou-se as alturas da maior planta, para cada vaso e variedade da espécie, cujas estão apresentadas nas figuras 4.1 e 4.2:



**Figura 4.1. Altura atingida pela maior planta da variedade Midas, em cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**



**Figura 4.2. Altura atingida pela maior planta da variedade Luna, em cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

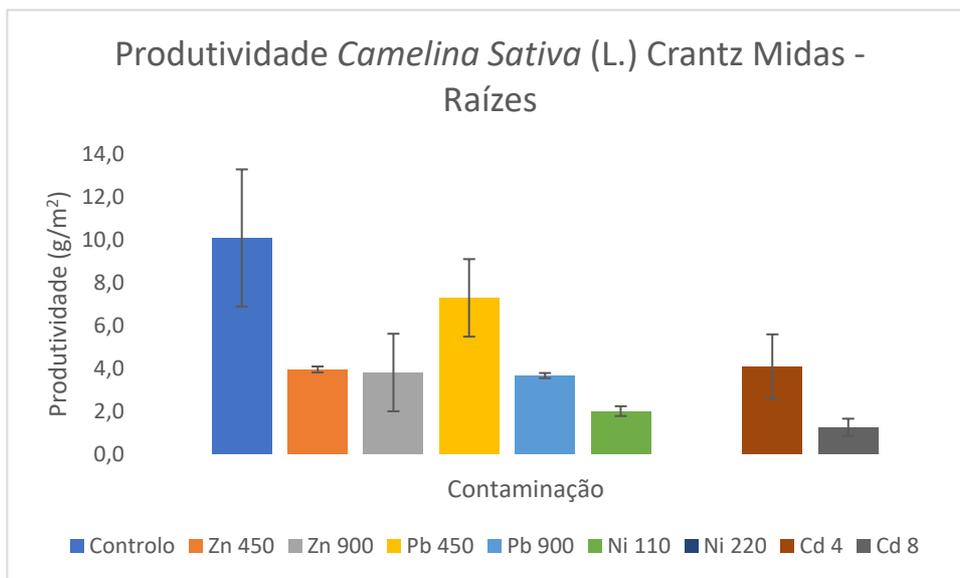
Observa-se a partir das figuras 4.1 e 4.2 que a altura da planta predominante, por cada vaso, é geralmente superior nos vasos de controlo comparativamente aos vasos contaminados. Este é também um importante indicador do crescimento de ambas as variedades da espécie havendo por norma uma relação com a altura máxima atingida pela planta e a sua produtividade.

Toma-se como exceção os ensaios de Pb 450 e de Cd 4, ambos para a variedade Midas, onde a altura da planta predominante superou os valores obtidos nos vasos de controlo. Esta ocorrência pode ser justificada por um maior estímulo por parte do metal que induzirá a planta a canalizar os nutrientes para as estruturas aéreas em detrimento das raízes.

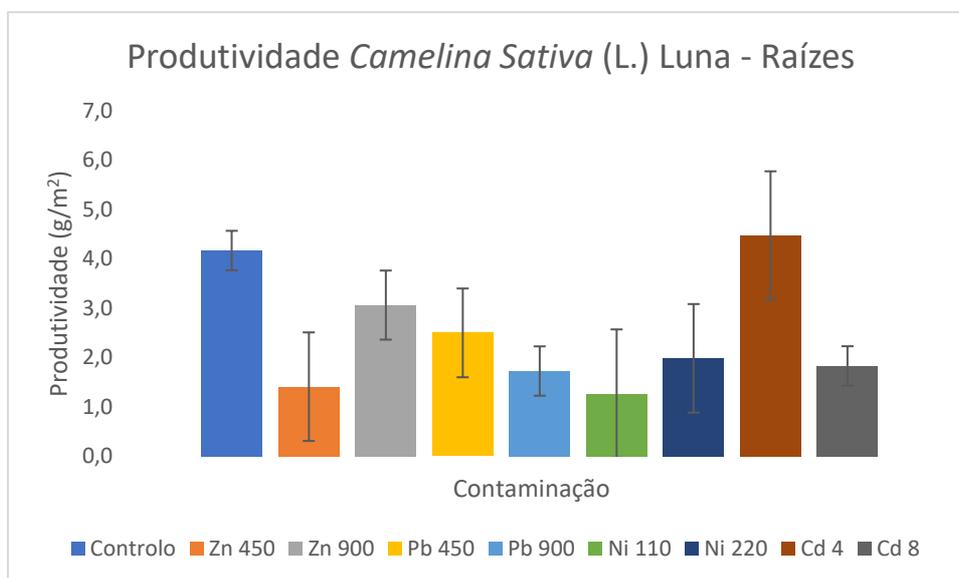
#### **4.2.1.2. Produtividade**

Tal como foi mencionado no início deste capítulo revela-se também a importância da análise das produtividades individuais de cada uma das estruturas integrantes da planta (raízes, caules e sementes) para que seja possível determinar as zonas nas quais o impacto causado pelos metais pesados é superior o que poderá facilitar a escolha da variedade de *Camelina sativa* (L.) Crantz num potencial solo contaminado tendo em conta os objetivos do cultivo.

Tendo esta hipótese em mente, procedeu-se à análise das produtividades individuais de cada estrutura integrante da planta, para cada variedade da espécie e tipo de contaminação. Começou-se por avaliar a produtividade das raízes para as variedades Midas e Luna cujas estão apresentadas nas figuras 4.3 e 4.4:



**Figura 4.3. Produtividade das raízes da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**



**Figura 4.4. Produtividade das raízes da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

Pela observação das figuras 4.3 e 4.4 é possível observar, de modo geral, uma diminuição da produtividade das raízes em cada tipo de contaminação comparativamente aos ensaios de controlo, para ambas as variedades da espécie. Esta diminuição da produtividade é algo esperada sendo consequência direta do primeiro contacto da planta com os diferentes tipos de metais pesados presentes no solo provocando limitações no desenvolvimento e proliferação do seu sistema radicular.

Na maior parte dos ensaios a produtividade atingida pela variedade Midas foi superior à produtividade da variedade Luna, apresentando um rendimento cerca de duas vezes superior. Todavia a variedade Midas não se desenvolveu no solo contaminado com Ni 220, contrastando com a variedade Luna que atingiu uma produtividade de 2 g/m<sup>2</sup>.

Ao analisarmos cada variedade individualmente, na *Camelina sativa* (L.) Crantz Midas deteta-se uma diminuição da produtividade das raízes nos vasos em que a concentração da contaminação era superior. Esta diminuição foi mais acentuada entre os vasos de Cd 4 e Cd 8, havendo uma queda na produtividade de 70 %. Como exceção a este padrão tem-se as contaminações de Zn 450 e Zn 900 onde não houve mudanças significativas na produtividade da planta. Estes dados demonstram a possível hipótese das raízes da *Camelina sativa* (L.) Crantz Midas apresentarem elevada resistência ao metal Zn mas baixa tolerância à toxicidade do metal Cd.

Na *Camelina sativa* (L.) Crantz Luna, contrariamente ao observado na variedade Midas, deteta-se apenas diminuição de produtividade nos vasos contaminados com Pb e Cd. Tal como na variedade Midas a diminuição observada foi mais acentuada entre os vasos de Cd 4 e Cd 8 onde se registou uma queda de produtividade de 60 %. Os vasos contaminados com Zn e Ni registaram um aumento da produtividade de 55 % e 33 % respetivamente. Estes dados corroboram a hipótese estabelecida anteriormente sobre a elevada resistência da *Camelina sativa* (L.) Crantz ao metal Zn e a baixa tolerância à toxicidade do metal Cd, sendo contudo impossível de verificar se esta resistência também se aplica ao metal Ni para ambas as variedades.

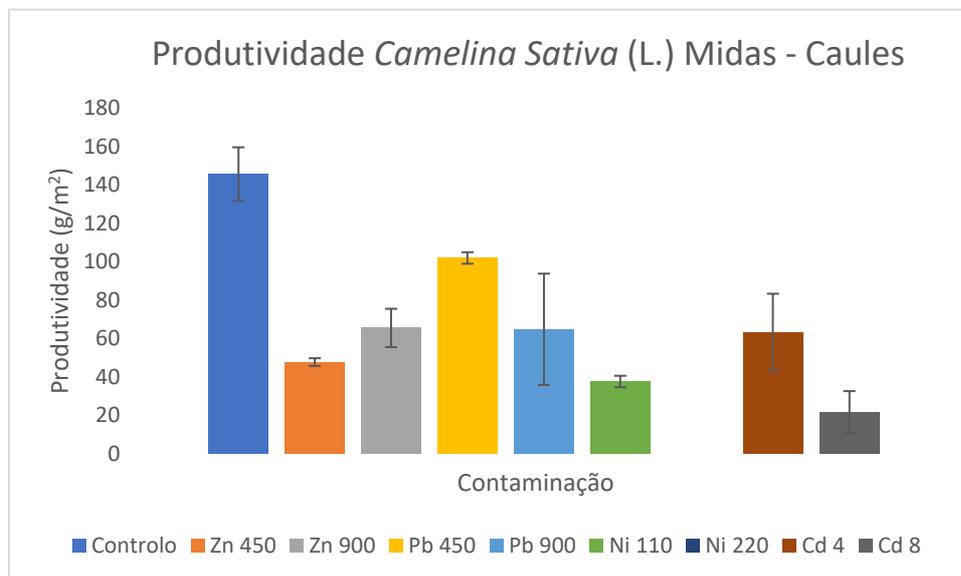
O aumento da produtividade nas raízes, para a variedade Luna, nos vasos contaminados com Zn pode ter como explicação o efeito benéfico da presença de Zn na etapa de crescimento sendo um nutriente essencial na fase de germinação e proliferação do sistema radicular. Apesar deste efeito benéfico quando a concentração de Zn é muito elevada pode ocorrer a inibição dos processos de senescência e a ocorrência de efeitos citotóxicos com a consequente paragem do crescimento das raízes. Dado que a produtividade nas raízes da variedade Luna aumentou para concentrações superiores de Zn pode-se colocar a hipótese de que estes processos adversos não ocorrem na *Camelina sativa* (L.) Crantz Luna para uma concentração máxima de, pelo menos, 900 mg Zn/kg.<sup>[54,55]</sup> Para a variedade Midas ocorreu uma ligeira redução da produtividade mas a mesma não é significativa, tal como já foi referido.

A quebra de produtividade nas raízes, para ambas as variedades, nos vasos contaminados com Pb pode dever-se à acumulação de Pb durante os estágios iniciais do desenvolvimento da planta. Na etapa germinativa o metal Pb, em elevada concentração, tem a capacidade de intrefirir com a formação do citoesqueleto celular e expansão da parede celular, conseqüentemente diminuindo a expansão celular nas raízes da planta e a biomassa produzida nesta estrutura. Todavia, concentrações reduzidas de Pb podem promover o metabolismo celular e a atividade enzimática criando-se condições para um maior desenvolvimento da planta. Visto que o crescimento radicular é bastante influenciado pela quantidade de Pb presente nas células desta estrutura pode-se concluir que a *Camelina sativa* (L.) Crantz apresenta uma baixa tolerância a este metal, dado que houve uma redução da produtividade das raízes para ambas as variedades.<sup>[56]</sup>

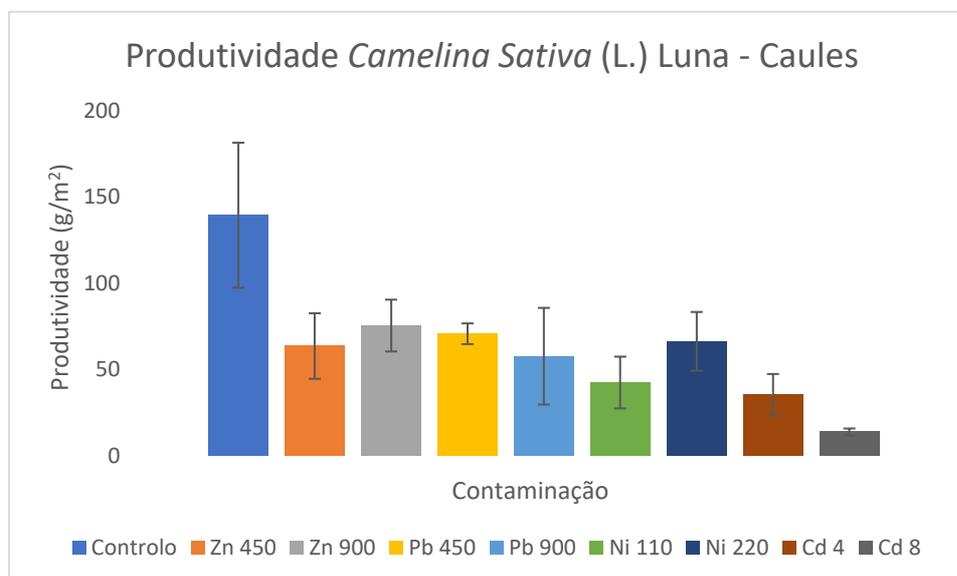
No ensaio com Ni registou-se, para a variedade Luna, um aumento na produtividade com o aumento da concentração de Ni no solo. A presença de Ni nas raízes das plantas provoca alterações na morfologia das mesmas tornando-as mais grossas mas com menos ramificações. Prevê-se que este processo é um mecanismo de defesa de plantas hiperacumuladoras de modo a aumentar a sua tolerância ao metal Ni, visto que os mesmos resultados foram encontrados nos estudos de outras plantas hiperacumuladoras, como é o caso da espécie *Noccaea caerulea*. Apesar desta concordância há estudos que também demonstram uma diminuição da produtividade radicular em função da concentração de Ni no solo, como por exemplo na espécie *Berkheya coddii* Rossler. Uma possível explicação para este facto baseia-se na alta mobilidade do Ni que se aloja nas células pericíclicas inibindo o crescimento radicular, no entanto os efeitos deste metal ainda não são conhecidos na totalidade e deste modo os estudos sobre os mesmos devem ser reforçados.<sup>[57,58,59]</sup>

O Cd é conhecido por ser um metal não essencial para as plantas, ou seja não participa em nenhuma atividade metabólica realizada pelas mesmas não sendo considerado micronutriente, e um dos que apresenta maior toxicidade devido à sua elevada solubilidade em água o que aumenta drasticamente a sua mobilidade. A toxicidade apresentada por este metal induz alterações na morfologia do sistema radicular tornando-o compacto e denso e inibe o desenvolvimento das células das raízes e quantidade de biomassa produzida. O Cd também é conhecido por induzir stress oxidativo que pode danificar permanentemente a cadeia de DNA da planta. Este fundamento teórico pode explicar a baixa produtividade nas raízes aquando do aumento da concentração de Cd no solo, contudo não justifica a maior produtividade no ensaio de Cd 4, para a variedade Luna, comparativamente ao ensaio de controlo. Uma possível explicação será algum tipo de efeito ou mecanismo sinérgico entre o Cd, quando se encontra em baixas concentrações, e outros metais que possam ter promovido o crescimento da planta, no entanto mais estudos seriam necessários para comprovar esta hipótese. Os dados registados são comparáveis aos de outros estudos onde se obteve produtividades semelhantes, à exceção do ensaio Cd 4 já mencionado.<sup>[60,61]</sup>

Seguidamente avaliou-se a produtividade dos caules, de novo para ambas as variedades da espécie. Os resultados obtidos encontram-se nas figuras 4.5 e 4.6:



**Figura 4.5. Produtividades dos caules da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**



**Figura 4.6. Produtividades dos caules da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

A análise às figuras 4.5 e 4.6 revela que os valores absolutos de produtividade dos caules são, em ambas as variedades, bastante superiores comparativamente aos valores obtidos para as raízes. A canalização de nutrientes e energia por parte da planta para o desenvolvimento do caule, cujo é a sua principal estrutura, explica as diferenças de produtividade encontradas entre os caules e as raízes. Para ambas as variedades os maiores valores absolutos de produtividade foram para a variedade Midas e Luna 146 g/m<sup>2</sup> e 139 g/m<sup>2</sup>, respetivamente, obtidos nos vasos de controlo algo que era expectável de acontecer. Apesar de superior este aumento não é muito significativo podendo-se considerar que ambas as variedades têm rendimentos semelhantes quando colocadas sem condições adversas. Nos ensaios com diversos tipos de contaminações o rendimento da variedade Midas foi superior, em média 30 %, comparativamente ao da variedade Luna.

Analogamente ao que foi observado na estrutura das raízes também nos caules verificou-se uma diminuição bastante acentuada da produtividade entre os vasos de Cd 4 e Cd 8. Esta quebra de produtividade foi de 65 % e 60 % para as variedades Midas e Luna, respetivamente. A diminuição da produtividade foi também alta para a variedade Midas entre os vasos de Pb 450 e Pb 900 registando-se um decréscimo de 40 % da quantidade de biomassa produzida. Embora o Cd aparenta ser o metal mais tóxico para a *Camelina sativa* (L.) Crantz, os rendimentos da espécie em solos contaminados com Pb mostram que este metal também induz efeitos negativos para o desenvolvimento da planta.

De modo idêntico registaram-se, para ambas as variedades, subidas ligeiras na produtividade aquando do aumento da concentração de Zn, de 36 % para a variedade Midas e de 15 % para a variedade Luna, e Ni (este último apenas na variedade Luna como já foi explicado anteriormente) de 37 %. Deste modo infere-se uma relação positiva entre estes metais e o crescimento da *Camelina sativa* (L.) Crantz algo que já havia sido observado para a estrutura radicular da planta, ainda que a mesma seja mais “fraca” que a relação negativa estabelecida com os metais Pb e Cd.

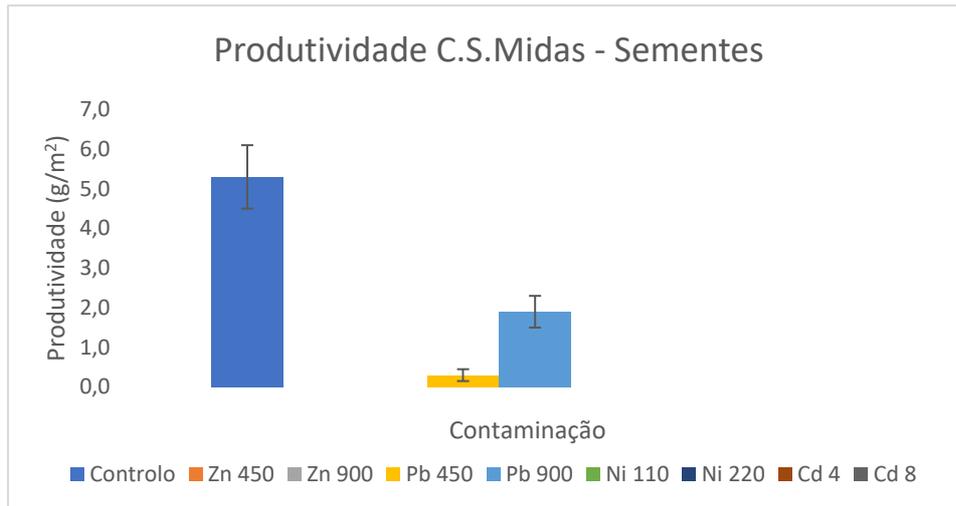
O metal Zn tem como principais efeitos adversos a nível celular, a desintegração de organelos, condensação da cromatina e perturbação das membranas celulares. Este último é de especial interesse pois a membrana celular regula as trocas iónicas da célula indiciando que o Zn atrofia a atividade celular e pode amplificar o efeito tóxico de outros metais pesados quando estes também estão presentes. Os efeitos tóxicos deste metal manifestam-se sobretudo na morfologia das raízes e folhas inibindo o crescimento radicular (tal como foi mencionado na análise à produtividade das raízes) e aumentando a morte celular nas folhas da planta. Tendo em conta esta premissa a maior produtividade nos caules de ambas as variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz aquando do aumento de concentração de Zn pode ser explicada pela canalização de nutrientes para o caule da planta em detrimento das estruturas que estão limitadas no seu crescimento.<sup>[60]</sup>

Relativamente ao metal Pb este provoca alterações no normal funcionamento do enzima catalase, responsável por catalisar a decomposição de  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , levando à ocorrência de stress oxidativo, assim como na concentração de nutrientes nas células, na conformação de algumas proteínas da planta e diretamente na atividade fotossintética. Estes mecanismos são fundamentais no desenvolvimento das plantas pelo que a menor quantidade de biomassa produzida no presente estudo pode ser relacionada com estes efeitos tóxicos.<sup>[56]</sup>

A descida de produtividade do ensaio com Ni relativamente ao ensaio de controlo pode ser explicado pela competição causada por este metal e outros de importância biológica para o desenvolvimento da *Camelina sativa* (L.) Crantz, tais como o Mg, Fe, entre outros. Uma maior concentração de Ni na planta resultará numa menor concentração destes micronutrientes que por sua vez limitará o crescimento da mesma. Comparativamente a outros estudos realizados com *Triticum aestivum* (L.) e *Camelina sativa* (L.) Crantz estes registaram também esta descida de produtividade com a hipótese de que o Ni tenha intrefendido diretamente com a síntese proteica e de clorofila da espécie.<sup>[59,61,62]</sup> O aumento da produtividade entre os ensaios de Ni 110 e Ni 220 não vai ao encontro do que está retratado na literatura pelo que deverão ser mais estudos para aferir as causas desta variação.

Os resultados obtidos para o metal Cd vão de encontro com o esperado. Sendo um dos metais mais tóxicos para as plantas seria de prever que os valores de rendimento dos caules fossem dos mais baixos para este metal. Mesmo quando está presente em baixas concentrações o Cd consegue reduzir significativamente a atividade do enzima protease, cujo é responsável pela mobilização de proteínas na planta, e tal como o Ni compete com outros metais com funcionalidade biológicas para a planta, resultando numa menor produção de biomassa em todas as estruturas da espécie. Para além destes efeitos adversos está também reportado que o Cd pode limitar a síntese proteica, produção de açúcares e a fotossíntese, assim como supressão do alongamento das células dos caules resultando numa menor altura máxima atingida pela planta. Sendo um metal muito tóxico para as plantas por norma os seus efeitos tóxicos correlacionam-se com a concentração do metal, o que se verificou no presente estudo. Estes resultados vão ao encontro do que foi revisto na literatura, onde para a espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz, para a espécie *Crambe abyssinica* Hochst e para a espécie *Sedum alfredii* também foi observada uma baixa produtividade em contaminações com Cd e uma diminuição da mesma com o aumento da concentração do metal.<sup>[60,61,63,64]</sup>

Por fim procedeu-se à análise da produtividade das sementes, embora que apenas da variedade Midas visto que a quantidade de sementes produzida pela variedade Luna nos diversos ensaios foi insuficiente para que esta estrutura pudesse ser considerada. Sendo assim a produtividade das sementes da variedade Midas, para cada ensaio, encontra-se exposta na figura 4.7:

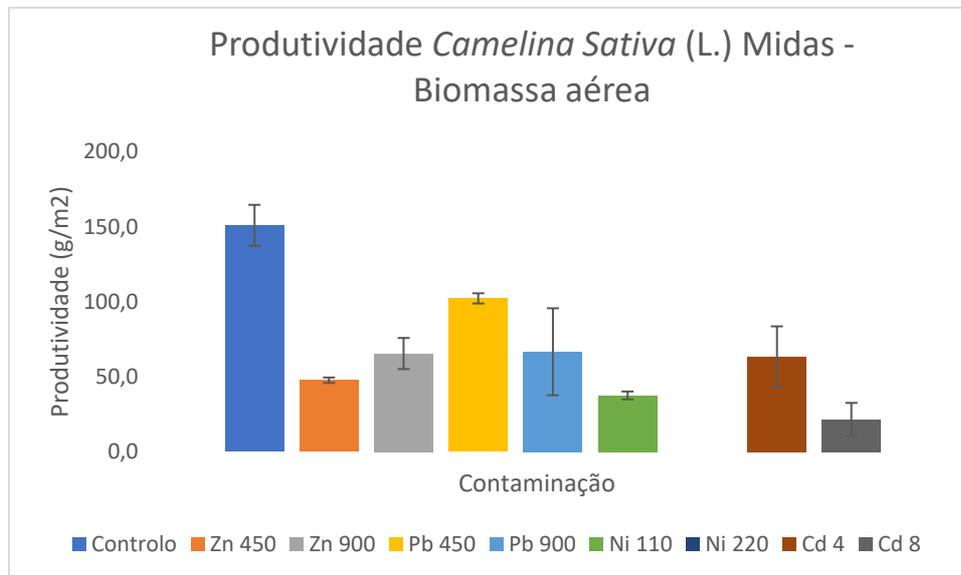


**Figura 4.7. Produtividade das sementes da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

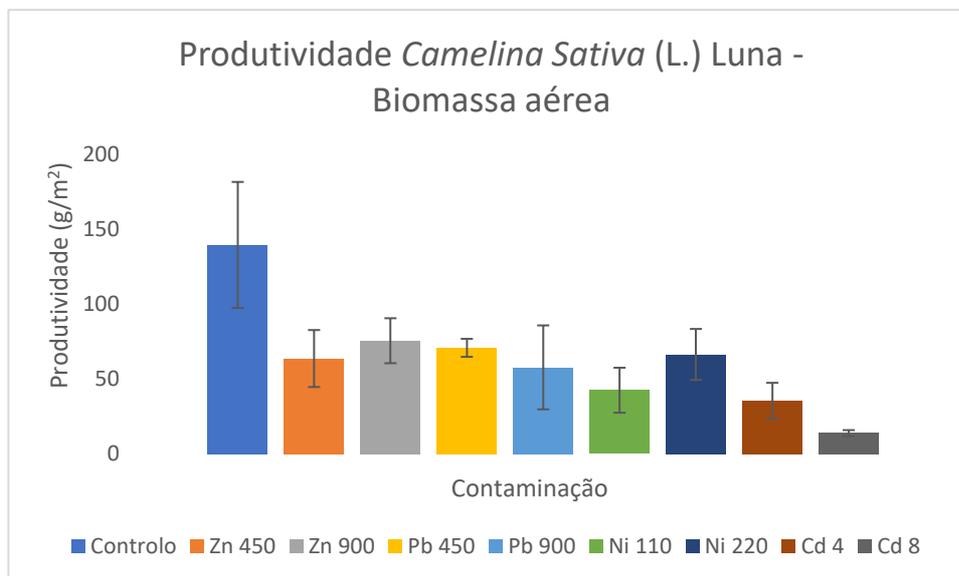
Não sendo possível a comparação com a variedade Luna procedeu-se exclusivamente à análise individual da produtividade das sementes da variedade Midas, todavia tal como a variedade Luna, alguns ensaios não produziram quantidade de semente suficiente para os dados serem considerados no estudo, pelo que apenas se registou as produtividades de três dos ensaios.

Por análise à figura 4.7 verificamos que tal como foi observado para as restantes estruturas a quantidade de biomassa presente nas sementes foi superior no ensaio de controlo. Esta produtividade foi de 5,3 g/m<sup>2</sup>, valor cerca de dezassete vezes superior ao obtido no ensaio de Pb 450 e duas vezes superior ao obtido no ensaio com Pb 900, cujas foram 0,3 e 1,9 g/m<sup>2</sup> respetivamente. Esta análise permite formular a hipótese de que o metal Pb inibe a produção de biomassa nas sementes de *Camelina sativa* (L.) Crantz mas apenas em concentrações mais baixas, registando-se uma tendência oposta quando se aumenta a concentração. Este dado indica que o cultivo da espécie em solos altamente contaminados com Pb será capaz de ser benéfico quando a finalidade do cultivo é a produção de biodiesel ou outro componente que utilize óleo como matéria prima tendo a possibilidade de haver viabilidade ambiental e económica. Comparativamente a outro estudo realizado com *Camelina sativa* (L.) Crantz registam-se diferenças nos resultados sendo a mais notória a diferença de que no presente estudo no ensaio de Pb 900 houve uma influência positiva no rendimento das sementes comparativamente ao ensaio Pb 450, o que não se verificou na literatura. Este aumento pode estar relacionado com algum tipo de mecanismo induzido pela planta em situação de stress ou em alguma sinergia positiva causada pelo metal na produção das sementes no entanto devem-se realizar mais estudos para serem retiradas conclusões mais rigorosas.<sup>[65]</sup>

Finalizada a análise às produtividades de cada uma das estruturas das plantas será também interessante comparar a produtividade radicular com a produtividade aérea para verificar a zona em que a espécie obteve maior rendimento sob condições de stress. As produtividades aéreas de ambas as variedades, para cada tipo de contaminação, encontram-se expostas nas figuras 4.8 e 4.9:



**Figura 4.8. Produtividade da biomassa aérea da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**



**Figura 4.9. Produtividade da biomassa aérea da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

Dado que a produtividade das sementes da variedade Luna não foi considerada como já foi explicado anteriormente, o gráfico referente à biomassa aérea desta variedade apenas contabiliza o rendimento dos caules cujo já foi analisado anteriormente. Desta forma procedeu-se à interpretação dos valores de produtividade de biomassa aérea (caules + sementes) da variedade Midas.

Observando as figuras 4.8 e 4.9 é possível concluir que a presença dos metais pesados no solo utilizado pela *Camelina sativa* (L.) Crantz afeta negativamente o crescimento e desenvolvimento da parte aérea da planta independentemente da sua variedade. Esta afirmação é comprovada pela queda de produtividade de biomassa aérea observada nos vasos contaminados com os diferentes metais pesados, cuja é à volta de 50 % na maior parte dos ensaios, evidenciando de novo as limitações ao desenvolvimento da planta impostas pelas características tóxicas dos metais.

É possível também observar que os metais pesados de Ni e Cd são os que mais dificultam o rendimento da biomassa aérea da *Camelina sativa* (L.) Crantz registando-se respetivamente uma queda de produtividade de 75,5 % e 85,8 % para a variedade Midas, e de 72,9 % e 90,3 % para a variedade Luna. Esta afirmação é especialmente certa para o Cd, pois o aumento da sua concentração no solo diminui em grande quantidade a produtividade aérea da planta.

O metal ao qual a *Camelina sativa* (L.) Crantz mostrou maior adaptabilidade foi o Pb, onde a variedade Midas atingiu o valor máximo de produtividade aérea em solo contaminado (102,3 g/m<sup>2</sup>), ainda que este seja inferior aos valores obtidos nos ensaios de controlo. É possível que a *Camelina sativa* (L.) Crantz tenha uma maior resistência a este metal ou que o mesmo tenha uma baixa biodisponibilidade.

Para os ensaios de controlo a variedade Midas mostrou uma maior produtividade aérea comparativamente à variedade Luna demonstrando, relativamente a este parâmetro, ser a melhor opção para cultivos em solos isentos de contaminações. O mesmo não se verificou nos vasos com contaminações onde a variedade Midas obteve maior produtividade aérea nos solos contaminados com Pb e Cd, e a variedade Luna nos solos contaminados com Zn e Ni.

A contaminação com Ni 220 para a variedade Midas não obteve qualquer tipo de resultados, contudo afirmar-se que tal foi devido ao metal presente no solo é falacioso dado que esta ocorrência apenas aconteceu numa das variedades. Para a inexistência de desenvolvimento da *Camelina sativa* (L.) Crantz neste ensaio pode ter contribuído o aparecimento de outras espécies de plantas que se manifestaram no vaso (cujas sementes podem ter sido trazidas por animais, ação do vento, entre outros mecanismos) e que exerceram bastante competição por nutrientes inibindo o crescimento da espécie em estudo. É de realçar que este fator pode ter influenciado os valores de produtividade aérea em alguns ensaios, visto que alguns dos vasos apresentavam, ainda que de menores dimensões, outras espécies de plantas.

Um dado interessante a retirar da análise a ambas as figuras é que uma maior concentração de metal pesado no solo não irá necessariamente corresponder a uma menor quantidade de biomassa aérea produzida pela planta. Este fenómeno observa-se para ambas as variedades (exceto para a contaminação com Ni 220 na variedade Midas) na contaminação com Zn e com Ni podendo evidenciar algumas características de ambos os metais que contribuam para um aumento de crescimento quando em maiores quantidades.

Comparativamente a outros estudos de cultivo de *Camelina sativa* (L.) Crantz em solos contaminados com metais pesados observam-se diferenças muito significativas para alguns dos ensaios realizados. Nos ensaios de controlo os valores obtidos de produtividade aérea para as variedades Midas e Luna (151 e 139 g/m<sup>2</sup> respetivamente) são relativamente próximos com os observados na literatura (125 e 109 g/m<sup>2</sup> respetivamente).<sup>[65]</sup>

Nos ensaios com contaminação de Zn neste presente estudo registaram-se valores mais reduzidos de biomassa aérea obtida (Zn 450 – 47,7; Zn 900 – 65,5 g/m<sup>2</sup> para a variedade Midas e Zn 450 – 64; Zn 900 – 75 g/m<sup>2</sup> para a variedade Luna) comparativamente aos da literatura (Zn 450 – 211; Zn 900 – 119 g/m<sup>2</sup> para a variedade Midas e Zn 450 – 136; Zn 900 – 181 g/m<sup>2</sup> para a variedade Luna) que como já foi referido pode ter sido devido a fatores externos. A tendência não se manteve em ambos os estudos, havendo um aumento de rendimento com o aumento da concentração de Zn no solo, para ambas as variedades da espécie no presente estudo o que difere do que foi encontrado na literatura para a variedade Midas.<sup>[65]</sup>

Nos ensaios com contaminação de Pb tal como nos ensaios com Zn a produtividade de biomassa aérea foi mais reduzida no presente estudo (Pb 450 – 102,3; Pb 900 – 66,7 g/m<sup>2</sup> para a variedade Midas e Pb 450 – 71; Pb 900 – 58 g/m<sup>2</sup> para a variedade Luna) quando comparado com os valores da literatura (Pb 450 – 266; Pb 900 – 257 g/m<sup>2</sup> para a variedade Midas e Pb 450 – 135; Pb 900 – 193 g/m<sup>2</sup> para a variedade Luna). Para este metal registaram-se quedas na produtividade aérea, para ambas as variedades, aquando do aumento da concentração de Pb no solo cujas não estão de acordo com o que foi observado na literatura onde ocorreu o aumento da produção de biomassa aérea para a variedade Luna.<sup>[65]</sup>

Analogamente à análise feita anteriormente, para o metal Ni registaram-se, da mesma forma que os metais anteriores, valores mais reduzidos de produtividade entre o presente estudo (Ni 110 – 37,6; Ni 220 – 0 g/m<sup>2</sup> para a variedade Midas e Ni 110 – 42; Ni 220 – 66 g/m<sup>2</sup> para a variedade Luna) e os observados na literatura (Ni 110 – 141,1; Ni 220 – 84,3 g/m<sup>2</sup> para a variedade Midas e Ni 110 – 160,2; Ni 220 – 106,9 g/m<sup>2</sup> para a variedade Luna). A relação da produtividade aérea com a concentração também não está de acordo para a variedade Midas onde ocorreu um aumento do rendimento da planta contrariamente ao observado na literatura.<sup>[61]</sup>

Por último para o metal Cd, assim como os restantes, registaram-se valores mais baixos no presente estudo (Cd 4 – 63,4; Cd 8 – 21,6 g/m<sup>2</sup> para a variedade Midas e Cd 4 – 35; Cd 8 – 14 g/m<sup>2</sup> para a variedade Luna) comparativamente aos resultados observados na literatura (Cd 4 – 82,1; Cd 8 – 46,78 g/m<sup>2</sup> para a variedade Midas e Cd 4 – 74,1; Cd 8 – 37,3 g/m<sup>2</sup> para a variedade Luna). Para este tipo de contaminação a mesma tendência foi observada em ambos os estudos onde a produção de biomassa aérea por parte da espécie diminuiu com o aumento da concentração de Cd no solo.<sup>[61]</sup>

Para retirar conclusões mais precisas sobre a susceptibilidade da *Camelina sativa* (L.) Crantz a cada um dos tipos de contaminação recorreu-se a um parâmetro denominado Índice de Tolerância (IT) cujo é calculado através da seguinte expressão<sup>[65]</sup>:

$$IT = \frac{\text{Produtividade da biomassa aérea seca no solo contaminado (g m}^{-2}\text{)}}{\text{Produtividade da biomassa aérea seca no solo de controlo (g m}^{-2}\text{)}}$$

Este parâmetro pode ser utilizado como critério para definir quais os metais aos quais a *Camelina sativa* (L.) Crantz apresenta uma maior resistência, relativamente ao ensaio de controlo, e para comparar a toxicidade dos metais pesados em estudo. Os resultados obtidos encontram-se descritos na tabela 4.2:

**Tabela 4.2 Índice de tolerância, para ambas as variedades, consoante o tipo de contaminação**

<b>Variedade</b>	<b>Zn 450</b>	<b>Zn 900</b>	<b>Pb 450</b>	<b>Pb 900</b>	<b>Ni 110</b>	<b>Ni 220</b>	<b>Cd 4</b>	<b>Cd8</b>
<i>Midas</i>	0,31	0,43	0,67	0,44	0,25	N.D	0,42	0,14
<i>Luna</i>	0,46	0,54	0,50	0,41	0,30	0,47	0,25	0,09

É possível verificar que para ambas as variedades da espécie os valores de IT determinados são todos inferiores a 1 o que significa que todos os metais pesados em estudo afetaram negativamente a produtividade aérea. O valor mais baixo de IT situa-se na contaminação de Cd 8 para ambas as variedades, indicando que este é o metal mais tóxico para espécie. Dado que o IT sofre uma descida entre o ensaio de Cd 4 e Cd 8 pode-se concluir que elevadas concentrações de Cd são bastante prejudiciais para a *Camelina sativa* (L.) Crantz. O IT relativo ao Pb também sofre uma ligeira descida com o aumento da concentração do metal demonstrando o efeito negativo da presença deste composto na espécie, todavia estes efeitos foram observados no ensaio de Pb 900 contrariamente ao ensaio de Pb 450 que registou o maior valor de IT, na variedade Midas, quando comparado com as outras contaminações. Para os restantes metais, salvo exceção do ensaio Ni 220 para a variedade Midas, houve um ligeiro aumento do IT em função do aumento da concentração de Zn e Ni, respetivamente.

Este aumento pode indicar que a *Camelina sativa* (L.) Crantz possui mecanismos de resistência e resposta à presença destes metais conseguindo adaptar-se quando estes se encontram no solo, sendo contudo insuficientes para atingir a produtividade registada em condições de solos não contaminados.

#### 4.2.1.3. Comparação da quantidade de biomassa nas diferentes estruturas da planta

Para além da análise da produtividade de cada uma das estruturas integrantes da planta é também relevante fazer a comparação entre a biomassa produzida pelo sistema radicular e pela parte aérea de modo a verificar se existem diferenças significativas entre os diferentes ensaios ou variedades da espécie. As figuras 4.10 e 4.11 demonstram a quantidade de biomassa produzida pelo sistema radicular e pela parte aérea da planta relativamente à produtividade total da mesma:

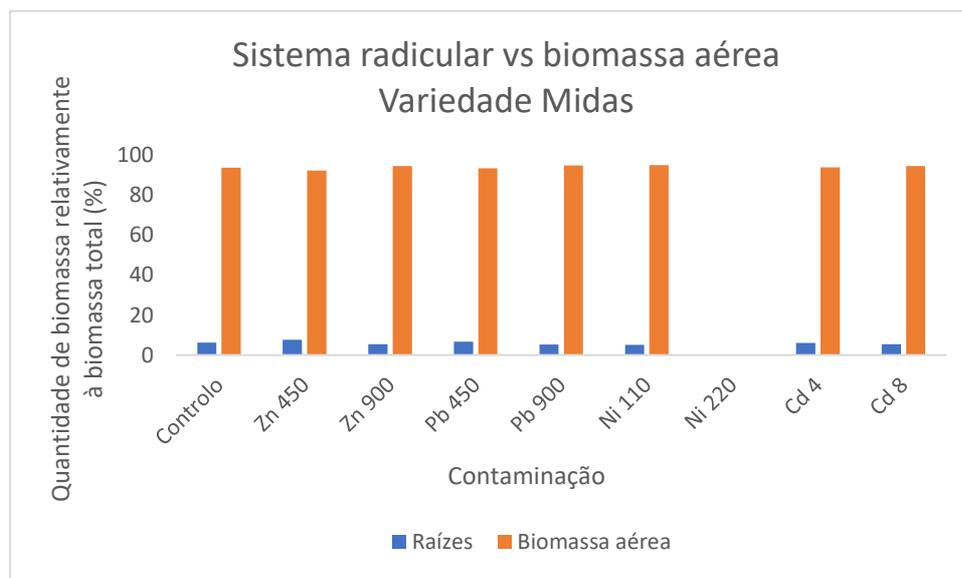
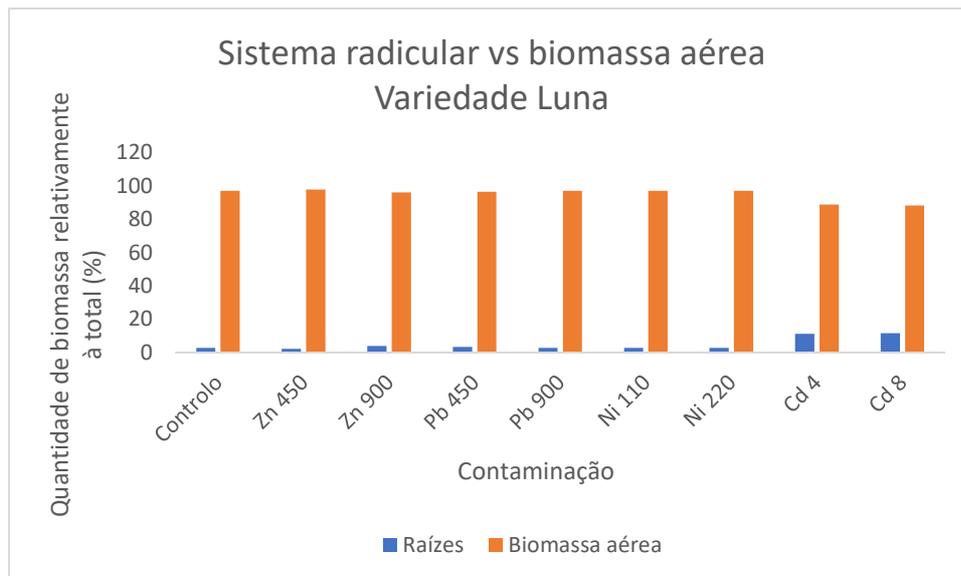


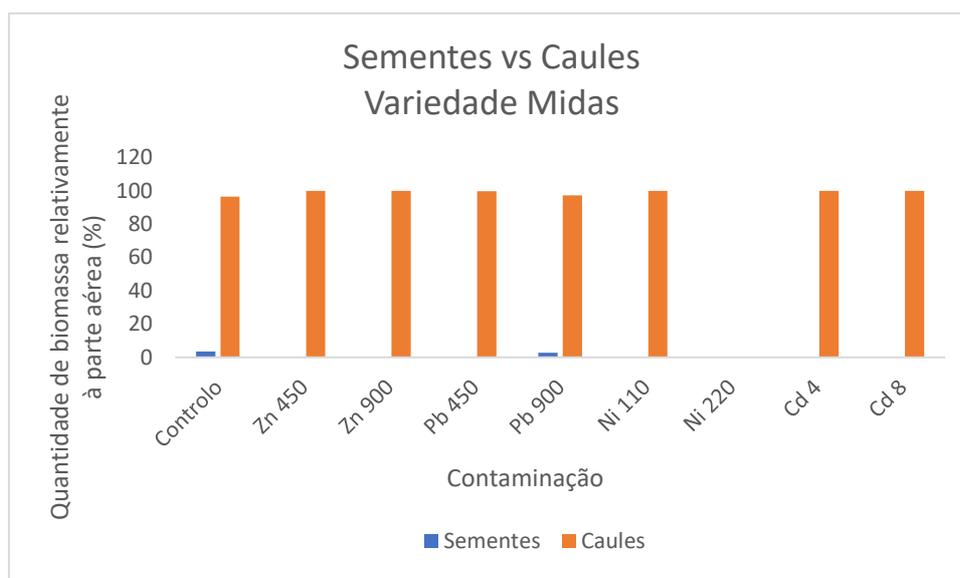
Figura 4.10. Comparação entre a quantidade de biomassa produzida pelo sistema radicular e a biomassa produzida pela parte aérea (expressas em % relativamente ao total) para a variedade Midas em função do tipo de contaminação



**Figura 4.11. Comparação entre a quantidade de biomassa produzida pelo sistema radicular e a biomassa produzida pela parte aérea (expressas em % relativamente ao total) para a variedade Luna em função do tipo de contaminação**

Pela observação da figura 4.10 pode-se observar que a quantidade de biomassa produzida pelas raízes e parte aérea demonstram ser independentes do tipo de contaminação. Os valores obtidos para a percentagem de raízes face ao total são muito semelhantes variando entre os 5 e 7 %, e por sua vez os valores obtidos para a parte aérea variaram entre 93 e 95 %. Tendo em conta os dados obtidos conclui-se que a contaminação por metais pesados não tem influência significativa na distribuição de biomassa produzida entre estas duas zonas da planta, para a variedade Midas.

Pela observação da figura 4.11 pode-se observar que a quantidade de biomassa produzida pelas raízes e parte aérea foi influenciada pela presença do metal Cd no solo. Os valores registados para as contaminações com Cd 4 e Cd 8 foram 11 e 88 %, para o sistema radicular e parte aérea respetivamente, cujos são ligeiramente superiores a 5 e 95 %, valores obtidos para as restantes contaminações e controlo. Esta diferença poderá ser consequência de um mecanismo de defesa da espécie em condições de stress induzidas pela presença de Cd ou uma adaptação necessária para conseguir absorver os nutrientes necessários do solo, visto que a presença de Cd provocava a pouca extensão do sistema radicular e compactação do mesmo. Analogamente à verificação do rácio raízes/parte aérea, estudou-se também o rácio caules/sementes para que as possíveis diferenças existentes pudessem ser analisadas. Tal como já foi referido a massa de semente produzida na variedade Luna não foi considerada para análise por ter sido bastante reduzida. Deste modo construiu-se a figura 4.12 referente ao rácio caules/sementes para a variedade Midas:



**Figura 4.12. Comparação entre a quantidade de biomassa produzida pelas sementes e a biomassa produzida pelos caules (expressas em % relativamente à parte aérea) para a variedade Midas, em função do tipo de contaminação**

Para a variedade Midas, a massa de sementes produzida em todas as contaminações, à exceção do ensaio de Pb, foi bastante reduzida ou mesmo nula. Para o ensaio de controlo foi obtida uma quantidade de sementes face à parte aérea de 3,5 %, para o ensaio de Pb 450 de 0,3 % e para o ensaio de Pb 900 de 2,8 %. Coloca-se a hipótese de que o metal Pb, não afeta a possibilidade da planta produzir semente.

#### 4.2.2. Parâmetros físico-químicos

Ao estudo do potencial fitorremediador da *Camelina sativa* (L.) Crantz está também associado o seu rendimento energético cujo determinará a viabilidade económica de cultivo da espécie. Sendo a utilização de culturas energéticas para biomassa uma das fontes de energia sustentáveis alternativas às opções que temos atualmente e de grande importância para a necessária transição energética, estudos científicos que permitam diversificar estas fontes ganham uma maior relevância. Desta forma a par da quantidade de biomassa produzida a análise à qualidade da mesma foi realizada para que o estudo do rendimento energético, carácter ambiental e capacidade de absorção e acumulação de metais pesados da espécie fosse realizado em pleno. Das análises realizadas registaram-se o teor de cinzas, fósforo, azoto e metais pesados na *Camelina sativa* (L.) Crantz e procedeu-se à posterior discussão dos dados obtidos.

### 4.2.2.1. Teor de cinzas

As cinzas são a componente inorgânica ou mineral da biomassa e são obtidas a partir da combustão da mesma classificando-se como um resíduo deste tipo de reações. Este tipo de resíduos pode afetar negativamente os processos de conversão de energia que utilizem biomassa como matéria prima, diminuindo o poder calorífico da biomassa (0,2 MJ/kg por cada 1 % de cinzas contidas na biomassa) e criando obstáculos e complicações no próprio processo através da deposição de cinzas nas caldeiras de combustão, corrosão dos equipamentos e incrustação e entupimento. A análise ao teor de cinzas da biomassa produzida pela *Camelina sativa* (L.) Crantz é uma etapa essencial para compreender a viabilidade energética da espécie e as limitações que podemos encontrar ao utilizar a sua biomassa em processos de conversão<sup>[65,66]</sup>. As diferentes estruturas integrantes da planta foram analisadas individualmente, tal como foi feito para a produtividade, e os resultados obtidos foram registados para posterior discussão.

Primeiramente analisou-se o teor de cinzas presente na biomassa do sistema radicular, para ambas as variedades, tendo sido obtidos os valores que se encontram expostos nas figuras 4.13 e 4.14:

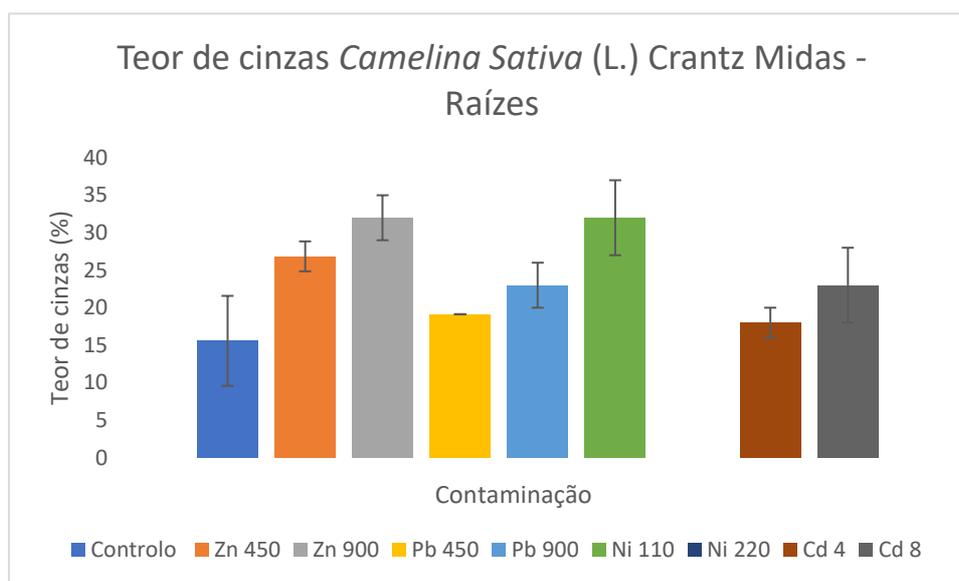
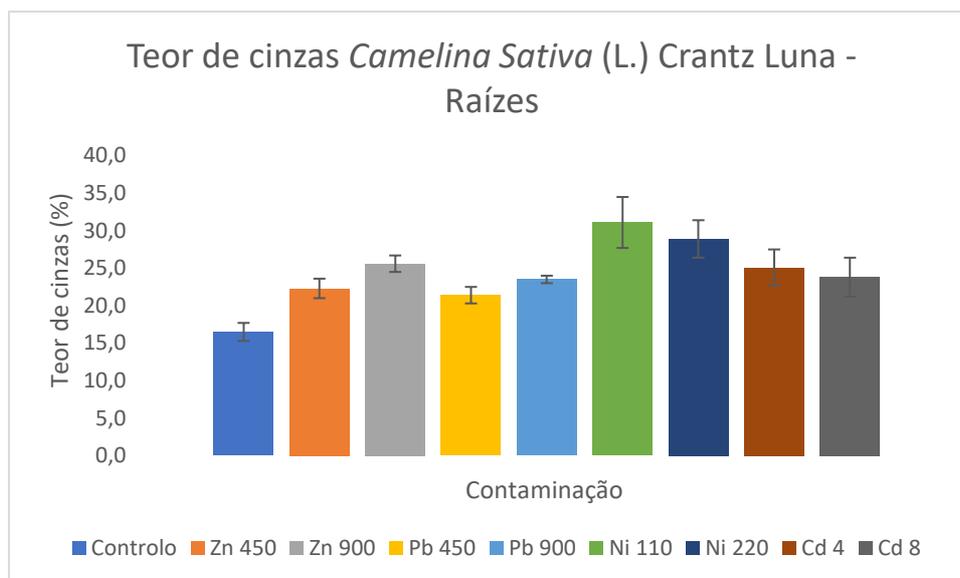


Figura 4.13. Teor de cinzas nas raízes da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão



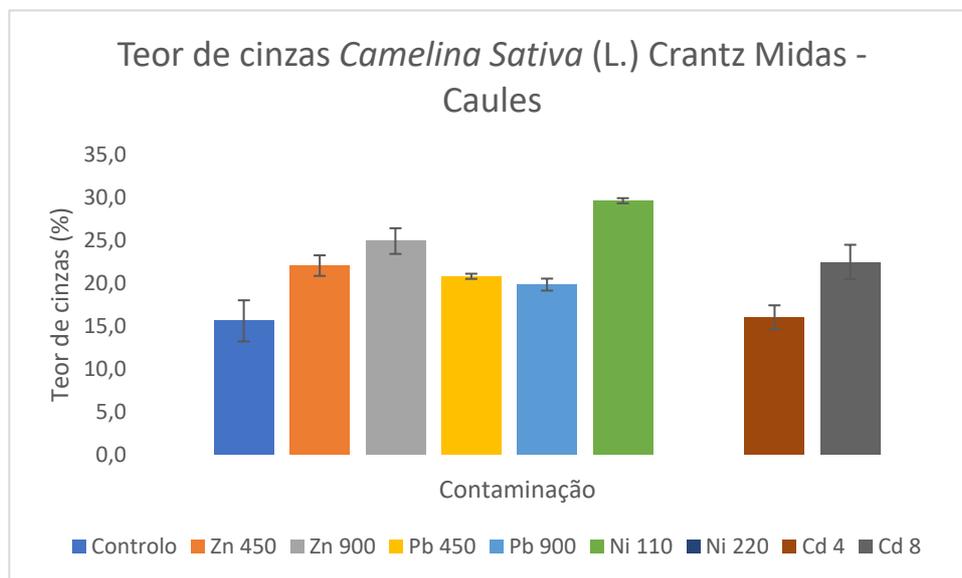
**Figura 4.14. Teor de cinzas nas raízes da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

Através da observação das figuras 4.13 e 4.14 é possível concluir que existe um padrão comum a ambas as variedades da espécie, onde o teor de cinzas presente nas raízes aumenta com o aumento da concentração do metal pesado presente no solo. Tal não se verificou apenas nos ensaios de Cd 4 e Cd 8 onde houve um aumento no teor de cinzas na variedade Midas e uma diminuição na variedade Luna, contudo o teor de cinzas apresentado na contaminação Cd 8 é semelhante a ambas as variedades.

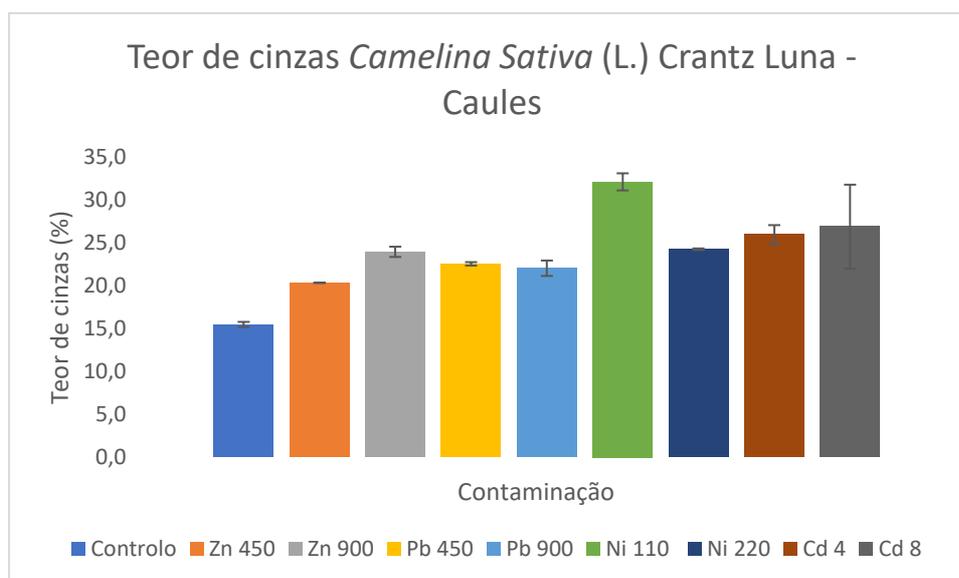
Para ambas as variedades registou-se também um teor de cinzas semelhante em todas as contaminações (com exceção dos ensaios de Zn 900, Cd 4 e Ni 220 este último apenas para a variedade Midas devido aos motivos já referidos) teor esse que teve o valor mais baixo no ensaio de controlo de cerca de 16 % para ambas as variedades. Em contraste o maior teor de cinzas foi encontrado nos ensaios de Zn 900 e Ni 110 (32 %), para a variedade Midas, e de Ni 110 (31,1 %), para a variedade Luna. O aumento do teor de cinzas aquando da contaminação com Zn e Pb não vai de encontro com o observado na literatura, onde não se registaram diferenças significativas entre o ensaio de controlo e os ensaios com este tipo de contaminações. Contudo nos ensaios de Ni e Cd a tendência do aumento do teor de cinzas na presença de contaminações manteve-se.<sup>[61,65]</sup>

Também noutro estudo realizado com a espécie *Miscanthus* ocorreu a diminuição do teor de cinzas em contaminações de Zn e Pb e manteve-se o mesmo valor no ensaio de Ni sendo que apenas se observou um aumento no ensaio realizado com Cd. Estes resultados são explicados com base num mecanismo de exclusão do metal como resposta da planta à toxicidade do mesmo, cujo parece não se ter verificado no presente estudo para a *Camelina sativa* (L.) Crantz. Será necessário avaliar este parâmetro em concordância com os valores de acumulação de metais na planta para aferir a existência deste tipo de mecanismo na *Camelina sativa* (L.) Crantz.<sup>[67]</sup>

Após análise dos resultados obtidos para o sistema radicular, o mesmo foi feito para os caules da espécie em estudo. Os valores obtidos de teor de cinzas para os caules, para ambas as variedades, por cada tipo de contaminação encontram-se expostos nas figuras 4.15 e 4.16:



**Figura 4.15. Teor de cinzas nos caules da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**



**Figura 4.16. Teor de cinzas nos caules da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

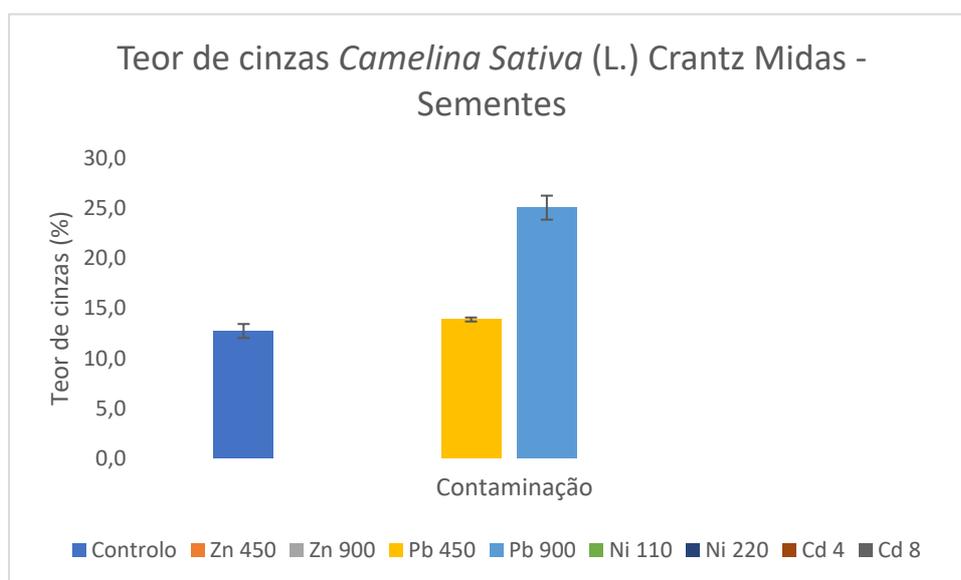
Analogamente, e como pode ser observado nas figuras 4.15 e 4.16, também nos caules o teor de cinzas foi mais baixo para o ensaio de controlo, registando-se um valor de 16 % cujo é muito semelhante ao que foi encontrado no sistema radicular da espécie e no ensaio de Ni 110 registou-se um maior teor de cinzas sendo o valor 29,6 % para a variedade Midas, e 32,1 % para a variedade Luna. Comparativamente a outro estudo realizado o maior valor deveria ter sido encontrado no ensaio de Cd 8, enquanto que o teor de cinzas para os ensaios de Ni deveria estar próximo do teor observado no ensaio de controlo, o que não se verifica.<sup>[55]</sup> Por outro lado para outro género de espécies como o Sésamo a presença de Ni foi de facto benéfica resultando num menor teor de cinzas produzido.<sup>[68]</sup>

Para o metal Zn registaram-se teores de cinzas semelhantes entre os ensaios com diferentes concentrações, havendo apenas uma ligeira subida com o aumento da concentração do metal, comportamento que foi também observado nos ensaios de Cd, para ambas as variedades.

A presença do metal Pb não influenciou a percentagem de cinzas existentes na biomassa dos caules, para ambas as variedades.

Para o metal Ni ocorreu uma descida significativa de 8 % com o aumento da concentração do metal e, tal como foi referido anteriormente, estes resultados não vão de acordo com o que foi demonstrado na literatura para a *Camelina sativa* (L.) Crantz. Outro estudo demonstra que a quantidade de cinzas presentes na biomassa geralmente aumenta nos cultivos em solos contaminados com certos tipos de metais pesados (por exemplo Zn), contudo este mesmo estudo é aplicado a plantas perenes o que não é o caso da espécie em estudo.<sup>[69]</sup>

Por último também se aferiu o teor de cinzas presentes nas sementes de ambas as variedades da espécie, para cada tipo de contaminação. Como já foi referido, aquando do cálculo da produtividade, a quantidade de sementes produzidas pela variedade Luna foi insuficiente e deste modo não foi considerada para o presente estudo, analisando-se apenas as sementes da variedade Midas e obtendo-se os valores que se encontram disponíveis na figura 4.17:



**Figura 4.17. Teor de cinzas nas sementes da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

Pela observação da figura 4.17, do mesmo modo que foi verificado para as restantes estruturas da planta, também nas sementes o teor de cinzas é inferior no ensaio de controlo apresentando um valor de 12,7 %. O valor obtido mais elevado correspondeu à contaminação com Pb 900 sendo o mesmo 25,1 %. Este valor é substancialmente superior ao encontrado na contaminação com Pb 450, cujo é muito semelhante ao ensaio de controlo, registando-se um aumento do teor de cinzas na biomassa com o aumento da concentração deste metal.

O cultivo em solos contaminados com baixas concentrações de Pb aparenta não ter influência no teor de cinzas presente nas sementes, tal forma que o cultivo da espécie nestas condições não impactará negativamente a extração e utilização do óleo da *Camelina sativa* (L.) Crantz para posterior conversão energética.

#### 4.2.2.2. Teor de azoto

O azoto (N), é uma substância fundamental para diversos processos fisiológicos de crescimento e desenvolvimento de uma planta, nomeadamente na fotossíntese e participação na constituição de proteínas, enzimas, DNA, RNA, entre outros. Na maioria dos casos a captação de N é feita, através das raízes, sob a forma de nitratos ou de ião amónia e de seguida este elemento é transferido para o resto da planta. Algumas plantas apresentam outra forma de captação de N através da relação simbiótica com outros organismos alojados na planta que conseguem fixar moléculas de N<sub>2</sub> presentes na atmosfera, sendo uma importante vantagem em cultivos de solos pouco ricos em N ou solos contaminados devido à escassez de matéria orgânica e nutrientes neste tipo de solos.<sup>[70,71]</sup>

A baixa disponibilidade de N no solo é um dos principais fatores limitantes do crescimento das plantas pelo que a análise à quantidade de N acumulado na biomassa é também um indicador do desenvolvimento da planta e atingimento da sua maturação, estando diretamente relacionada com a sua produtividade. Todavia a presença de N na planta é também um indicador negativo a ter conta dado que aquando da combustão de biomassa uma maior quantidade de N corresponderá a uma maior emissão de NO<sub>x</sub> para a atmosfera. A emissão deste tipo de gases reflete-se num maior risco para o meio ambiente e para a saúde pública através do aumento do efeito de estufa, acidificação das chuvas e afetando negativamente as funções cardiorespiratórias dos seres vivos.<sup>[70,73]</sup>

Com base nas permissas encontradas na literatura e para uma caracterização mais completa da biomassa produzida pela *Camelina sativa* (L.) Crantz, analisou-se também o teor de azoto presente nas diferentes estruturas da planta. Analogamente às restantes análises começou-se por verificar os valores obtidos para o sistema radicular, para ambas as variedades, consoante o tipo de contaminação sendo que os resultados obtidos encontram-se descritos nas figuras 4.18 e 4.19:

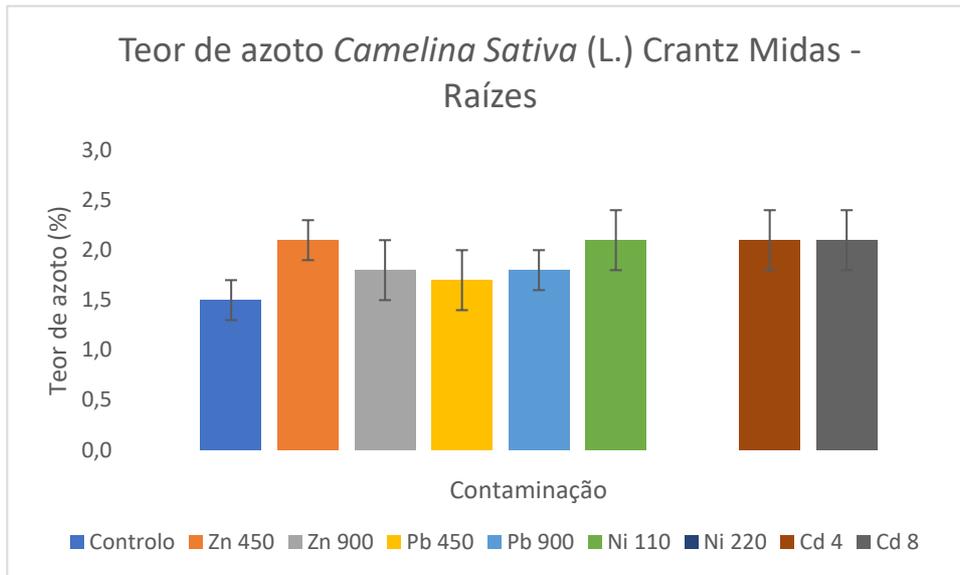


Figura 4.18. Teor de azoto nas raízes da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão

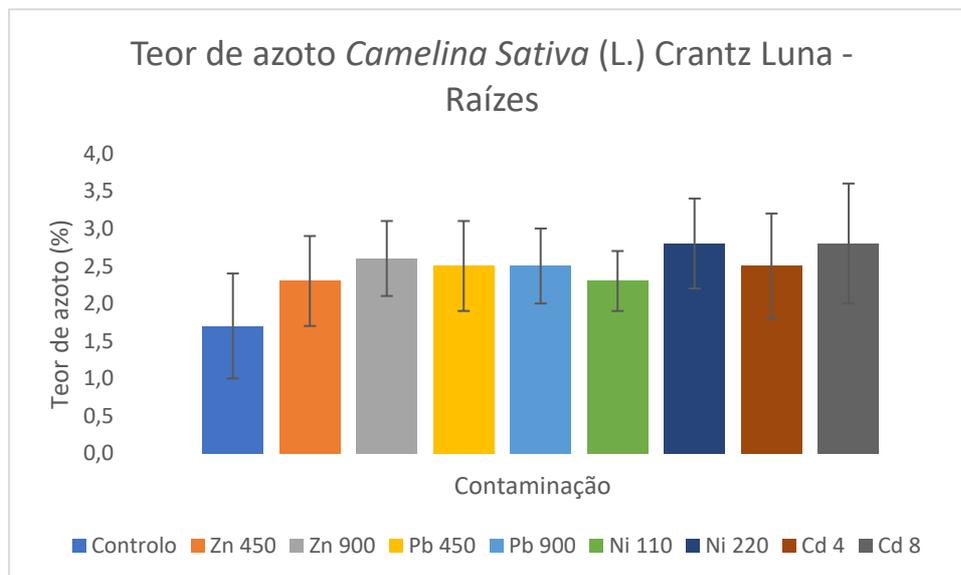


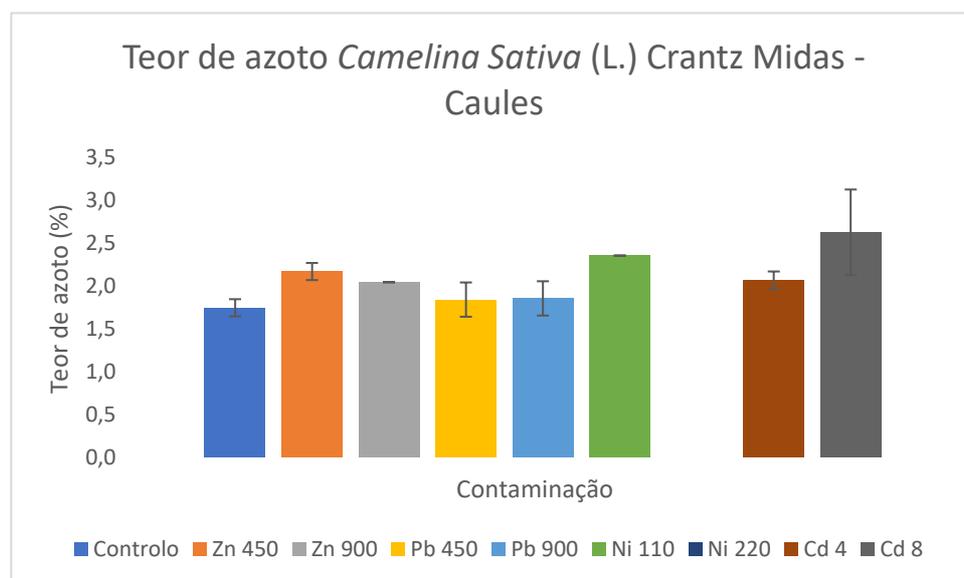
Figura 4.19. Teor de azoto nas raízes da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão

Observando as figuras 4.18 e 4.19 conclui-se que o teor de azoto na biomassa foi mais baixo para os ensaios de controlo, sendo de 1,5 % para a variedade para a variedade Midas e de 1,7 % para a variedade Luna. No que diz respeito aos ensaios com contaminações o padrão demonstrado é de que o teor de azoto na *Camelina sativa* (L.) Crantz aumenta ligeiramente para maiores concentrações de metal pesado, verificando-se contudo a tendência contrária nos ensaios de Zn da variedade Midas. As variações detetadas de quantidade de N na biomassa são relativamente baixas e pouco significativas, com os valores de teor de azoto a estarem compreendidos entre 1 a 3 % para todos os ensaios.

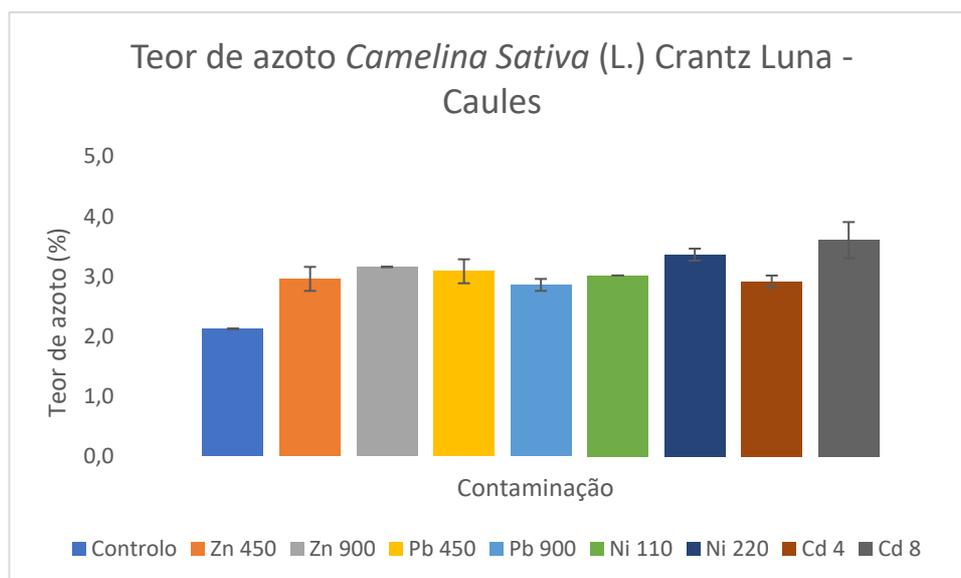
A *Camelina sativa* (L.) Crantz é uma espécie com um requerimento bastante baixo de N comparativamente a outras culturas oliagenosas o que justifica os baixos valores de N apresentados em todos os ensaios. O aumento deste valor no cultivo em solos contaminados poderá ser uma resposta adaptativa da planta quando se encontra sob condições de stress provocado pela presença dos metais, necessitando de maior quantidade de N para o normal funcionamento dos seus processos fisiológicos e atividades metabólicas.<sup>[71]</sup>

Os valores observados vão de encontro com os que estão registados na literatura sendo bastante semelhantes.<sup>[61]</sup>

De seguida analisou-se o teor de azoto nos caules, de novo para ambas as variedades, tendo em conta o tipo de contaminação. Os resultados obtidos encontram-se expostos nas figuras 4.20 e 4.21:



**Figura 4.20. Teor de azoto nos caules da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

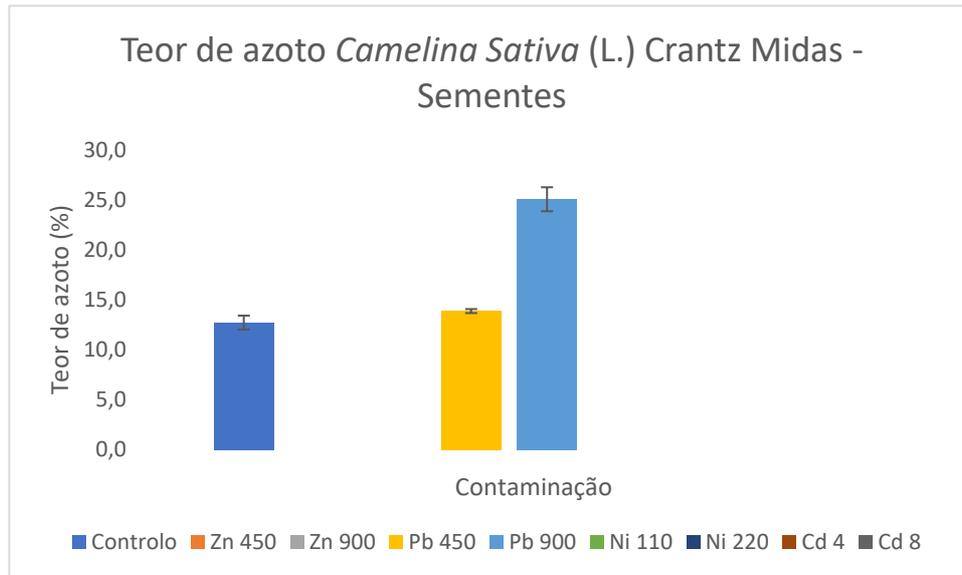


**Figura 4.21. Teor de azoto nos caules da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

Pela observação das figuras 4.20 e 4.21 pode-se concluir que o teor de azoto na biomassa dos caules apresentou valores mais baixos, mais uma vez para os ensaios de controlo apresentando um teor de azoto de 1,7 e 2,1 % para as variedades Midas e Luna respetivamente. Os restantes ensaios com contaminações apresentaram valores semelhantes, para ambas as variedades, sendo que o maior valor foi de 3,6 % na contaminação com Cd 8, para a variedade Luna. Não se verificou uma tendência linear de aumento do teor de azoto nos caules com o aumento da concentração de metal pesado havendo ligeiros aumentos ou diminuições dos valores consoante a variedade e o tipo de contaminação, contudo estas ligeiras diferenças não são significativas e podem ser explicadas pelas diferentes respostas dadas pela planta quando se encontra sob stress provocado pela presença do metal.

Contrariamente ao que foi observado na literatura a presença de um metal pesado aumentou, em todos os ensaios, o teor de azoto dos caules. As diferenças são contudo relativamente pequenas e, assim sendo, pouco significativas.<sup>[61,65]</sup>

Por fim analisou-se o teor de azoto presente nas sementes da variedade Midas, sendo que os mesmos encontram-se apresentados na figura 4.22:



**Figura 4.22. Teor de azoto nas sementes da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

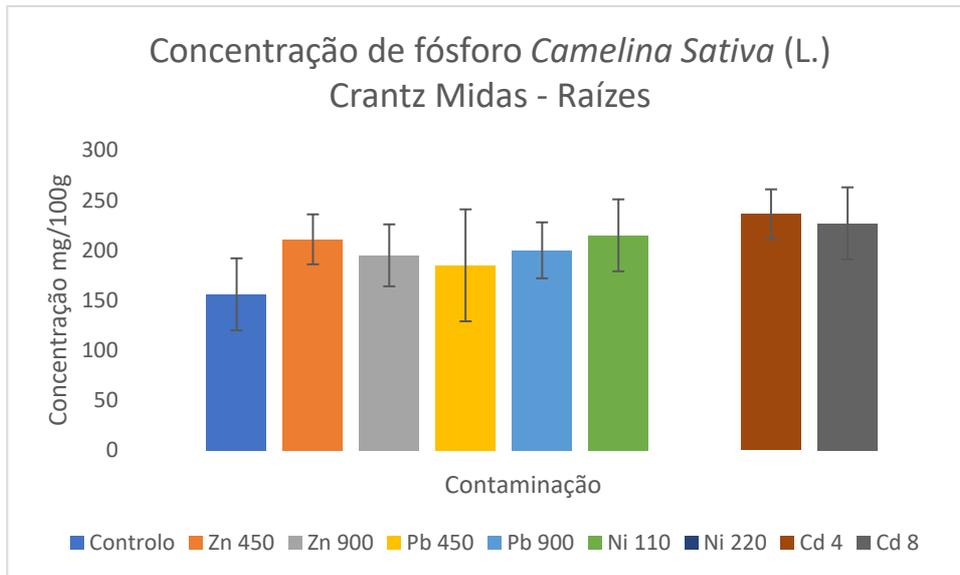
Observando a figura 4.22 pode-se concluir que para todas as estruturas da planta o ensaio de controlo foi o que apresentou um menor teor de azoto sendo nas sementes 12,7 % para a variedade Midas. Na contaminação com Pb observa-se uma subida muito abrupta (cerca de 12 %) com o aumento de concentração do metal. Segundo a literatura a produtividade das sementes da espécie está diretamente relacionada com a sua capacidade de acumulação de azoto aumentando a quantidade de biomassa produzida nesta estrutura, apesar de diminuir o teor de óleo disponível nas sementes, contudo tal não se verificou no presente estudo onde os ensaios de Pb revelaram produtividades bastante reduzidas.<sup>[73]</sup> É também bastante curioso que a *Camelina sativa* (L.) Crantz tenha uma baixa necessidade de N mas em altas concentrações de Pb se tenha verificado o contrário. Poderão ser realizados outros estudos de modo a compreender o porquê deste efeito e se possível comparando com outro tipos de metais pesados.

### 4.2.2.3. Teor de Fósforo

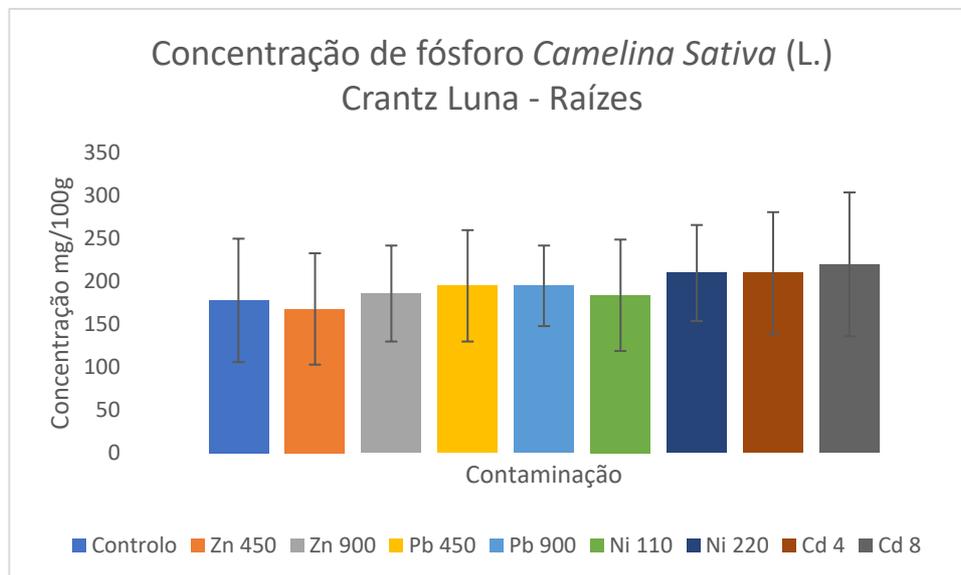
O fósforo (P) é um elemento químico não metálico geralmente classificado como um nutriente de grande importância na fase de crescimento das plantas. Este elemento participa na composição de vários tipos de moléculas como os ácidos nucleicos, fosfolípidos e ATP e atua como regulador de alguns tipos de enzimas e atividades metabólicas. Este elemento pode também funcionar como inibidor da mobilidade de metais pesados no solo garantindo-lhe características positivas para fitorremediação. A captação desta substância é realizada através do sistema radicular da planta sendo assimilado sob a forma de fosfatos. Por norma as plantas necessitam de elevadas quantidades de P para o seu desenvolvimento e a deficiência ou pobreza deste elemento no solo leva a uma considerável diminuição do rendimento do cultivo.<sup>[74,75]</sup>

A *Camelina sativa* (L.) Crantz apresenta uma baixa necessidade para este macronutriente, à semelhança do que foi observado para com o elemento N, sendo que o mesmo também pode ser aplicado ao potássio (K). Através desta característica a planta revela características positivas económicas e ambientais dado que a utilização de fertilizantes não se revela necessária.<sup>[76]</sup>

Deste modo é importante avaliar se no cultivo em solos contaminados com metais pesados, a espécie também revelará esta baixa necessidade de P e comparar a mesma com as produtividades obtidas. Analogamente ao que foi realizado para as cinzas e N, determinou-se a concentração de P presente nas diferentes estruturas da planta, para cada tipo de contaminação, em ambas as variedades. Primeiramente começou-se por verificar a quantidade de P nas raízes sendo que os resultados obtidos podem ser observados nas figuras 4.23 e 4.24:



**Figura 4.23.** Concentração de fósforo nas raízes da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão

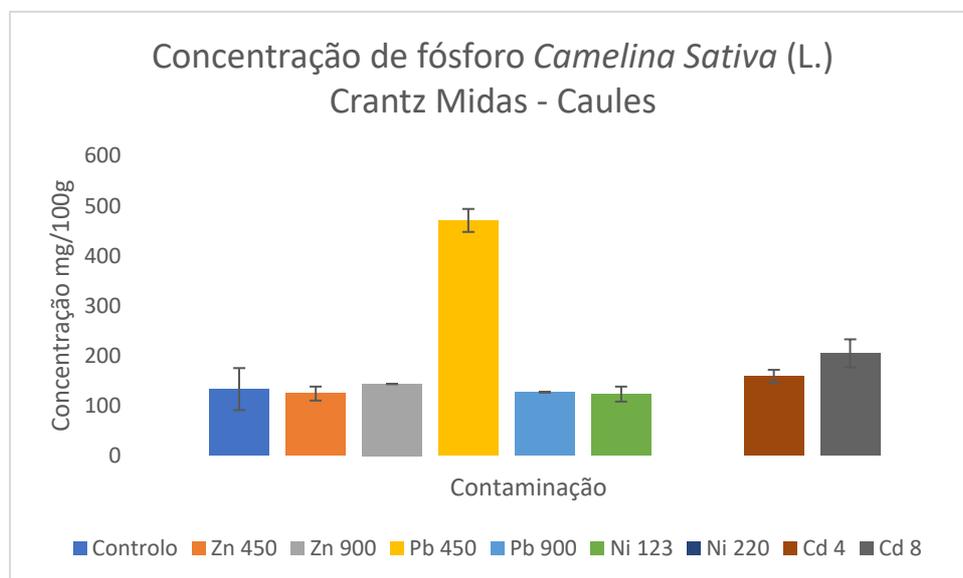


**Figura 4.24.** Concentração de fósforo nas raízes da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão

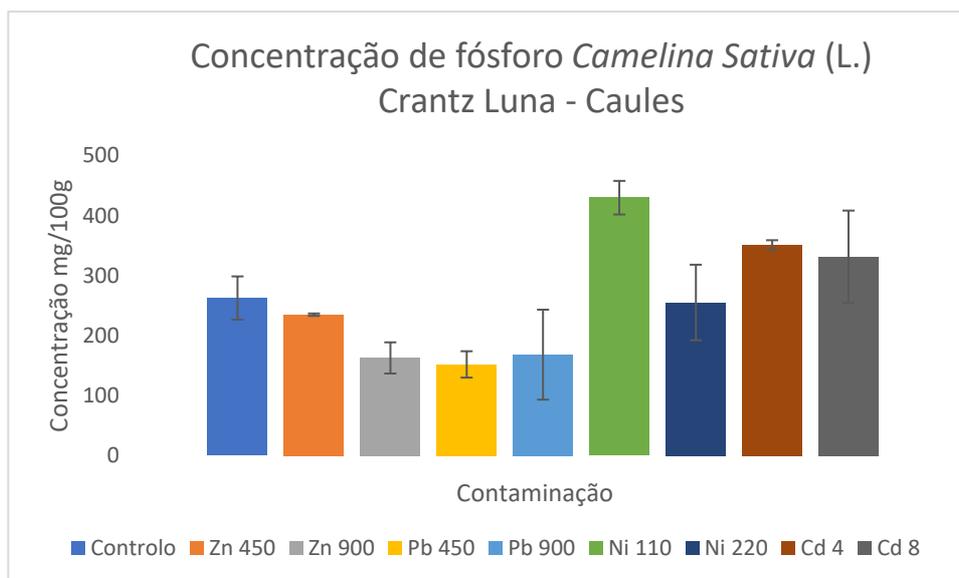
Pela interpretação da figura 4.23 é possível perceber que, para a variedade Midas, a concentração de P foi menor no ensaio de controlo, com um valor de 156 mg/100g. Nos ensaios com Zn é possível reparar que o aumento da concentração do metal fez diminuir a quantidade de P presente na biomassa de 211 para 195 mg/100g. Nas contaminações com Pb o aumento na concentração do metal levou a um ligeiro aumento na quantidade de P, de 185 para 200 mg/100g. Na contaminação com Ni atingiu-se um valor de 215 mg/100g cujo é relativamente mais elevado que o valor obtido no ensaio de controlo. Nas contaminações de Cd observou-se uma ligeira diminuição entre os ensaios, de 236 para 227 mg/100g.

A análise à figura 4.24 demonstra, para a variedade Luna, que para o ensaio de controlo, obteve-se um valor de 178 mg/100g, cujo é ligeiramente superior ao encontrado na variedade Midas. Contrariamente ao que foi observado na variedade Midas o valor mais baixo foi noticiado no ensaio de Zn 450 correspondente a 168 mg/100g. Este valor variou com o aumento da concentração de Zn passando para 186 mg/100g. Os ensaios de Pb apresentaram valores iguais correspondentes a 195 mg/100g, e comparações entre os mesmos não são necessárias. Para os ensaios de Ni e Cd registou-se um aumento da concentração de P aquando do aumento da concentração do metal, sendo estas variações de 184 para 210 mg/100g e de 210 para 220 mg/100g, respetivamente.

De seguida analisou-se a concentração de P nos caules, para cada tipo de contaminação, de ambas as variedades sendo que os resultados obtidos podem ser visualizados nas figuras 4.25 e 4.26:



**Figura 4.25. Concentração de fósforo nos caules da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**



**Figura 4.26. Concentração de fósforo nos caules da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

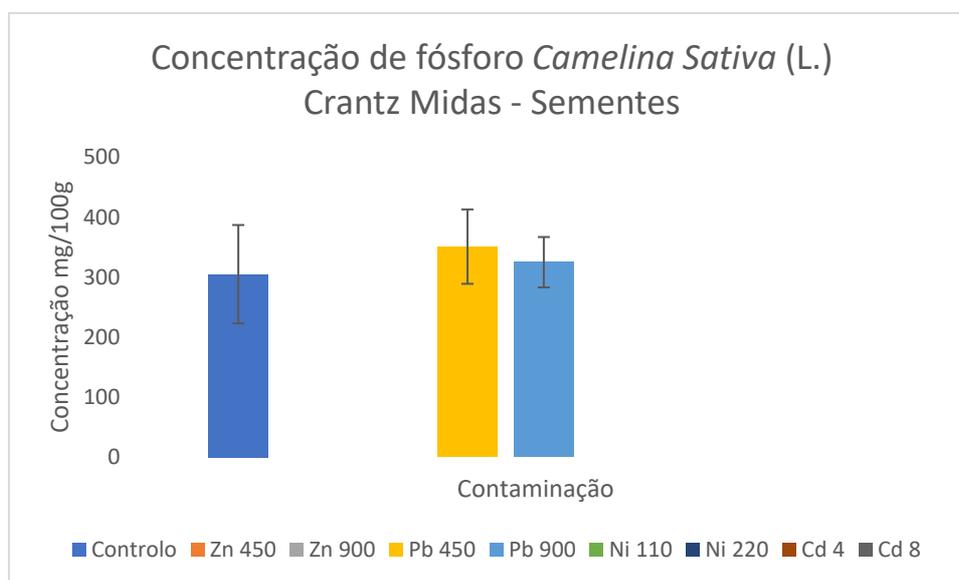
Observando a figura 4.25 pode-se verificar logo à partida que, para a variedade Midas, o maior valor de concentração de P foi registado no ensaio Pb 450, sendo o mesmo de 471 mg/100g. Nos outros ensaios, comparativamente, registaram-se valores muito semelhantes sendo o mais baixo na contaminação com Ni 110 correspondente a 123 mg/100g. Entre os ensaios de Cd 4 e Cd 8 observou-se um ligeiro aumento na concentração de P, de 159 para 205 mg/100g.

Na figura 4.26 verifica-se que o ensaio de controlo obteve valores mais elevados quando comparado com a variedade Midas, correspondente a 263 mg/100g. Nos ensaios com Zn registou-se uma ligeira descida na concentração de P, de 235 para 163 mg/100g. Nos ensaios de Pb 450 e Pb 900 obtiveram-se valores bastante semelhantes sendo os mesmos 152 e 168 mg/100g, respetivamente. O valor obtido no ensaio de Pb 450 foi também o mais baixo para esta variedade. Relativamente aos ensaios com Ni registou-se o maior valor de concentração de P correspondente a 430 mg/100g, no ensaio de Ni 110. Este valor variou abruptamente com o aumento da concentração de Ni, diminuindo para 255 mg/100g. Nos ensaios com Cd tal como foi verificado nos ensaios de Pb, os valores obtidos foram bastante semelhantes sendo os mesmos 351 e 331 mg/100g, para o Cd 4 e Cd 8 respetivamente.

Segundo a literatura a *Camelina sativa* (L.) Crantz apenas consegue absorver P presente no solo se este se encontrar presente em substâncias iónicas ( $H_2PO_4^-$  e  $HPO_4^{2-}$ ). A difusão destes iões para o sistema radicular da planta dá-se de forma lenta originando oportunidades de interação dos mesmos com diversos metais pesados presentes no solo. As ligações formadas entre os metais e estes compostos poderão diminuir a biodisponibilidade dos grupos fosfato, tornando o transporte de P para a planta muito mais árduo.

É possível que para a variedade Midas o metal Pb tenha um impacto positivo na translocação de P para a planta, contudo apenas se verificou esse fenómeno nas concentrações mais baixas do metal sendo que mais estudos deverão ser realizados para entender os seus efeitos. Na variedade Luna esta permissa mantém-se tendo em conta que os metais que apresentaram efeitos adversos na mobilidade de P foram o Zn e o Pb.<sup>[77]</sup>

Por fim as sementes da variedade Midas foram também analisadas de forma a aferir, para cada tipo de contaminação, a quantidade de P presente nas mesmas. Os resultados obtidos encontram-se na figura 4.27:



**Figura 4.27. Concentração de fósforo nas sementes da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão**

A análise à figura 4.27 revela que nas sementes da variedade Midas o valor mais baixo de concentração de P foi obtido no ensaio de controlo, sendo o mesmo 305 mg/100g. Entre as contaminações com Pb houve uma ligeira diminuição da concentração de Pb, variando de 351 para 325 mg/100g, nos ensaios de Pb 450 e Pb 900 respetivamente. Em geral os valores obtidos encontram-se próximos e demonstrando que a contaminação de Pb não teve influência significativa na acumulação de P nas sementes da espécie. Os resultados obtidos vão também ao encontro do que foi registado noutra estudo, para as mesmas concentrações do metal.<sup>[65]</sup>

#### 4.2.2.4. Teor de metais

A quantidade de metais absorvidos pela espécie é um fator indicativo das suas capacidades de acumulação e deve ser analisado para determinar o caráter hiperacumulador da planta e ser feita uma avaliação do seu potencial fitorremediador. Apesar da importância deste fator, uma maior concentração de metais na planta levará conseqüentemente à maior liberação deste tipo de substâncias para a atmosfera aquando da combustão da biomassa, resultando em impactos ambientais mais prejudiciais.

Deste modo no presente estudo avaliaram-se as concentrações dos diferentes tipos de metais (Zn, Pb, Ni, Cd) em cada uma das estruturas da planta, para ambas as variedades da espécie, para ser feita a aferição do seu potencial fitorremediador entre outras conclusões que possam ser retiradas. Nesta avaliação foram utilizados dois indicadores associados à presença de metais pesados nas plantas sendo eles o Índice de Acumulação (IA) e o Fator de Translocação (FT).

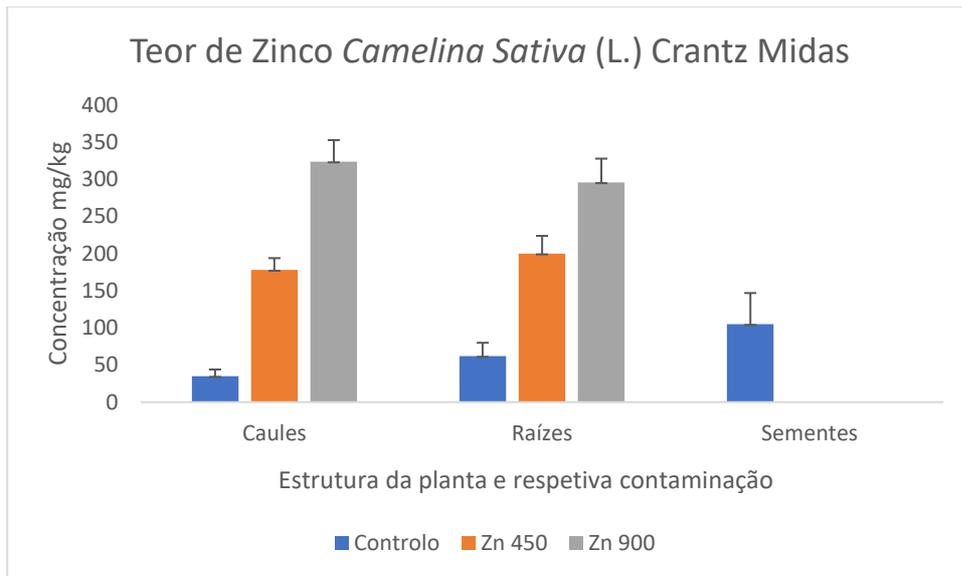
O Índice de Acumulação serve como indicador da capacidade da planta de acumular um determinado elemento em maiores quantidades que o habitual, neste caso os metais pesados, e o mesmo pode ser determinado através da seguinte equação<sup>[78]</sup>:

$$IA = \frac{\text{Concentração metálica na fração da planta do solo contaminado (mg/kg)}}{\text{Concentração metálica na fração da planta do ensaio de controlo (mg/kg)}}$$

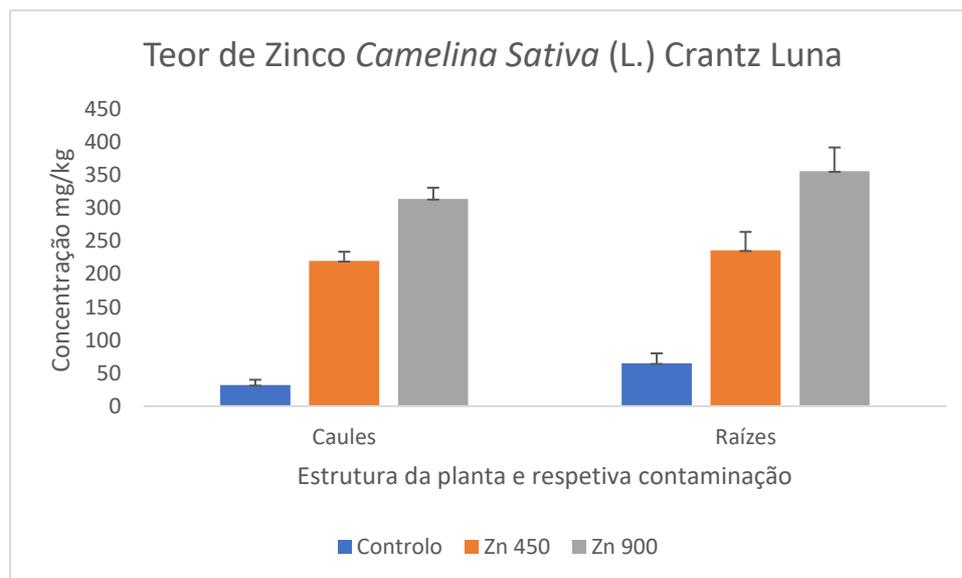
O Fator de Translocação permite avaliar a capacidade da planta para translocar os metais, que absorve no sistema radicular, para as suas estruturas aéreas. Para calcular este parâmetro utilizou-se a seguinte equação<sup>[78]</sup>:

$$FT = \frac{\text{Concentração metálica na fração aérea da planta (mg/kg)}}{\text{Concentração metálica na fração de raízes da planta (mg/kg)}}$$

Primeiramente analisou-se a quantidade de Zn presente na *Camelina sativa* (L.) Crantz, e procedeu-se à determinação do respetivo IA e FT, sendo que os resultados obtidos encontram-se expostos nas figuras 4.28 e 4.29:



**Figura 4.28.** Teor de zinco nas estruturas da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão



**Figura 4.29.** Teor de zinco nas estruturas da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão

Recorrendo à figura 4.28 é possível verificar que, para a variedade Midas, o ensaio de controlo atingiu o valor mínimo de concentração em todas as estruturas da planta, sendo este valor 32 mg/kg nos caules, 62 mg/kg nas raízes e 105 mg/kg nas sementes. O aumento da quantidade de Zn no solo levou ao aumento da concentração deste metal observando-se valores de 178 mg/kg nos caules e 200 mg/kg nas raízes para o ensaio de Zn 450. A presença do metal nas sementes não foi contabilizada para ambos os ensaios de Zn, uma vez que não foram produzidas sementes nestes vasos. No ensaio de Zn 900 ocorreu um aumento ainda maior da concentração de metal registando-se o valor de 324 mg/kg nos caules e 296 mg/kg nas raízes. Contrariamente ao que foi observado no ensaio Zn 450, houve maior acumulação do metal nos caules ao invés das raízes.

Analogamente pela observação da figura 4.29 verifica-se que, para a variedade Luna, os ensaios de controlo tiveram também os valores mais baixos em todas as estruturas da planta, sendo estes 32 mg/kg nos caules e 65 mg/kg nas raízes. Não houve produção de sementes, quer no controlo quer nos solos contaminados da variedade Luna. Com o aumento da quantidade de Zn disponível no solo a acumulação deste metal em ambas as estruturas também sofreu um aumento observando-se uma concentração de 220 mg/kg nos caules e 236 mg/kg nas raízes, para o ensaio Zn 450. Esta variação foi ainda maior para o ensaio Zn 900 obtendo-se valores de 314 mg/kg e 356 mg/kg nos caules e raízes da planta, respetivamente.

Os valores obtidos para as diferentes estruturas da planta consoante cada ensaio vão ao encontro do que foi verificado noutro estudo com a, havendo apenas ligeiras diferenças nos mesmos.<sup>[65]</sup>

Estes resultados apoiam a hipótese de que o metal Zn apresenta uma elevada biodisponibilidade e mobilidade no solo, conseguindo ser facilmente absorvido pela espécie. A mobilidade do Zn vai depender essencialmente do pH do solo, havendo uma relação direta entre este fator e a disponibilidade do metal (aumento do teor de Zn por cada unidade de pH reduzido). Esta variação deve-se ao facto do pH influenciar a forma como o Zn se vai apresentar no solo. Para  $\text{pH} > 7,5$  a disponibilidade do metal diminui devido à dominância no solo da forma  $\text{Zn}^{2+}$ , a  $\text{pH} = 7,7$ , e da forma  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  entre  $\text{pH} 9$  a  $11$ , sendo que a absorção do metal pela planta é efetuada quando este se encontra na sua forma catiónica. Dado que no presente estudo foi utilizado um solo de  $\text{pH} = 7,66$  garantiu-se que o metal não estaria precipitado. Para além do pH, também a quantidade do componente argiloso no solo, a proporção de componentes orgânicos, o teor de carbonato de cálcio, a atividade dos microrganismos, humidade do solo, concentração de outros oligoelementos, concentração de fósforo e as condições climáticas são fatores que podem afetar a biodisponibilidade do Zn no solo.<sup>[79]</sup>

A absorção do Zn dá-se a partir do seu sistema radicular havendo posteriormente a sua translocação para a parte aérea da planta através do xilema. Os íons dipositivos de Zn ( $Zn^{2+}$ ) são considerados como micronutriente tendo um efeito positivo nas células da planta, como a ativação de diversos enzimas, desenvolvimento de cloroplastos e participação na proliferação e diferenciação das células, contudo quando presentes em grande quantidade competem com outro tipo de íões necessários à atividade celular e exibindo deste modo características tóxicas para a planta. Como exemplo destas características tem-se a clorose de folhas mais jovens (provavelmente devido à competição entre o Zn e o Fe) e a redução da biomassa produzida e do desenvolvimento do sistema radicular.<sup>[79]</sup>

Posteriormente procedeu-se ao cálculo do IA e FT do metal Zn nas diferentes estruturas da espécie, para ambas as variedades. Na tabela 4.3 encontram-se os valores de IA obtidos tendo em conta a variedade e estrutura da planta:

**Tabela 4.3 IA das variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz para cada uma das contaminações de zinco**

Estrutura da planta	Variedade	IA Ensaio Zn 450	IA Ensaio Zn 900
Caules	Midas	5,08	9,25
	Luna	6,88	9,81
Raízes	Midas	3,22	4,77
	Luna	3,63	5,48
Sementes	Midas	N.D	N.D
	Luna	N.D	N.D

No que diz respeito ao potencial fitorremediador de uma dada espécie, o IA é um ótimo indicador demonstrando a capacidade de acumulação da planta de uma dada substância quando a concentração desta no solo é superior ao normal. Para que possa ser considerado que uma espécie tem um bom potencial acumulador, é necessário que o IA seja superior a 1.<sup>[78]</sup> Tendo em conta esta permissa e pela análise dos valores obtidos conclui-se que ambas as variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz apresentam uma boa capacidade de acumulação do metal Zn em quantidades mais elevadas que o habitual.

É de realçar que para ambas as variedades a maior acumulação do Zn efetuou-se na parte aérea da planta sendo o IA mais elevado nos caules da planta para o ensaio Zn 900. Como a concentração de Zn nas sementes não foi contabilizada torna-se impossível calcular o IA relativo a esta estrutura. Os valores obtidos vão de acordo com o que foi encontrado na literatura, havendo um maior IA na parte aérea para ambas as variedades da espécie.<sup>[65]</sup>

Por fim calculou-se o FT segundo as mesmas variáveis utilizadas na determinação do IA. Os resultados obtidos para este indicador podem ser observados na tabela 4.4:

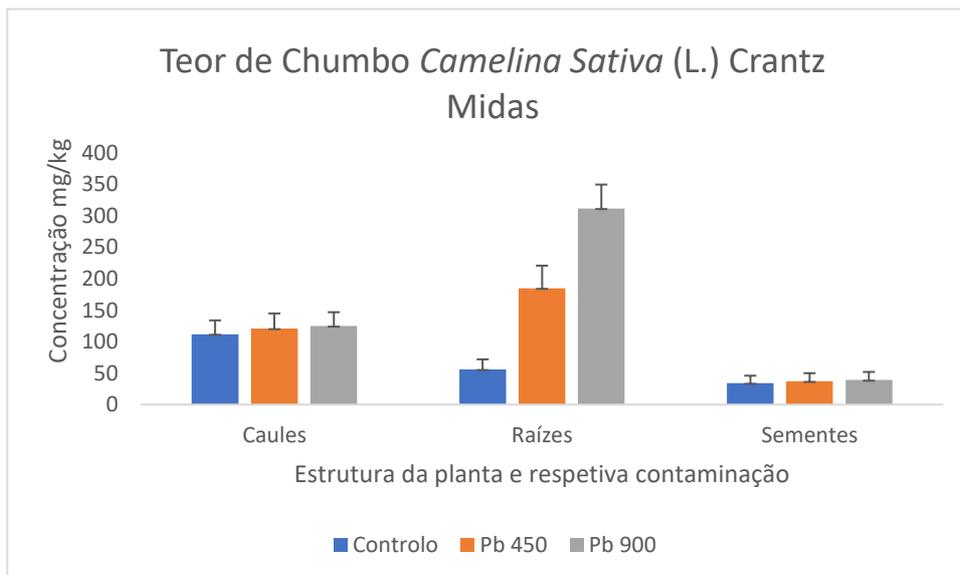
Tabela 4.4 FT das variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz para cada uma das contaminações de zinco

Estrutura da planta	Variedade	FT Ensaio de controlo	FT Ensaio Zn 450	FT Ensaio Zn 900
Caules	Midas	0,56	0,89	1,09
	Luna	0,49	0,93	0,88
Sementes	Midas	1,69	N.D	N.D
	Luna	N.D	N.D	N.D

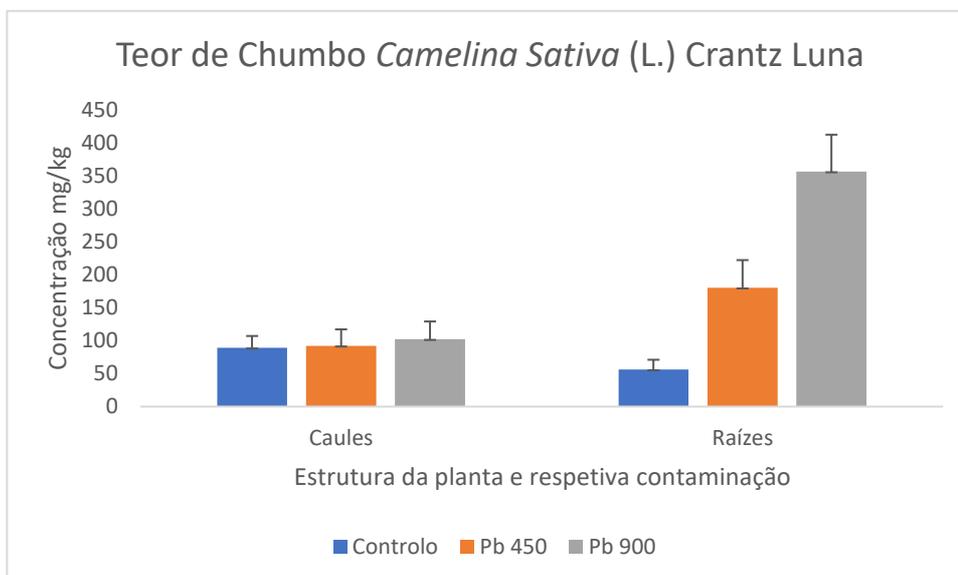
O FT é um indicador de avaliação da capacidade da planta para transferir uma dada substância do seu sistema radicular para ser armazenada nas suas frações aéreas, bastante útil na identificação das zonas estruturais da planta onde ocorre maior acumulação dessa mesma substância. À semelhança do IA para classificar uma espécie como tendo características acumuladoras nas estruturas aéreas da sua biomassa é necessário que o FT seja superior a 1.<sup>[78]</sup>

Observando os dados exibidos na tabela 4.4 é possível concluir que a *Camelina sativa* (L.) Crantz não tem tendência a armazenar Zn nos seus caules, porém este comportamento altera-se com o aumento da concentração do metal no solo. Uma grande parte de Zn é também armazenado nas sementes da planta, registando-se o maior valor de FT nas sementes do ensaio de controlo. Tendo em conta que a translocação do Zn para as estruturas aéreas é reduzida, estas podem ser aproveitadas para fins energéticos com menores implicações ambientais aquando da presença do metal Zn na biomassa, contudo a utilização da *Camelina sativa* (L.) Crantz em solos contaminados com Zn poderá ser encaminhada para processos de fitoestabilização com vista a isolar o metal no seu sistema radicular, reduzindo a sua biodisponibilidade e impedindo a sua entrada na cadeia alimentar.<sup>[80]</sup>

Analogamente foi também analisada a quantidade de Pb na *Camelina sativa* (L.) Crantz e calculado o IA e FT para as diferentes estruturas da planta. Os resultados obtidos de quantidade de Pb presente na biomassa estão expostos nas figuras 4.30 e 4.31:



**Figura 4.30** Teor de chumbo nas estruturas da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão



**Figura 4.31.** Teor de chumbo nas estruturas da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão

Com recurso à figura 4.30 observa-se que, na variedade Midas, para os ensaios de controlo a acumulação de Pb foi inferior no sistema radicular comparativamente com os caules, registando-se concentrações de 56 mg/kg e 112 mg/kg, respetivamente. As sementes registaram o valor mais baixo sendo o mesmo 34 mg/kg. Com o aumento da quantidade de metal disponível no solo a planta realocou este metal para a sua fração subterrânea havendo diferenças muito pouco significativas na concentração de Pb nos caules. No ensaio de Pb 450 verificou-se então para os caules, raízes e sementes os valores de 121 mg/kg, 185 mg/kg e 37 mg/kg, enquanto que no ensaio de Pb 900 obtiveram-se concentrações de 125 mg/kg, 312 mg/kg e 39 mg/kg, respetivamente.

Recorrendo à figura 4.31 é possível verificar que a variedade Luna exhibe um comportamento semelhante à variedade Midas nas diferentes condições de presença do metal, registando-se um aumento de concentração desta substância aquando da maior biodisponibilidade da mesma. Nos ensaios de controlo obtiveram-se valores para os caules e raízes da planta de 89 mg/kg e 56 mg/kg, respetivamente. No ensaio de Pb 450 esses mesmos valores aumentaram para 92 mg/kg e 180 mg/kg, enquanto que no ensaio de Pb 900 registou-se uma subida para 102 mg/kg e 356 mg/kg.

A absorção deste metal é diretamente impactada pelo tamanho das partículas do solo, capacidade de troca catiónica, área de superfície das raízes, exsudatos das raízes, processos de micorrização e transpiração da planta. Para além dos fatores mencionados a absorção do metal é ótima quando o solo apresenta valores de pH entre 3 e 8,5, contudo entre pH 5,5 e 7,5 a solubilidade de Pb é controlada pela presença de precipitados de fosfatos ou carbonatos diminuindo a biodisponibilidade do metal. Dado que a maior parte de Pb existente no solo encontra-se em formas orgânicas ou precipitados (como mencionado anteriormente) a sua absorção pela raízes da planta é diminuída levando a uma redução da sua biodisponibilidade.<sup>[81]</sup>

Os resultados obtidos vão ao encontro do que foi observado na literatura, onde se verificou uma tendência semelhante no comportamento da espécie.<sup>[64]</sup> Este comportamento é comum a outras espécies como a *Salix viminalis* L., a *Brassica juncea* L., a *Zea mays* L. e *Helianthus annuus* L. onde a capacidade de acumulação e tolerância a Pb nas raízes é elevada.<sup>[80]</sup>

De seguida determinou-se o IA e FT nas diferentes estruturas integrantes da planta, para ambas as variedades da espécie. Os resultados obtidos encontram-se expostos na tabela 4.5:

**Tabela 4.5 IA das variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz para cada uma das contaminações de chumbo**

<b>Estrutura da planta</b>	<b>Variedade</b>	<b>IA Ensaio Pb 450</b>	<b>IA Ensaio Pb 900</b>
Caules	Midas	1,08	1,12
	Luna	1,03	1,15
Raízes	Midas	3,30	5,57
	Luna	3,21	6,36
Sementes	Midas	1,09	1,15
	Luna	N.D	N.D

Atendendo aos dados da tabela 4.5 e como já foi referido aquando da determinação do IA nas contaminações com Zn, as culturas contaminadas demonstraram boa capacidade de acumulação de Pb visto que os valores de IA foram sempre superiores a 1, no entanto esta capacidade é inferior à demonstrada para o metal Zn. Observou-se também, para ambas as variedades, um aumento do IA em função do aumento da concentração de Pb no solo verificado maioritariamente nas raízes e corroborando a permissa de que a *Camelina sativa* (L.) Crantz acumula grandes quantidades deste metal nas suas raízes. Contrariamente ao que também foi verificado para o metal Zn, nas contaminações com Pb ambas as variedades de *Camelina sativa* (L.) Crantz demonstraram uma tendência de acumulação do metal no seu sistema radicular havendo pouca alocação desta substância nas suas estruturas aéreas.

Uma possível explicação para tal acontecimento é a ligação deste metal às paredes celulares das raízes, ocorrendo maioritariamente na forma de precipitados de  $PbCO_3$ , nas suas zonas endodérmicas cujas atuam como barreiras no transporte de substâncias das raízes para os caules. A adição de quelatos sintéticos como o EDTA em junção com valores baixos de pH podem prevenir esta deposição de Pb nas paredes celulares das raízes atuando como estímulo no transporte do metal para as suas frações aéreas.<sup>[81]</sup>

Os valores obtidos no presente estudo vão ao encontro do que foi verificado noutra estudo realizado nas mesmas condições experimentais.<sup>[65]</sup>

Por fim, à semelhança do que foi feito para os ensaios com Zn, procedeu-se ao cálculo do FT para as contaminações com Pb. Os resultados obtidos encontram-se exibidos na tabela 4.6:

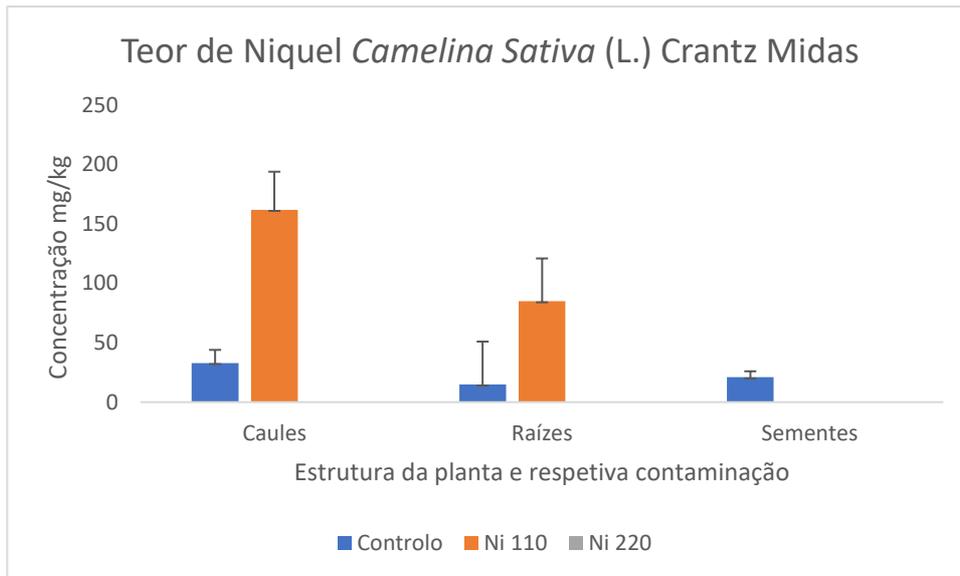
**Tabela 4.6 FT das variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz para cada uma das contaminações de chumbo**

<b>Estrutura da planta</b>	<b>Variedade</b>	<b>FT Ensaio de controlo</b>	<b>FT Ensaio Pb 450</b>	<b>FT Ensaio Pb 900</b>
Caules	Midas	2,00	0,65	0,40
	Luna	1,59	0,51	0,29
Sementes	Midas	0,61	0,20	0,13
	Luna	N.D	N.D	N.D

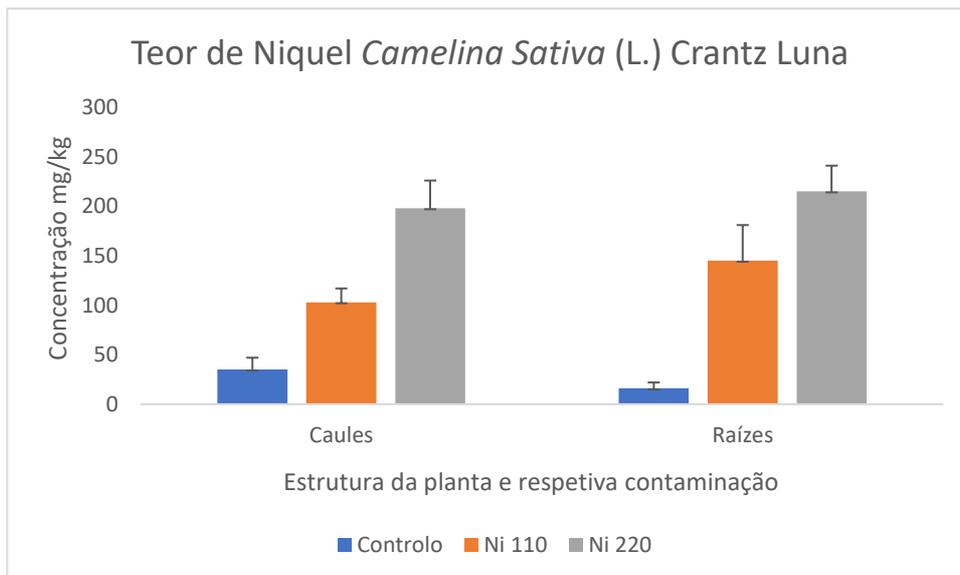
Analogamente aos ensaios de Zn considera-se que a espécie apresenta uma boa capacidade de translocar o metal Pb para as suas estruturas aéreas caso o valor de FT seja superior a 1. Pela análise da tabela 4.6 verifica-se que a *Camelina sativa* (L.) Crantz apenas possui essa capacidade quando não se encontra em condições de stress induzido pela presença do metal, ou seja nos ensaios de controlo. À exceção dos ensaios de controlo, e apenas para as estruturas dos caules em ambas as variedades, as restantes estruturas apresentaram FT inferior a 1, sendo que este índice diminuiu com o aumento da concentração de Pb no solo. O padrão verificado foi semelhante ao encontrado noutro estudo realizado nas mesmas condições experimentais.<sup>[65]</sup>

Tal como já foi mencionado anteriormente na discussão do IA, a *Camelina sativa* (L.) Crantz não consegue translocar o metal Pb para as suas estruturas aéreas resultando numa maior acumulação desta substância no seu sistema radicular. Do ponto de vista energético a utilização da biomassa aérea da espécie é favorecida tendo em conta os valores obtidos de FT, diminuindo a quantidade de Pb libertada aquando de processos de combustão e presente nas cinzas da espécie. Por fim, do mesmo modo que foi concluído para os ensaios com Zn, a grande capacidade de acumulação de Pb no sistema radicular da *Camelina sativa* (L.) Crantz torna-a uma espécie apreciável na escolha para processos de fitoestabilização.

De seguida analisou-se a quantidade de Ni presente em ambas as variedades de *Camelina sativa* (L.) Crantz e determinou-se os valores de IA e FT para as contaminações deste metal, tendo em conta que para a variedade Midas no ensaio com Ni 220 não houve crescimento da cultura como já fora mencionado. Os resultados obtidos da concentração de Ni na planta podem ser observados nas figura 4.32 e 4.33:



**Figura 4.32** Teor de níquel nas estruturas da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão



**Figura 4.33.** Teor de níquel nas estruturas da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão

A análise à figura 4.32 revela uma acumulação relativamente baixa de Ni nas estruturas da planta para os ensaios de controlo de 33 mg/kg, 15 mg/kg, 21 mg/kg para os caules, raízes e sementes respetivamente. A quantidade de Ni na planta sofre um aumento significativo com a maior concentração de metal no solo passando a ser 162 mg/kg nos caules e 85 mg/kg nas raízes para o ensaio de Ni 110. A quantidade de Ni presente nas sementes deste ensaio não foi contabilizada.

Recorrendo à figura 4.33 observa-se um comportamento semelhante da variedade Luna nos ensaios de controlo registando-se concentrações em Ni de 35 mg/kg para os caules e 16 mg/kg para as raízes. Com o aumento da concentração de Ni no solo também se verificou um aumento da quantidade de metal presente na planta, todavia contrariamente ao que foi observado para a variedade Midas, a variedade Luna armazenou uma maior quantidade de Ni no seu sistema radicular ao invés de o fazer nos caules, registando-se valores de 103 mg/kg para os caules e 145 mg/kg para as raízes, no ensaio de Ni 110. Esta tendência manteve-se no ensaio de Ni 220 onde os valores obtidos foram de 198 mg/kg para os caules e 215 mg/kg para as raízes.

Os resultados obtidos são semelhantes aos encontrados noutra estudo contudo apenas para a variedade Luna, sendo que para a variedade Midas verificou-se uma maior acumulação de Ni nas raízes da espécie com o aumento da concentração do metal no solo, contrariamente ao que foi observado no presente estudo.<sup>[61]</sup>

Para ser possível uma melhor discussão dos dados obtidos procedeu-se à determinação do IA e FT de Ni para as estruturas de ambas as variedades da espécie, analogamente ao que foi feito com os metais Zn e Pb. Os resultados obtidos de IA estão expostos na tabela 4.7:

**Tabela 4.7 IA das variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz para cada uma das contaminações de níquel**

<b>Estrutura da planta</b>	<b>Variedade</b>	<b>IA Ensaio Ni 110</b>	<b>IA Ensaio Ni 220</b>
Caules	Midas	4,91	N.D
	Luna	2,94	5,66
Raízes	Midas	5,67	N.D
	Luna	9,06	13,43
Sementes	Midas	N.D	N.D
	Luna	N.D	N.D

Tendo em conta os valores expostos na tabela 4.7, visto que o IA de todas as estruturas é superior a 1, é possível concluir que a *Camelina sativa* (L.) Crantz é uma espécie com boa capacidade de acumulação de Ni. Esta capacidade de acumulação aumenta significativamente com o aumento da quantidade de Ni disponível para a planta. Para uma comparação mais rigorosa entre ensaios a amostra estatística deverá ser maior, pelo que será interessante repetir o estudo em condições de crescimento favorável da espécie em solos contaminados com Ni 220.

A captura do Ni por parte de espécies hiperacumuladoras é feita na sua forma catiónica (Ni<sup>2+</sup>) sendo este ião absorvido através de sistemas de transporte de baixa afinidade, cujos são partilhados com outros metais como Zn e Fe. No citoplasma das células radiculares vários tipos de agentes quelantes são utilizados pelas plantas de modo a aliviar a toxicidade provocada pelo metal e apropriá-lo para o transporte no xilema, entre os quais pressupõe-se que a histidina tenha um papel relevante neste transporte. Este tipo de processos defensivos quando em condições de stress provocado por metais pesados é usual em plantas da família Brassicaceae, da qual faz parte a *Camelina sativa* (L.) Crantz, e que geralmente incluem mecanismos de transporte entre as raízes e os caules, absorção dos metais por parte das raízes, transporte efetivo no xilema e floema e armazenamento do Ni nas diferentes estruturas da planta.<sup>[82]</sup>

Para concluir determinou-se também o FT de Ni para ambas as variedades da espécie e consoante as estruturas integrantes da planta e tipo de ensaio, tal como já fora previamente feito para os metais Zn e Pb. Os resultados obtidos encontram-se exibidos na tabela 4.8:

**Tabela 4.8 FT das variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz para cada uma das contaminações de níquel**

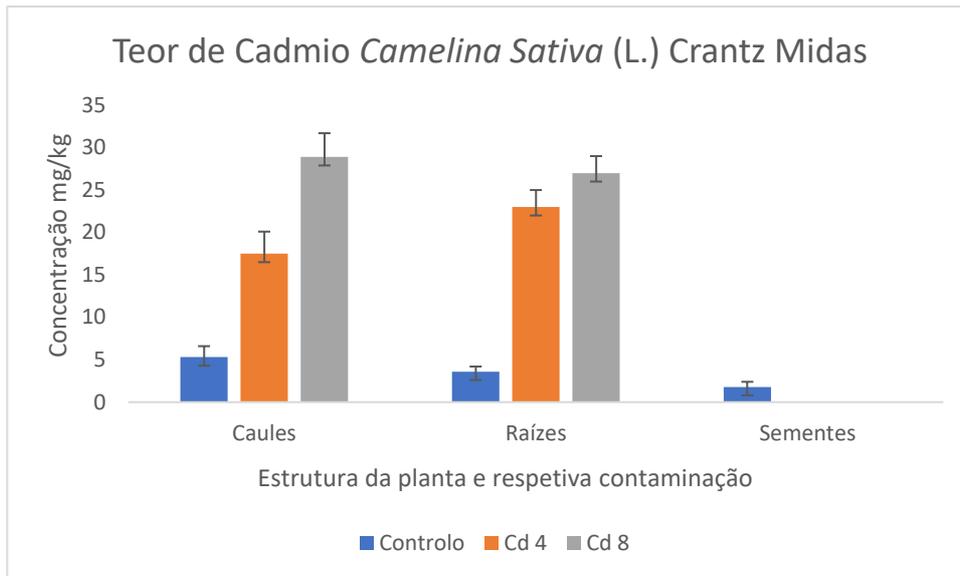
<b>Estrutura da planta</b>	<b>Variedade</b>	<b>FT Ensaio de controlo</b>	<b>FT Ensaio Ni 110</b>	<b>FT Ensaio Ni 220</b>
Caules	Midas	2,20	1,90	N.D
	Luna	2,19	0,71	0,92
Sementes	Midas	1,40	N.D	N.D
	Luna	N.D	N.D	N.D

A análise à tabela 4.8 revela que o FT nos ensaios de controlo foi muito semelhante em ambas as variedades da espécie, tendo as mesmas um comportamento de translocação do Ni para as suas estruturas aéreas. Esta tendência mantém-se para a variedade Midas no ensaio de Ni 110, contudo a variedade Luna expressa um padrão muito diferente armazenando grande parte da quantidade de Ni no seu sistema radicular, à semelhança do que foi observado para os metais Zn e Pb. Com o aumento da concentração de Ni no solo este armazenamento é mais reduzido. Com base nos resultados obtidos e na permissa já referida na análise do FT dos restantes metais, ambas as variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz revelaram boa capacidade de translocação de Ni das raízes para as estruturas aéreas apenas nos ensaios de controlo, sendo que a variedade Midas também revelou esta capacidade na contaminação com Ni 110 enquanto a variedade Luna perdeu a capacidade de translocação.

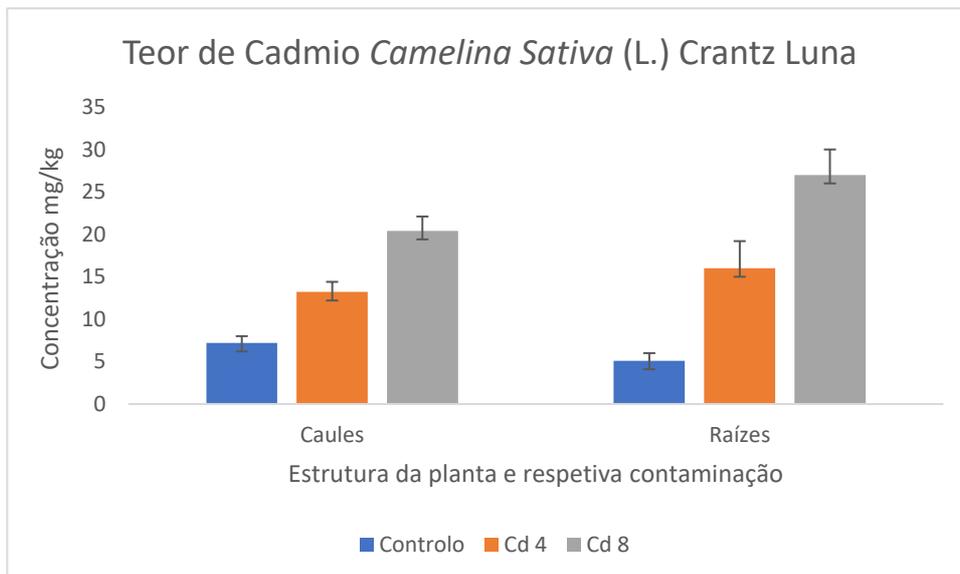
De acordo com a literatura, as espécies hiperacumuladoras armazenam Ni nos seus caules, de modo a translocar o excesso de metal presente nas raízes e assim prevenir os efeitos tóxicos provocados pelo Ni, ao contrário das espécies com baixa tolerância a este metal que acumulam o metal no seu sistema radicular, possivelmente devido a mecanismos de homeostasia do metal nesta estrutura (como verificado para a espécie *Sedum alfredii*) ou ao transporte ineficiente para os caules.<sup>[83,84]</sup>

É possível que a variedade Midas exiba um comportamento semelhante ao de outras espécies acumuladoras, quando em condições de stress induzido pela presença de uma dada substância, armazenando Ni nas suas frações aéreas de modo a proteger as suas raízes, e que a variedade Luna apresente outro tipo de mecanismos comuns a espécies que excluem o Ni da sua biomassa aérea cujos ocorrem no seu sistema radicular. Do ponto de vista energético e fitorremediador a variedade Midas revela maior potencial de fitoextração enquanto que a variedade Luna apresenta maiores capacidades para ser utilizada para fitoestabilização. A capacidade de translocação exibida, tal como para o metal Pb, não é elevada o que possibilita a utilização para fins energéticos da variedade Midas tendo em atenção a quantidade de Ni libertado em processos de combustão e presente nas cinzas da planta.

Em última instância procedeu-se à análise das quantidades de Cd presentes nas diferentes estruturas de ambas as variedades da espécie com base no tipo de contaminação existente no solo, e ao cálculo do IA e FT tal como foi realizado para os restantes metais. Os resultados obtidos da concentração de Cd nas estruturas integrantes de cada variedade da planta podem ser observados nas figuras 4.34 e 4.35:



**Figura 4.34** Teor de cádmio nas estruturas da variedade Midas, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão



**Figura 4.35.** Teor de cádmio nas estruturas da variedade Luna, para cada tipo de contaminação, e respetivos desvios-padrão

Observando a figura 4.34 regista-se uma acumulação significativamente baixa nas estruturas da variedade Midas para os ensaios de controlo sendo as concentrações de Cd 5 mg/kg, 4mg/kg e 2mg/kg para os caules, raízes e sementes respetivamente. Ao aumentar a disponibilidade do Cd no solo a quantidade deste metal presente na planta sofre uma intensa variação registando-se valores de 18 mg/kg para os caules e de 23 mg/kg para as raízes no ensaio de Cd 4. No ensaio de Cd 8, com o maior aumento da quantidade de metal no solo registou-se a mesma tendência verificando-se os valores de 29 mg/kg para os caules e de 27 mg/kg para as raízes.

Do mesmo modo analisando a figura 4.35 observa-se para a variedade Luna concentrações baixas de Cd nos ensaios de controlo, sendo as mesmas de 7 mg/kg nos caules e 5 mg/kg nas raízes. Tal como ocorreu na variedade Midas, o aumento da quantidade de metal no solo justificou-se numa maior quantidade absorvida pela planta, sendo que para o ensaio de Cd 4 registaram-se 13,2 mg/kg nos caules e 16 nas raízes, enquanto que no ensaio de Cd 8 os valores obtidos foram superiores e traduzem-se em 20,4 mg/kg nos caules e 27 mg/kg nas raízes.

Os resultados obtidos vão ao encontro dos valores registados noutra estudo realizado nas mesmas condições experimentais.<sup>[61]</sup> Comparativamente a outro estudo realizado com diferentes espécies os resultados obtidos indicam que a *Camelina sativa* (L.) Crantz pode ser classificada como uma espécie que acumula baixas quantidades de Cd nas suas raízes (consideram-se quantidades elevadas > 100 mg/kg) mas quantidades relativamente altas nos seus caules (consideram-se quantidades elevadas >30 mg/kg) .<sup>[85]</sup>

Com base nos resultados obtidos e analogamente aos restantes metais procedeu-se ao cálculo do IA e FT do Cd para cada uma das estruturas integrantes de ambas as variedades da espécie e consoante o tipo de contaminação presente no solo. Os valores de IA obtidos encontram-se exibidos na tabela 4.9:

**Tabela 4.9 IA das variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz para cada uma das contaminações de cádmio**

<b>Estrutura da planta</b>	<b>Variedade</b>	<b>IA Ensaio Cd 4</b>	<b>IA Ensaio Cd 8</b>
Caules	Midas	3,60	5,80
	Luna	1,89	2,91
Raízes	Midas	5,75	6,75
	Luna	3,20	5,40
Sementes	Midas	N.D	N.D
	Luna	N.D	N.D

Pela permissa já utilizada na análise do IA para os restantes metais, visto que o IA de todas as estruturas é superior a 1 pode-se concluir que a *Camelina sativa* (L.) Crantz apresenta boa capacidade de acumulação de Cd em todas as estruturas contabilizadas. O valor de IA, para ambas as variedades, aumentou com uma maior concentração de Cd no solo evidenciando uma maior acumulação por parte da planta em situações de stress induzido pela presença do metal, sendo sempre mais elevado no sistema radicular das culturas em estudo. A variedade Midas apresentou maiores valores de IA comparativamente à variedade Luna em todas as estruturas integrantes de ambas as variedades, e conseqüentemente revela uma maior capacidade de acumulação de Cd.

Apesar da boa capacidade de acumulação de Cd revelada pelos valores de IA obtidos, comparativamente a outras espécies a *Camelina sativa* (L.) Crantz apresenta baixa capacidade de armazenamento de Cd nas suas raízes mas elevada nos seus caules, como já foi referido na discussão das figuras 4.34 e 4.35. Esta característica é comum a outras espécies da família *Brassicaceae* como por exemplo a *Brassica juncea*, todavia outras espécies como *Festuca arundinacea* e *Lolium perenne* da família *Gramineae* atingem concentrações nas suas raízes de cerca de 110 mg/kg valor bastante superior ao atingido pela *Camelina sativa* (L.) Crantz. Desta forma apesar do IA da espécie em estudo ser inferior nos caules pode-se considerar que a espécie em estudo revela boa capacidade de acumulação de Cd na sua biomassa aérea, provavelmente como forma de mecanismo defensivo de modo a tolerar as características tóxicas do metal, podendo ocorrer a formação de fitoquelatinas peptídicas que conectam-se ao Cd e promovem a sua translocação para frações aéreas da planta.<sup>[85,86]</sup>

Concluindo, determinou-se o FT do Cd para as várias estruturas da planta, em cada uma das variedades, e consoante o tipo de contaminação do mesmo modo que já foi realizado para os restantes metais, sendo que os resultados obtidos para este indicador encontram-se expostos na tabela 4.10:

**Tabela 4.10 FT das variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz para cada uma das contaminações de cádmio**

<b>Estrutura da planta</b>	<b>Variedade</b>	<b>FT Ensaio de controlo</b>	<b>FT Ensaio Cd 4</b>	<b>FT Ensaio Cd 8</b>
Caules	Midas	1,25	0,78	1,07
	Luna	1,40	0,83	0,76
Sementes	Midas	0,50	N.D	N.D
	Luna	N.D	N.D	N.D

Analisando os valores de FT obtidos para ambas as variedades verifica-se uma tendência para a diminuição do FT à medida que a concentração de Cd no solo aumenta. Esta tendência não é verificada apenas para o ensaio de Cd 8 nos caules da variedade Midas onde se registou um aumento do valor de FT comparativamente ao ensaio Cd 4. O FT obtido para as sementes da variedade Midas indicam que a planta armazena pouca quantidade de metal nesta estrutura. Analogamente ao que foi feito nos restantes metais apenas se considera uma boa capacidade de translocação do metal quando o índice FT é superior 1, pelo que ambas as variedades apenas nos ensaios de controlo e a variedade Midas no ensaio de Cd 8, nos seus caules apresentaram esta característica.

A diminuição do FT na variedade Luna traduz-se numa maior acumulação de Cd nas raízes comparativamente à quantidade de metal presente nos caules. Este tipo de comportamento foi já exibido por outras espécies da família *Brassicaceae* como a *Arabidopsis thaliana* e a *Arabidopsis halleri*, nas quais o sistema radicular é a principal estrutura acumulativa de Cd. Uma possível explicação para este facto reside na capacidade de ligação dos iões de Cd às paredes celulares das raízes quando este metal se encontra em concentrações toleráveis à planta. Em situações de stress induzido pela presença de Cd, o metal é transportado para o cortex da planta (estrutura presente no caule) onde forma precipitados através de reações com iões fosfato, podendo criar depósitos granulares que se depositam nas paredes celulares e espaços intercelulares prejudicando o transporte de água na planta. Uma das razões para o transporte do metal para o caule é devido a um mecanismo de proteção da planta das suas atividades fotossintéticas e desenvolvimento do sistema radicular.<sup>[87]</sup>

Tendo em conta a discussão realizada pode-se colocar a hipótese de que a variedade Midas apresente uma maior tolerância a altas concentrações de Cd, e desta forma não tenha a necessidade de translocar o metal para as suas estruturas aéreas. Esta informação é relevante para fins energéticos e de fitorremediação pois, à semelhança do que foi verificado para o Ni, a variedade Midas apresenta um maior potencial de fitoextração dado que acumula uma maior quantidade de Cd na sua fração aérea, e a variedade Luna é mais recomendada para fitoestabilização limitando a saída do metal de zonas subterrâneas. Do ponto de vista energético, também à semelhança do que se verificou para o metal Ni, a variedade Luna apresenta características menos poluídas dado que acumula menor concentração de Cd na sua biomassa aérea tornando-a apreciável para combustão ou outro tipo de processos de conversão de energia. As sementes da variedade Midas ao apresentarem um baixo FT também demonstram potencial energético num contexto ambiental e de prevenção de resíduos.

## 5. Conclusão e Perspetivas Futuras

O presente estudo teve como principal objetivo a avaliação do potencial energético e fitorremediador da espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz mediante o cultivo em solos contaminados com metais pesados, nomeadamente Zn, Pb, Ni e Cd. Foram realizados diversos ensaios em vasos nos quais foram plantadas duas variedades, Midas e Luna, da espécie *Camelina sativa* (L.) Crantz, de forma a simular as condições adversas provocadas pela presença desses mesmos metais.

No que diz respeito aos parâmetros biométricos das plantas cultivadas, a altura das plantas foi afetada negativamente em cada um dos ensaios realizados, com exceção da contaminação de Pb 450 e Cd 4 para a variedade Midas. Não foi possível definir um padrão concreto de modo a comparar as duas variedades pois os valores referentes à altura das plantas oscilaram bastante entre diferentes ensaios. Relativamente às produtividades, a variedade Midas demonstrou um rendimento ligeiramente superior à Luna em todas as estruturas analisadas (com exceção das sementes onde não foi possível a sua comparação). A presença de metais pesados no solo prejudicou a produção de biomassa aérea da espécie em todos os ensaios não havendo contudo uma relação direta entre a quantidade de metal presente no solo e a gravidade do seu impacto negativo nas culturas, registando-se aumentos de produtividade entre ensaios com Zn e com Ni, esta última exclusivamente para a variedade Luna (apesar de que é impossível a comparação na variedade Midas dado que não houve crescimento no vaso contaminado com Ni 220). A determinação do IT para todos os ensaios veio suportar a hipótese de que todos os metais em estudo afetaram negativamente a produção de biomassa da *Camelina sativa* (L.) Crantz, registando-se sempre valores inferiores a 1. Analisando este indicador conclui-se que os metais que mais contribuem para a diminuição de produtividade são, para a variedade Midas, o Ni e Zn (em baixas concentrações) e o Cd (em altas concentrações), e para a variedade Luna, o Ni (em baixas concentrações) e o Cd. A distribuição da quantidade de biomassa produzida pelas culturas não mostrou variações significativas aquando da presença dos diferentes metais em estudo.

Relativamente ao teor de cinzas apesar dos valores obtidos para os vários ensaios não serem muito elevados, foi no ensaio de controlo que se registou a menor quantidade de cinzas produzidas, levando à conclusão de que em solos contaminados com metais pesados a *Camelina sativa* (L.) Crantz irá produzir maior teor de cinzas aquando da combustão das suas estruturas. Este parâmetro deverá ser avaliado com maior rigor em contexto económico e ambiental para aferir se poderá tratar-se de uma limitação ao cultivo da espécie neste tipo de solos.

Na abordagem feita ao teor de azoto as variações observadas nos vasos contaminados foram baixas e desta forma pouco significativas, possivelmente devido ao baixo requerimento deste micronutriente por parte da espécie. Desta forma conclui-se que os metais pesados em estudo foram pouco influentes nos processos de absorção desta substância.

Do mesmo modo, para o teor de fósforo, as variações observadas foram pouco significativas, com exceção dos caules de ambas as variedades. Nesta estrutura a variedade Midas revelou um comportamento excepcional no ensaio Pb 450, com um aumento significativo da concentração de P, enquanto que na variedade Luna a quantidade de fósforo foi também superior nos ensaios com Ni e Cd, contrariamente ao que foi verificado nos outros metais. Possíveis estudos podem ser realizados de modo a compreender-se o mecanismo existente na variedade Midas que tenha desencadeado a necessidade de P para baixas concentrações de Pb, assim como o impacto dos metais em estudo nos mecanismos de transporte e acumulação de P, para a variedade Luna.

Atendendo ao teor de metais presente nas culturas em estudo, pode-se concluir que ambas as variedades apresentaram boa capacidade de acumulação de Zn, Pb, Ni e Cd, contudo para o metal Pb os valores de IA obtidos são ligeiramente superiores a 1 indicando que a *Camelina sativa* (L.) Crantz é menos tolerante a este metal comparativamente com os restantes. Entre as duas variedades aquela que revelou maior capacidade acumuladora foi em geral a variedade Midas, todavia nos ensaios com Zn e Ni 110 a variedade Luna mostrou maior potencial acumulador. Tendo como base os ensaios de controlo pode-se também concluir que ambas as variedades da *Camelina sativa* (L.) Crantz podem ser utilizadas como espécies fitorremediadoras, porém tendo em conta a análise aos valores de FT obtidos deve-se ter em conta o tipo de processo que melhor se adequa às características de cada variedade da espécie. Desta forma recomenda-se a utilização da *Camelina sativa* (L.) Crantz em processos de fitoestabilização quando cultivada em solos contaminados com Zn, Pb, Ni (variedade Luna) e Cd (variedade Luna), e em processos de fitoextração quando os metais existentes no solo são Ni (variedade Midas) e Cd (variedade Midas).

Futuramente será interessante investigar-se sobre as características da *Camelina sativa* (L.) Crantz que possibilitam a sua hiperacumulação de variados tipos de metais, assim como o tipo de limitações impostas pelos metais em determinados mecanismos da planta que justifiquem a diminuição da produtividade registada no presente estudo ou definir estratégias para alterar alguns dos traços evidenciados pela espécie. Como potenciais estratégias tem-se abordagens de reprodução molecular, utilização de micróbrios rizosféricos, desenvolvimento da qualidade de biomassa através de modificações genéticas e melhoramento das tolerância da planta à presença de metais pesados.<sup>[88]</sup>

Dado que no presente estudo a quantidade de sementes foi bastante reduzida e não pôde ser contabilizada e não houve crescimento da variedade Midas no ensaio de Ni 220, um outro projeto em condições semelhantes a este poderá também ser desenvolvido para que seja possível haver uma maior amostra de resultados experimentais e assim obter-se uma comparação mais rigorosa dos vários parâmetros analisados.

Por fim pode-se concluir que a *Camelina sativa* (L.) Crantz demonstrou características inerentes a espécies hiperacumuladoras para os metais pesados em estudo. Apesar de demonstrar esta capacidade, bastante útil em processos de remediação, a produção energética de *Camelina sativa* (L.) Crantz, em termos de quantidade e qualidade da biomassa, é prejudicada aquando da presença destes metais no solo, levando a que seja menos atrativa como cultura energética plantada neste tipo de solos. Deste modo será importante realizar uma investigação prévia em termos energéticos, económicos e ambientais para cada situação isolada em que se pretenda utilizar a *Camelina sativa* (L.) Crantz como cultura energética em solos contaminados de forma a obterem-se os melhores resultados possíveis, contudo deve-se também ter em conta que o cultivo em solos marginais é um incentivo ao reaproveitamento deste tipo de espaços abandonados, para que adquiram novo valor económico e ambiental e levando a um estímulo na produção de energia através de fontes biológicas.

## 6. Bibliografia

1. El Bassam, N., Handbook of Bioenergy crops - A complete reference to species, development and applications. London, United Kingdom: Earthscan, Ltd., 516 p (2010)
2. IEA Global Energy Review 2019 <https://www.iea.org/reports/global-energy-review-2019> (acedido a 25 Fevereiro 2021)
3. IEA Market Report Series: Renewables 2018 <https://webstore.iea.org/download/summary/2322?fileName=English-Renewables-2018-ES.pdf>
4. Reid WV, Ali MK, Field CB. The future of bioenergy. *Glob Change Biol.* 2020;26:279
5. McKendry, P. Energy production from biomass (part 1): Overview of biomass. *Bioresource Technology*, 83(1), 38 (2002)
6. Fernando, A. L., Duarte, M. P., Almeida J., Boléo, S., Mendes, B., Environmental impact assessment of energy crops cultivation in Europe. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 4, 594–604 (2010)
7. Fernando, A. L., Boléo, S., Barbosa, B., Costa, J., Duarte, M.P., Monti, A. Perennial Grass Production Opportunities on Marginal Mediterranean Land, *BioEnergy Research*, 8, 1523-1537 (2015)
8. Karp, A., Halford, N. G. (n.d.). Chapter 1. Energy Crops: Introduction. *Energy Crops*, 4-10
9. Basu, P. Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction Chapter 2 – Economic Issues of Biomass Energy Conversion, 29-47 (2018)
10. Zaluski, D., Tworowski, J., Krzyżaniak, M., Stolarski, M. J., Kwiatkowski, J., The Characterization of 10 Spring Camelina Genotypes Grown in Environmental Conditions in North-Eastern Poland. *Agronomy*, 2 (2020)
11. Angelini, L. G., Chehade, L. A., Foschi, L., Tavarini, S. Performance and Potentiality of Camelina (*Camelina sativa* (L.) Crantz) Genotypes in Response to Sowing Date under Mediterranean Environment. *Agronomy*, 1-2 (2020)
12. Zurb, J., Qualitative variation of *Camelina sativa* seed from different locations. *Industrial Crops and Products* 17, 1 (2003)
13. Moser, B. R., Camelina (*Camelina sativa* L.) oil as a biofuels feedstock: Golden opportunity or false hope?. *Lipid Technology* 22, 1 (2010)
14. Francis, A., Warwick, S. I., The Biology of Canadian Weeds. 142. *Camelina alyssum* (Mill.) Thell.; *C. microcarpa* Andr. ex DC.; *C. sativa* (L.) Crantz. *Canadian Journal of Plant Science*, 2-8 (2009)
15. Walia, M. K., Gesch, R. W., [Krzyżaniak](#), M., Zanetti, F., Winter camelina seed quality in different growing environments across Northern America and Europe. *Industrial Crops and Products* 169, 2-3 (2021)
16. Fleenor, R., USDA NRCS Plant Materials Program, Spokane WA (2011)
17. McVay, K. A., Khan, Q. A., Camelina Yield Response to Different Plant Populations under Dryland Conditions. *Agronomy Journal* 103, 1265-1266 (2011)
18. Urbaniak, S. D., Caldwell, C. D., Zheljzkov, V. D., Lada, R., Luan, L., The effect of seeding rate, seeding date and seeder type on the performance of *Camelina sativa* L. in the Maritime Provinces of Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 88, 502-503 (2008)

19. McVay, K. A., Camelina Production in Montana. Montana State University (2008)
20. Borges, A., J., Torres, E. A., Adaptabilidade da *Camelina sativa* e uso na produção de biodiesel - uma revisão. *Revista Liberato* 17, 138-141 (2016)
21. Colado, D. M., Ablanque, P. V. M., Capuano, A., Assessing the Yield of a Multi-varieties Crop of *Camelina sativa* (L.) Crantz through NDVI Remote Sensing. Sixth International Conference on Internet of Things: Systems, Management and Security (2019)
22. iFlora 2020 <https://www.i-flora.com/en/fact-sheets/phylogenetic-tree/art/show/camelina-sativa.html> (acedido a 1 Setembro 2021)
23. Ghamkhar, K., Croser, J., Aryamanesh, N., Campbell, M., Kon'kova, N., Francis, C., Camelina (*Camelina sativa* (L.) Crantz as an alternative oilseed: molecular and ecogeographic analyses. NRC Research Press, 1 (2010)
24. Zubr, J., Oil-seed crop: *Camelina sativa* *Industrial Crops and Products* 6, 113-119 (1997)
25. Bavel, J. V., The mid-twentieth century Baby Boom and the changing educational gradient in Belgian cohort fertility. *Demographic Research* 30 (2014)
26. Muscat, A., de Olde, E. M., de Boer, I. J. M., Ripoll-Bosch, R., The battle for biomass: A systematic review of food-feed-fuel competition. *Global Food Security* 25, 1-2 (2020)
27. Haberl, H., Competition for land: A sociometabolic perspective. *Ecological Economics*, 1-3 (2014)
28. Pulighe, G., Bonati, G., Colangeli, M., Morese, M. M., Traverso, L., Lupia, F., Khawaja, C., Janssen, R., Fava, F., Ongoing and emerging issues for sustainable bioenergy production on marginal lands in the Mediterranean regions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58-60 (2018)
29. Dauber, J., Brown, C., Fernando, A., L., Finnan, J., Krasuska, E., Ponitka, J., Styles, D., Thrän, D., Van Groenigen, K., J., Weih, M., Zah, R., Bioenergy from “surplus” land: environmental and socio-economic implications, *BioRisk*, 7, 5-50 (2012)
30. Rösch, C., Jörissen, J., Skarka, J., Knapp, M., Strategies to reduce land use competition and increasing the share of biomass in the german energy supply. *European Biomass Conference and Exhibition*, 34-35 (2010)
31. Duffus, J. H., “HEAVY METALS”—A MEANINGLESS TERM? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* 74, 795-196 (2002)
32. Ali, M. M., Hossain, D., Al-Imran., Khan, Md. S., Begum, M., Osman, M. H., Environmental pollution with heavy metals : a public health concern. *Heavy Metals Their environmental impact and mitigation*. (2021)
33. Barbosa, B., Costa, J., Boléo, S., Duarte, M. P., Fernando, A. L., Phytoremediation of inorganic compounds. In: Ribeiro AB, Mateus EP, Couto N (Eds) *Electrokinetics Across Disciplines and Continents - New Strategies for Sustainable Development*, Springer International Publishing, Switzerland, 469 p., pp. 373-400. (2016)
34. Pendias, A. K., Szteke, B., Trace elements in abiotic and biotic environments. *Broken Sound Parkway NW*. Taylor & Francis Group (2019)
35. Introduction to Soil Remediation 2022 <https://soilerosion.com/soil-remediation/> (acedido a 14 fevereiro de 2022)

36. Yan, A., Wang, Y., Tan, S. N., Yusof, M. L. M., Ghosh, S., Chen, Z., Phytoremediation: A Promising Approach for Revegetation of Heavy Metal-Polluted Land. University of Canterbury New Zealand (2020)
37. Fernando, A. L., Barbosa, B., Costa, J., Papazoglou, E., G., Giant reed (*Arundo donax* L.): a multipurpose crop bridging phytoremediation with sustainable bio-economy, In: Prasad MNV (ed.) *Bioremediation and Bioeconomy*, Elsevier Inc., UK, 698p., pp. 77-95 (2016)
38. Barbosa, B., Fernando, A. L., Aided Phytostabilization of Mine Waste, In: Prasad MNV, Favas PJC, Maiti SK (eds.) *Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation*, Elsevier Inc., Amsterdam, The Netherlands, UK, 708 p., pp. 147-158. (2018)
39. Fernando, A. L., Godovikova, V., Oliveira, J. F. S., *Miscanthus x giganteus*: Contribution to a Sustainable Agriculture of a Future/Present – Oriented Biomaterial. *Materials Science Forum, Advanced Materials Forum II*, 455-456, 437-441 (2004)
40. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:The\\_mechanisms\\_of\\_heavy\\_metals\\_uptake\\_by\\_plant\\_through\\_phytoremediation\\_technology.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:The_mechanisms_of_heavy_metals_uptake_by_plant_through_phytoremediation_technology.jpg) (acedido a 16 fevereiro de 2022)
41. Pandey, V. C., Bajpai, O., Singh, N., Energy crops in sustainable phytoremediation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 54, 59-61 (2016)
42. Tedesco, M. J., Gianello, C. B., Bohnen, H., et al., *Análises de solo, plantas e outros materiais. Boletim Técnico no 5*. 2 ed. Porto Alegre: Departamento de Solos; Faculdade de Agronomia; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1995)
43. Norma Portuguesa Definitiva (NP-84). Determinação do teor em água dos solos. (1965)
44. Walkley, A. J., Black, I. A., Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. *Soil Science* 37, 29-38 (1934)
45. Baize, D., *Guide des analyses en pedologie*. Paris, França. INRA editions (2000)
46. Ross, D. S., Ketterings, Q., Recommended Methods for Determining Soil Cation Exchange Capacity - Chapter 9. Recommended Soil Testing Procedures for the North-eastern United States. *Cooperative Bulletin* 493, 75–86 (2011)
47. Watts, S., Halliwell, L., Appendix 3 – Detailed field and chemical methods for soil. *Routledge, Londres, Reino Unido* (1996)
48. Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S., Dean, L. A., Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *Washington D.C., EUA* (1954)
49. Watanabe, F. S., Olsen, S. R., Test of an Ascorbic Acid Method for Determining Phosphorus in Water and NaHCO<sub>3</sub> Extracts from Soil. *Soil Science Society of America*, 677–678 (1965)
50. Jenkins, P., Southern, T., Truesdale, V., Jeary, A., Waters. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds). *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*. *Routledge, Londres, Reino Unido*, 305-350 (1996)
51. Decreto-Lei n.º 276/2009 de 2 de Outubro. Diário da República, 1.ª série — N.º 192. Ministério Do Ambiente, Do Ordenamento Do Território e Do Desenvolvimento Regional
52. AOAC. Official Methods of Analysis. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, 1 § *Arlington, EUA: Association of Official Analytical Chemists*. (1990)

53. Vandecasteele, C., Block, C. Modern Methods for Trace Element Determination. John Wiley & Sons, 330 (1993)
54. Rout, G., Das, P., Effect of Metal Toxicity on Plant Growth and Metabolism: I. Zinc. *Agronomie, EDP Sciences*, 23 (1), 3-11 (2003)
55. Arif, N., Yadav, V., Singh, S., Singh, S., Ahmad, P., Mishra, R., K., Sharma, S., Tripathi, D., K., Dubey, N., K., Chauhan, D., K., Influence of high and low levels of plant beneficial heavy metal ions on plant growth and development, Maharshi Dayanand University, India (2016)
56. Aslam, M., Aslam, A., Sheraz, M., Ali, B., Ulhassan, Z., Najeeb, U., Zhou, W., Gill, R., A., Lead toxicity in cereals: mechanistic insight into toxicity, mode of action and management, Polytechnic University of Madrid, Spain (2021)
57. Moradi, A., B., Conesa, H., M., Robinson, B., H., Lehmann, E., Kaestner, A., Schulin, R., Root responses to soil Ni heterogeneity in a hyperaccumulator and a non-accumulator species, *Environmental Pollution* 157 (2009)
58. Seregin, I., V., Erlikh, N., T., Kozhevnikova, A., D., Nickel and Zinc Accumulation Capacities and Tolerance to These Metals in the Excluder *Thlaspi arvense* and the Hyperaccumulator *Noccaea caerulea*, *Russian Journal of Plant Physiology*, 61 (2), 204–214 (2014)
59. Ahmad, M., S., A., Ashraf, M., Essential Roles and Hazardous Effects of Nickel in Plants, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 214 (2011)
60. Qadir, S., Jamshieed, S., Rasool, S., Ashraf, M., Akram, N., A., Ahmad, P., Modulation of Plant Growth and Metabolism in Cadmium-Enriched Environments, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 229 (2014)
61. Abias, M., C., Produção de *Camelina sativa* (L) Crantz para Energia em Solos Contaminados com Cd/Ni (Dissertação de mestrado, Faculdade de Ciências da Universidade Nova de Lisboa, Portugal) (2021)
62. Parlak, K., U., Effect of nickel on growth and biochemical characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings, *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences* 76, 1-5 (2016)
63. Chaves, L., H., G., Tito, G., A., Fernandes, J., D., Filho, A., F., M., Efeito do cobre e cádmio no desenvolvimento da cultura do crambe, XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo ocorrido a 28 de Julho de 2013 em Florianópolis
64. Zhang, J., Cao, X., Yao, Z., Lin, Q., Yan, B., Cui, X., He, Z., Yang, X., Wang, C., Chen, G., Phytoremediation of Cd-contaminated farmland soil via various *Sedum alfredii*-oilseed rape cropping systems: Efficiency comparison and cost-benefit analysis *Journal of Hazardous Materials* 419, 2-5 (2021)
65. Graça, C., A., Produção de *Camelina sativa* para Bioenergia em solos contaminados com metais pesados (Dissertação de mestrado, Faculdade de Ciências da Universidade Nova de Lisboa, Portugal) (2019)
66. Monti, A., Virgilio, N., D., Venturi, G., Mineral composition and ash content of six major crops, *Biomass and Bioenergy* 32(3), 216-223, (2008)
67. Fernando, A., Oliveira, J., S., Effects on growth, productivity and biomass quality of *Miscanthus X Giganteus* of soils contaminated with heavy metals, 2nd World Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection, 10-14 May 2004, Rome Italy

68. Naveed, M., Bukhari, S., S., Mustafa, A., Ditta, A., Alamri, S., El-Esawi, M., A., Rafique, M., Ashraf, S., Siddiqui, M., H., Mitigation of Nickel Toxicity and Growth Promotion in Sesame through the Application of a Bacterial Endophyte and Zeolite in Nickel Contaminated Soil, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, (2020)
69. Barbosa, B., Costa, J., Fernando, A., L., Production of Energy Crops in Heavy Metals Contaminated Land: Opportunities and Risks, *Land Allocation for Biomass Crops*, 83-102, (2018)
70. Andrews, M., Raven, J., A., Lea, P., J., Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants, *Annals of Applied Biology* 163 (2), (2013)
71. Nleya, T., Bhattarai, D., Alberti, P., Agronomic response of Camelina to nitrogen and seeding rate on the northern great plains, *Nitrogen in agriculture Physiological, Agricultural and Ecological aspects* (2021)
72. Lee, H., Park, D., Choo, S., Pham, H., T., Estimation of the Non-Greenhouse Gas Emissions Inventory from Ships in the Port of Incheon, *Sustainability*, 12, 8231 (2020)
73. Jiang, Y., Caldwell, C., D., Falk, K., C., Camelina seed quality in response to applied nitrogen, genotype and environment, *Canadian Journal of Plant Science*, (2014)
74. Ahemad, M., Zaidi, A., Khan, M., S., Oves, M., Biological importance of phosphorus and phosphate solubilizing microbes- an overview, *Phosphate Solubilising Microbes for Crop Improvement*, 1-14, (2009)
75. Bolan, N., S., Adriano, D., C., Naidu, R., Role of Phosphorus in (Im)mobilization and Bioavailability of Heavy Metals in the Soil – Plant System, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 177, 1-44, (2003)
76. Solis, A., Vidal, I., Paulino, L., Johnson, B., L., Berti, M., T., Camelina seed yield response to nitrogen, sulfur, and phosphorus fertilizer in South Central Chile, *Industrial Crops and Products* 44, 123-138 (2013)
77. Hasanzadeh, S., Faraji, S., Abdullah, Heidari, P., Phosphate transporter genes: genome-wide identification and characterization in *Camelina sativa*, *Project genome wide identification and characterization of gene families*, (2021)
78. Barbosa, B., Boléo, S., Sidella, S., Costa, J., Duarte, M. P., Mendes, B., ... Fernando, A. L. Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soils Using the Perennial Energy Crops *Miscanthus spp.* and *Arundo donax L.*, *BioEnergy Research*, 8, 1500-1511 (2015) <https://doi.org/10.1007/s12155-015-9688-9>
79. Sturikova, H., Krystofova, O., Huska, D., Adam, V., Zinc, zinc nanoparticles and plants, *Journal of Hazardous Materials*, (2018)
80. Wuana, R., A., Okieimen, F., E., Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation, *International Scholarly Research Network*, 1-20, (2011)
81. Sharma, P., Dubey, R., S., Lead toxicity in plants, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 35-52 (2005)
82. Deng, T., H., B., Ent, A., V., D., Tang, Y., T., Sterckeman, T., Echevarria, G., Morel, J., L., Qiu, R., L., Nickel hyperaccumulation mechanisms: a review on the current state of knowledge, *Plant and Soil* 423, 1-11 (2018)

83. Rosatto, S., Mariotti, M., Romeo, S., Roccotiello, E., Root and Shoot Response to Nickel in Hyperaccumulator and Non-Hyperaccumulator Species, *Plants* 10(3), 508, (2021)
84. Ge, J., Wang, H., Lin, J., Tian, S., Zhao, J., Lin, X., Lu, L., Nickel tolerance, translocation and accumulation in a Cd/Zn co-hyperaccumulator plant *Sedum alfredii*, *Journal of Hazardous Materials*, (2020)
85. Abe, T., Fukami, M., Ogasawara, M., Cadmium accumulation in the shoots and roots of 93 weed species, *Soil Science and Plant Nutrition*, 54(4), (2008)
86. Delic, M., P., Maksimovic, I., Zeremski, T., Jeromela, A., M., Effects of Heavy Metals on Chemical Composition of *Camelina sativa* L., *Агрознање*, 14(3), (2013)
87. Babula, P., Adam, V., Havel, L., Kizek, R., Cadmium Accumulation by Plants of *Brassicaceae* Family and Its Connection with Their Primary and Secondary Metabolism, *The Plant Family Brassicaceae*, 71-97, (2012)
88. Neupane, D., Lohaus, R., H., Solomon, J., K., Q., Cushman, J., C., Realizing the Potential of *Camelina sativa* as a Bioenergy Crop for a Changing Global Climate, *Plants* (2022)

