

**UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**  
**Faculdade de Ciências e Tecnologia**  
**Grupo de Disciplinas de Ecologia da Hidrosfera**

Contributo para o estudo das potencialidades do Kenaf  
(*Hibiscus cannabinus* L.) na fitorremediação de solos  
contaminados com metais pesados

**Por**

**Ana Margarida Delgado Catroga**

**Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova  
de Lisboa para obtenção de grau de Mestre em Bioenergia**

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Doutora Ana Luísa Fernando**

**Lisboa**

**2009**

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Doutora Ana Luísa Fernando, minha orientadora, pelo tão valioso e imprescindível apoio em toda a dissertação, desde a ideia original até à redacção, a minha mais sincera gratidão e profundo reconhecimento.

Aos coordenadores do Mestrado em Bioenergia, Professor Doutor José Santos Oliveira, Professora Benilde Mendes e Professor Doutor Nuno Lapa, pela realização deste mestrado.

Ao Grupo de Disciplinas da Ecologia e da Hidrosfera da Faculdade de Ciências e Tecnologia por todo o apoio demonstrado e pelas facilidades concedidas.

Aos meus colegas que participaram no projecto BioKenaf por toda a ajuda prestada.

A todos os meus amigos que, de uma forma ou de outra, me apoiaram ao longo da elaboração desta dissertação.

Finalmente, agradeço, do fundo do coração a quem também dedico esta dissertação, ao Hugo e às nossas filhas, Margarida e Matilde, aos meus pais e à minha irmã, por todo o suporte e compreensão.

## RESUMO

O presente trabalho teve como principal objectivo o estudo do efeito de diferentes metais pesados no crescimento, produtividade e qualidade da biomassa de kenaf. Para tal foram estudadas as variedades Tainung 2, Everglades 41, Gregg, G4, Dowling e SF459. As plantas foram semeadas em vasos, onde se procedeu à contaminação dos solos. Foram estudados, separadamente, diversos metais (zinco, cobre, crómio, cádmio e mercúrio), de modo a tentar perceber se existiam padrões específicos de toxicidade envolvidos. Foi testado um nível de contaminação para cada metal. Em termos de produtividade, verificaram-se diferenças significativas entre as plantas provenientes dos vasos com as diferentes contaminações por metais pesados. O zinco correspondeu ao metal que afectou de modo significativo e negativo as produtividades obtidas. Ao contrário, o kenaf revelou elevada tolerância à contaminação do solo com cobre, crómio, cádmio e mercúrio. O mercúrio foi o elemento que afectou de modo mais significativo e positivo as produtividades obtidas. Também a acumulação de matéria mineral foi influenciada pela contaminação dos solos com metais pesados. De um modo geral, o kenaf foi capaz de remover e acumular os metais pesados oriundos dos solos contaminados, sendo que a maior proporção destes metais ficou presente nas raízes, quando os solos estavam contaminados com cobre, crómio e mercúrio. Quando os solos foram contaminados com zinco e cádmio, as plantas de kenaf acumularam estes metais não só na fracção radicular mas também na parte aérea. Esta biomassa pode ainda ser posteriormente valorizada para produção de energia ou de fibra, uma vez que a contaminação dos solos não influenciou o poder calorífico e o teor de fibra das plantas de kenaf.

Num plano comercial, a variedade que apresentou melhores características em termos de produtividade, para ser utilizada na remediação de metais pesados é a Tainung 2, sobretudo em solos contaminados com Cu, Cr e Cd. A variedade Dowling foi a variedade mais produtiva em solos contaminados com Zn e a variedade Everglades 41 foi a variedade mais produtiva em solos contaminados com Hg. A variedade Tainung 2 foi a mais eficaz na fitoextração de iões Cu e Cd do solo, a variedade Everglades 41, a mais eficiente na remoção de iões Zn e Cr do solo e a variedade Dowling a mais eficiente na remoção de iões Hg do solo.

## **ABSTRACT**

The aim of this work was to study the effects of different heavy metals on growth, productivity and biomass quality of kenaf. Several varieties of kenaf were studied: Tainung 2, Everglades 41, Gregg, Dowling, SF 459 and G4. The plants were placed in pots, where of soils were contaminated. Several heavy metals (Cd, Cu, Zn, Hg and Cr) were studied, separately, in order to access if there were specific patterns of toxicity involved. For each metal, one level of contamination was tested. The results lead to the conclusion that in terms of the productivity and in what concerns the height of the plants, there were significant differences among the plants obtained in pots with the different heavy metals contamination. Zn was the metal that more significantly, negatively affected the productivities obtained. In contrast, kenaf showed high tolerance to Hg, Cd, Cu and Cr soil contamination, especially to Hg. Mineral matter accumulation was also influenced by soils heavy metals contamination. Overall, kenaf is able to remove and accumulate heavy metals from contaminated soils, but the highest proportion of those metals taken up by plants is present in the roots, when soils are contaminated by copper, chromium and mercury. When soils are contaminated by zinc and cadmium, kenaf not only accumulates those metals in the roots but also in the aerial fraction of the plants. This biomass can be further valorized for energy production or fiber, once soils contamination did not influence the calorific value and the fiber content of kenaf plants.

The variety that presented better characteristics in terms of productivity, to be used for the remediation of heavy metals is Tainung 2, especially in soils contaminated with Cu, Cr and Cd. Dowling was the most productive variety in Zn contaminated soils and Everglades 41 the most productive variety in Hg contaminated soils. Tainung 2 was the most efficient variety in the phytoextraction of Cu and Cd from soils, Everglades 41 the most efficient variety in the phytoextraction of Zn and Cr from soils and Dowling the most efficient variety for the removal of Hg from soils.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- Ca – Cálcio
- Cd – Cádmio
- Cr – Crómio
- Cu – Cobre
- Ed.- Edição
- ed(s)-editor(es)
- Fe – Ferro
- Hg – Mercúrio
- K – Potássio
- LD – limite de detecção
- Mg – Magnésio
- Mn – Manganésio
- ms- matéria seca
- N – Azoto
- Na – Sódio
- Ni – Níquel
- P – Fósforo
- Pb - Chumbo
- Zn – Zinco

## ÍNDICE GERAL

Agradecimentos .....	2
Resumo .....	3
Abstract.....	4
Lista de Abreviaturas.....	5
Índice Geral .....	6
Índice de Figuras .....	8
Índice de Quadros.....	12
Introdução.....	14
1. O Kenaf ( <i>Hibiscus canabinnus</i> L.) .....	16
1.1. Caracterização .....	16
1.1.1. Morfologia.....	16
1.1.2. Fotossensibilidade .....	20
1.2. Factores edafo-climáticos .....	22
1.3. Nutrientes .....	23
1.4. Espécies Infestantes.....	24
1.5. Doenças e Insectos.....	25
1.5.1. Doenças .....	25
1.5.2. Insectos .....	26
1.6. Sementeira e Produtividade .....	26
1.6.1. Produção de Kenaf em Portugal (Estudos Preliminares em Portugal).....	27
1.7. Técnicas de Colheita do kenaf.....	30
1.7.1. Maquinaria.....	31
1.7.2. Factores que afectam o processo .....	32
1.8. Utilizações do Kenaf .....	33
2. Utilização de culturas energéticas na remediação de solos contaminados com metais pesados .....	39
2.1. Fitorremediação .....	39
2.1.1. Fitoadsorção .....	39
2.1.2. Fitoestabilização .....	40
2.1.3. Rizorremediação.....	41
2.1.4. Fitoextração .....	42
2.1.5. Vantagens e Limitações da Fitorremediação.....	46
2.2. Utilização de Culturas energéticas na remediação da contaminação com metais pesados .....	47
2.2.1. Colza.....	47
2.2.2. Purgueira.....	48
2.2.3. <i>Miscanthus</i> .....	49
2.2.4. Girassol.....	51
2.2.5. Kenaf .....	51
3. Descrição das metodologias, dos materiais e dos ensaios .....	53
3.1. Metodologias e Materiais .....	53
3.1.1. Metodologias Analíticas Aplicadas aos Solos.....	53

3.1.2. Metodologias Analíticas Aplicadas aos Adubos .....	56
3.1.3. Metodologias Analíticas Aplicadas à Água Utilizada na Irrigação.....	57
3.1.4. Metodologias analíticas aplicadas às plantas.....	58
3.2. Ensaio de Fitotoxicidade .....	60
4. Resultados.....	64
4.1. Caracterização Química do Substrato Vegetal Siro-Plant.....	64
4.2. Caracterização Química dos Adubos.....	65
4.3. Caracterização Química das águas de Irrigação .....	65
4.4. Caracterização Química das Plantas .....	66
4.4.1. Germinação.....	66
4.4.2. Parâmetros Biométricos.....	68
4.4.2.1. Altura do Caule.....	68
4.4.2.2. Diâmetro do Caule na Base .....	70
4.4.2.3. Área Foliar .....	74
4.4.3. Produtividade.....	77
4.4.4. Caracterização da Biomassa .....	83
4.4.4.1. Teor de Cinzas .....	83
4.4.4.2. Teor de Fibra e Poder calorífico .....	89
4.4.4.3. Teor de Zinco.....	93
4.4.4.4. Teor de Cobre .....	98
4.4.4.5. Teor de Crómio.....	100
4.4.4.6. Teor de Cádmio .....	102
4.4.4.7. Teor de Mercúrio .....	104
4.4.4.8. Teores de azoto, fósforo, cálcio, magnésio, potássio, sódio, ferro, manganésio, níquel e chumbo .....	105
4.4.5. Capacidade fitoextractora de metais.....	106
5. Conclusões.....	108
6. Referências Bibliográficas.....	109
Anexo I.....	117

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1:</b> Caule do kenaf e as suas fibras interna (lenhosa) e externa (cortical).....	17
<b>Figura 1.2:</b> Folhas de kenaf (Fonte: Webber <i>et al.</i> , 2002).....	18
<b>Figura 1.3:</b> Flor do kenaf (Fonte: Webber <i>et al.</i> , 2002) .....	19
<b>Figura 1.4:</b> Sementes do Kenaf (Fonte: Webber <i>et al.</i> , 2002).....	20
<b>Figura 1.5:</b> Efeito das diferentes datas de sementeira na produtividade do kenaf nos campos experimentais da UNL (Fonte: Fernando <i>et al.</i> , 2007).....	28
<b>Figura 1.6:</b> Influência da densidade de sementeira, de diferentes variedades e das datas de colheita na produtividade do kenaf nos campos experimentais da UNL (Fonte: Fernando <i>et al.</i> , 2007).....	29
<b>Figura 1.7:</b> Efeito dos níveis de irrigação na produtividade do kenaf nos campos experimentais da UNL.....	29
(Fonte: Fernando <i>et al.</i> , 2007). .....	29
<b>Figura 1.8:</b> Efeito dos níveis de fertilização azotada na produtividade do kenaf nos campos experimentais da UNL (Fonte: Fernando <i>et al.</i> , 2007).....	30
<b>Figura 1.9:</b> Máquina de colheita de kenaf (Fonte: Webber <i>et al.</i> , 2002a).....	32
<b>Figura 1.10:</b> Enfardamento de kenaf (Fonte: Kemble <i>et al.</i> , 2002).....	32
<b>Figura 1.11:</b> Fibra de kenaf peletizada (Fonte: Webber <i>et al.</i> , 2002a).....	33
<b>Figura 1.12:</b> Fibra exterior após separação (esquerda) e painéis integrados para isolamento térmico (direita) da KEFI ITALIA (Fonte: Lips, 2007). .....	36
<b>Figura 2.1:</b> Mecanismos de fitorremediação de solos contaminados com metais pesados. (Fonte: Fernando, 2005).. .....	27
<b>Figura 2.2:</b> Processos envolvidos na fitoextração (Fonte: Fernando, 2005).. .....	31
<b>Figura 3.1:</b> Montagem dos ensaios de fitotoxicidade na varanda do 1º piso do Edifício Departamental, no Campus da FCT/UNL... .....	49
<b>Figura 4.1:</b> Germinação das sementes (%) das variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	67
<b>Figura 4.2:</b> Altura dos caules (cm) no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). .....	69
<b>Figura 4.3:</b> Variação da altura dos caules (cm) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	69

<b>Figura 4.4:</b> Altura dos caules (cm) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	70
<b>Figura 4.5:</b> Diâmetro dos caules na base (cm) no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). .....	71
<b>Figura 4.6:</b> Variação do diâmetro dos caules na base (cm) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	72
<b>Figura 4.7:</b> Diâmetro dos caules na base (cm) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha). .....	73
<b>Figura 4.8:</b> Área foliar (cm <sup>2</sup> ) no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). .....	74
<b>Figura 4.9:</b> Variação da área foliar (cm <sup>2</sup> ) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	75
<b>Figura 4.10:</b> Área foliar (cm <sup>2</sup> ) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha). .....	76
<b>Figura 4.11:</b> Produtividade aérea no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). .....	79
<b>Figura 4.12:</b> Produtividade radicular no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). .....	79
<b>Figura 4.13:</b> Variação da produtividade aérea (g/cm <sup>2</sup> ) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). .....	80
<b>Figura 4.14:</b> Produtividade aérea (g/cm <sup>2</sup> ) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha). .....	81
<b>Figura 4.15:</b> Variação da produtividade aérea (g/cm <sup>2</sup> ) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). .....	81
<b>Figura 4.16:</b> Produtividade radicular (g/cm <sup>2</sup> ) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha). .....	82
<b>Figura 4.17:</b> Teor de Cinzas (%) do Caule interno no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). .....	84

<b>Figura 4.18:</b> Teor de cinzas (%) do caule interno no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	85
<b>Figura 4.19:</b> Teor de cinzas (%) do caule interno no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha). ....	85
<b>Figura 4.20:</b> Teor de Cinzas (%) do Caule externo no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	86
<b>Figura 4.21:</b> Teor de cinzas (%) do caule externo no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	87
<b>Figura 4.22:</b> Teor de Cinzas (%) das Folhas no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	87
<b>Figura 4.23:</b> Teor de cinzas (%) das Folhas no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	88
<b>Figura 4.24:</b> Teor de Cinzas (%) das Raízes no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	88
<b>Figura 4.25:</b> Teor de cinzas (%) das Raízes no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	89
<b>Figura 4.26:</b> Teor de Fibra (%) do caule interno no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	90
<b>Figura 4.27:</b> Teor de Fibra (%) do caule externo no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	91
<b>Figura 4.28:</b> Poder calorífico (kg/g) do caule interno no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	92
<b>Figura 4.29:</b> Poder calorífico (kg/g) do caule externo no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	92
<b>Figura 4.30:</b> Teor de zinco (mg/kg) dos caules internos no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	94
<b>Figura 4.31:</b> Teor de zinco (mg/kg) dos caules internos no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	94

<b>Figura 4.32:</b> Teor de zinco (mg/kg) dos caules externos no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	95
<b>Figura 4.33:</b> Teor de zinco (mg/kg) dos caules externos no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	96
<b>Figura 4.34:</b> Teor de zinco (mg/kg) das folhas no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	96
<b>Figura 4.35:</b> Teor de zinco (mg/kg) das raízes no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes). ....	97
<b>Figura 4.36:</b> Teor de zinco (mg/kg) das folhas no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	97
<b>Figura 4.37:</b> Teor de zinco (mg/kg) das raízes no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	98
<b>Figura 4.38:</b> Teor de cobre (mg/kg) das raízes no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	100
<b>Figura 4.39:</b> Teor de crómio (mg/kg) das raízes no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	102
<b>Figura 4.40:</b> Teor de cádmio (mg/kg) das folhas no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).....	103

## ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro 1.1:</b> Quantidades recomendadas de fertilizantes para o kenaf (El Bassam, 1998).....	23
<b>Quadro 3.1:</b> Metodologias utilizadas na caracterização físico-química dos solos.....	54
<b>Quadro 3.2:</b> Análises químicas efectuadas aos adubos utilizados nos ensaios de Fitotoxicidade.....	56
<b>Quadro 3.3:</b> Metodologias analíticas utilizadas para a caracterização química dos adubos...	57
<b>Quadro 3.4:</b> Métodos analíticos utilizados na caracterização química das águas de irrigação. ....	58
<b>Quadro 3.5:</b> Metodologias analíticas utilizadas para a caracterização físico-química das plantas.....	59
<b>Quadro 3.6:</b> Níveis de contaminação, soluções salinas e respectivos volumes utilizados para cada metal em estudo.....	61
<b>Quadro 4.1:</b> Caracterização físico-química do substrato vegetal Siro-Plant.....	64
<b>Quadro 4.2:</b> Caracterização química dos adubos utilizados nos Ensaio (resultados expressos em ms). ....	65
<b>Quadro 4.3:</b> Caracterização físico-química das águas de irrigação utilizadas nos Ensaio de Fitotoxicidade.....	66
<b>Quadro 4.4:</b> Percentagem de germinação.....	67
<b>Quadro 4.5:</b> Altura dos caules (cm) no final do ensaio para as variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	68
<b>Quadro 4.6:</b> Diâmetros (cm) obtidos no final do ensaio para as variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha). ....	71
<b>Quadro 4.7:</b> Área foliar (cm <sup>2</sup> ) das plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha). ....	74
<b>Quadro 4.8:</b> Produtividade (g.m <sup>-2</sup> , matéria seca) das plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	78
<b>Quadro 4.9:</b> Teor de Cinzas (% , ms) das plantas de kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	84
<b>Quadro 4.10:</b> Teor de Fibra (% , ms) e Poder calorífico (kJ/g, ms) das plantas de kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo. ....	90

<b>Quadro 4.11:</b> Teor de zinco (mg/kg, ms) das plantas de kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	93
<b>Quadro 4.12:</b> Teor de Cobre (mg/kg, ms) nas plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	99
<b>Quadro 4.13:</b> Teor de Crómio (mg/kg, ms) nas plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	101
<b>Quadro 4.14:</b> Teor de Cádmio (mg/kg, ms) nas plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	103
<b>Quadro 4.15:</b> Teor de Mercúrio (mg/kg, ms) nas plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).....	104
<b>Quadro 4.16:</b> Teores de Azoto, de Fósforo, Cálcio, Magnésio, Potássio, Sódio, Ferro, Manganésio, Níquel e Chumbo das plantas de Kenaf, no final do ensaio. ....	106
<b>Quadro 4.17:</b> Quantidade de metal extraído por cada variedade, pela parte aérea, no final do estudo experimental, para cada tratamento (em mg/m <sup>2</sup> ). ....	107

## INTRODUÇÃO

O presente trabalho pretende contribuir para o estudo das potencialidades do kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), no domínio da fitorremediação de solos contaminados com metais pesados.

A intenção de estudar esta planta, endémica de África, na fitorremediação de solos contaminados com metais pesados, enquadra-se na área temática das culturas energéticas do Mestrado em Bioenergia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT/UNL) e surgiu na sequência de diversos estudos que foram realizados pelo Grupo de Disciplinas de Ecologia da Hidrosfera e pela Unidade de Biotecnologia Ambiental, da FCT/UNL, no âmbito do projecto Biokenaf (“Biomass Production Chain and Growth Simulation Model for kenaf”). Este projecto foi financiado pela União Europeia ao abrigo do Programa “Quality of Life and Management of Living Resources” (QLK5-CT2002-01729) e decorreu entre 2003 e 2007. A principal finalidade deste projecto era a de fornecer informações sobre o potencial do kenaf, como cultura não-alimentar, na Europa. Estas plantas apresentam produtividades muito elevadas nas condições edafo-climáticas da bacia mediterrânica e a sua biomassa pode ser utilizada e valorizada economicamente, para diferentes fins tais como, por exemplo, na produção de energia ou de pasta para papel. Para além destas qualidades, estas plantas caracterizam-se por possuírem, também, um sistema radicular, muito extenso e profundo. Este facto permite antever uma capacidade significativa para extrair os metais pesados mobilizados do solo, acumulando-os nas raízes e na parte aérea. Além disso poderão, mesmo que não bioacumulando, ser tolerantes a elevadas concentrações no solo desses metais.

A contaminação dos solos com metais pesados é considerada, actualmente, um problema grave a nível mundial. Com efeito, os metais pesados libertados pela actividade antropogénica, ao depositarem-se nos solos, podem ser lixiviados para as águas subterrâneas, afectando a qualidade das mesmas, ou assimilados pelos organismos presentes no solo e pelas raízes, entrando nas cadeias tróficas. Daí podem resultar acidentes, por vezes muito graves, em termos de Saúde Pública, atendendo à sua elevada toxicidade.

É por isso, fundamental, encontrar soluções para o tratamento dos solos contaminados com metais pesados. Não só porque podem constituir um perigo para a Saúde Pública, como foi referido, mas também porque a área de solos contaminados, não estará disponível para a

agricultura. Diversos tipos de tecnologias têm sido utilizados para remediar solos contaminados com metais pesados. As técnicas físico-químicas encontram-se entre as mais vulgarizadas. No entanto, estes processos são bastante dispendiosos e podem não constituir a opção mais atractiva, especialmente quando não existe um risco óbvio para as populações. Neste sentido, uma aproximação menos dispendiosa consiste no recurso à fitorremediação, ou seja, ao uso de vegetação, *in situ*, para a remoção de poluentes em solos contaminados. Para além da possibilidade de biorremediação, o estabelecimento de um coberto vegetal em solos à partida abandonados, pode ser vantajoso, na medida em que: a) reduz a dispersão aérea e as escorrências superficiais, b) fornece cobertura para a vida animal, c) introduz melhorias ao nível do impacto visual, e d) o produto final colhido pode ser ainda valorizado economicamente. No entanto, actualmente, conhece-se apenas um número relativamente diminuto de plantas com capacidade para acumular metais pesados. Torna-se, portanto, necessário, estudar e identificar outras plantas potencialmente disponíveis, com capacidade para fitorremediarem solos contaminados. O trabalho agora apresentado pretende, portanto, contribuir para o avanço do conhecimento nesta área.

Para avaliar a capacidade do kenaf, na fitorremediação de solos contaminados com metais pesados, programaram-se diversos ensaios de fitotoxicidade, em vasos.

Nos ensaios de fitotoxicidade, pretendeu-se estudar o desenvolvimento da planta face à contaminação verificada, no solo, de diferentes metais pesados. Os metais estudados individualmente (cádmio, cobre, crómio, mercúrio e zinco) apresentam elevada mobilidade e biodisponibilidade e são referenciados na Portaria 176/96, respeitante aos valores limite de concentração dos metais pesados nos solos destinados à agricultura, receptores de lamas. Os solos foram contaminados com soluções salinas de cada metal. Neste ensaio foram estudadas seis variedades de kenaf: Tainung 2, Everglades 41, Gregg, G4, Dowling e SF 459.

Pretendeu-se com estes ensaios, alcançar o seguinte objectivo:

- Analisar o efeito, da contaminação dos solos com metais pesados, no crescimento, na produtividade e na qualidade da biomassa das diferentes variedades de kenaf.

## 1. O KENAF (*HIBISCUS CANABINUS* L.)

O kenaf é uma planta anual, herbácea, endémica de África, semelhante ao algodão, ao quiabo e à malva-rosa e pertencente à família *Malvaceae*, uma família com grande importância económica e hortícola (El Bassam, 1998). Pertence ao género *Hibiscus*, sendo que dentro deste género se enquadra na secção *Furaria* que inclui entre 40 a 50 espécies muito semelhantes morfológicamente (Liu, 2005).

Reino.....	<i>Plantae</i>
Subreino.....	<i>Tracheobionta</i>
Divisão.....	<i>Magnoliophyta</i>
Classe.....	<i>Magnoliophida</i>
Subclasse.....	<i>Dileniidae</i>
Ordem.....	<i>Malvales</i>
Família.....	<i>Malvaceae</i>
Género.....	<i>Hibiscus</i>
Espécie.....	<i>Hibiscus cannabinus</i> L.[1]

### 1.1. Caracterização

#### 1.1.1. Morfologia

O **caule** destas plantas pode atingir alturas entre os 3 e os 5m, sendo constituído por dois tipos de fibra (El Bassam, 1998). A fibra longa que está localizada na zona cortical e tem um comprimento de 2,5 – 4,5mm e a fibra curta que está localizada na zona lenhosa e tem um comprimento de 0,45 – 0,75mm (Alexopoulou, 2003). A medula é constituída por um tecido esponjoso e está rodeada pela fibra curta (Alexopoulou, 2003). As fibras do kenaf apresentam um enorme potencial, sendo o seu aproveitamento para a indústria da pasta e papel evidenciado no final deste capítulo e no decorrer deste trabalho.

Na partição da biomassa do caule, em termos de matéria seca, a camada cortical corresponde a 35 – 40%, a camada lenhosa a 60 – 65% e a medula a 2 – 3% (Alexopoulou, 2003).



**Figura 1.1:** Caule do kenaf e as suas fibras interna (lenhosa) e externa (cortical)  
(Fonte: Webber e Bledsoe, 2002).

As **folhas** do kenaf, numa fase de crescimento inicial são simples, inteiras e cordiformes (em forma de coração). É com a maturação da planta que novas folhas se começam a diferenciar nas suas formas características. Ao longo do caule e dos braços das plantas as folhas são simples, com um contorno serrado, estando posicionadas alternadamente. (Alexopoulou, 2003)

Dentro desta espécie existem dois tipos diferenciados de folhas, as folhas inteiras e as folhas divididas. As folhas inteiras são levemente lobuladas e cordiformes (em forma de coração). As folhas divididas apresentam lóbulos profundos, sendo constituídas por 3, 5 ou 7 lóbulos por folha (Webber *et al.*, 2002).

No que respeita às variedades em estudo, verifica-se que as variedades Everglades 41 e Dowling apresentam folhas cordiformes, enquanto as variedades Tainung 2, Gregg, G4 e SF459 apresentam folhas divididas.

As culturas divididas podem produzir até dez folhas do crescimento inicial antes da produção da primeira folha diferenciada (Alexopoulou, 2003).

Na composição química das folhas estão presentes compostos voláteis e óleos essenciais. Estas representam uma fonte natural de químicos alelopáticos, os quais são utilizados como fonte de prevenção e inibição da germinação e crescimento de ervas daninhas, diminuindo deste modo a competição destas ervas com as culturas (Webber e Bledsoe, 2002). Foram identificados e caracterizados entre 5 a 8 componentes dos óleos essenciais, com características de fitotoxicidade para ervas daninhas e fungos (Webber e Bledsoe, 2002).

Entre os 58 componentes identificados do óleo essencial das folhas de kenaf, os que se apresentam em maiores quantidades são o (E) – fitol (28,16%), o (Z) – fitol (8,02%), o n – nonanal (5,70%), o acetaldeído benzénico (4,39%), o (E) – hexanal (3,10%) e também o 5 – metilfurfural (3,00%). No que respeita aos compostos voláteis foram identificados dez compostos entre os quais se encontram o álcool etílico, o álcool isobutílico, o felandreno e o acetato R – terpentil. (Webber e Bledsoe, 2002)



**Figura 1.2:** Folhas de kenaf (Fonte: Webber *et al.*, 2002)

As **flores** produzidas por esta espécie são largas, em forma de sino e muito abertas, com cores que variam desde um creme pálido até púrpura escuro. O seu centro apresenta uma cor avermelhada que nunca ocorre nas pétalas.

Apresentam um diâmetro que varia entre os 8 e os 13cm e um conjunto de cinco pétalas. Nascem no eixo das folhas da parte superior do caule e do meristema apical principal (Alexopoulou, 2003).

A fase de floração ocorre na fase final do crescimento e pode durar entre 3 a 4 semanas por planta. Contudo, cada flor floresce apenas por um dia. As flores começam a abrir no princípio da manhã, fechando a meio da tarde e não abrindo novamente (El Bassam, 1998).

Embora esta espécie seja auto-fértil, ou seja, realiza uma auto-polinização, pode apresentar uma polinização cruzada que é realizada por abelhas domésticas. A auto-polinização acontece através do movimento das pétalas (Alexopoulou, 2003).



**Figura 1.3:** Flor do kenaf (Fonte: Webber *et al.*, 2002)

As **sementes** do kenaf desenvolvem-se dentro de cápsulas ovais com um comprimento que varia entre 1,9 e 2,5mm e um diâmetro entre 1,3 e 1,9cm. Estas cápsulas estão cobertas por estruturas finas, muito irritantes quando em contacto com a pele. Cada cápsula contém cinco segmentos tubulares onde se encontram as sementes, contendo cada cápsula um total de 20 a 26 sementes (Alexopoulou, 2003).

As sementes são de cor preta e têm aproximadamente 6mm de comprimento e 4mm de largura. Cerca de 35 000 a 40 000 sementes correspondem a apenas um quilograma, o que é uma evidência do seu pequeno tamanho (Alexopoulou, 2003). Estas demoram entre quatro a cinco semanas a atingir a maturação (Alexopoulou, 2003).

As sementes apresentam na sua constituição aproximadamente 26,4% de óleo, sendo que 6,0% deste óleo é constituído por fosfolípidos e 0,9% por esteróis. Os ácidos gordos que se apresentam em maior quantidade são o palmítico (20,1%), o oleico (29,2%) e o linoleico (45,9%). Os ácidos gordos que se apresentam em menor quantidade são o palmitoleico (1,6%), linolenico (0,7%) e o esteárico (3,5%) (Webber e Bledsoe, 2002).

Este óleo pode ser utilizado na alimentação humana, tendo-se verificado que possui elevadas quantidades de fosfolípidos (Webber e Bledsoe, 2002; Alexopoulou, 2003).



**Figura 1.4:** Sementes do Kenaf (Fonte: Webber *et al.*, 2002)

As **raízes** das plantas são longas, sendo o sistema radicular relativamente profundo e com raízes laterais longas, o que torna a cultura tolerante à seca. Através deste sistema radicular, o kenaf consegue usar os nutrientes contidos no solo de culturas anteriores (Alexopoulou, 2003).

### 1.1.2. Fotossensibilidade

O kenaf é uma espécie que engloba diversas variedades que respondem diferenciadamente ao número de horas de sol diárias, o que significa que apresentam diferentes sensibilidades à luz. (Alexopoulou, 2003).

De um modo geral, o kenaf é uma cultura muito sensível ao fotoperiodismo (Alexopoulou, 2003). A floração da cultura surge na fase final do crescimento, estando intimamente relacionada com o fotoperíodo. A planta inicia a floração quando a duração do dia é inferior a 12,5 horas de luz, o que significa que nesta fase a planta abandona o seu crescimento vegetativo (Alexopoulou, 2003). Em relação à duração do ciclo vegetativo, as variedades reagem de modo muito diferente ao fotoperiodismo podendo classificar-se em variedades de maturação precoce e variedades de maturação tardia:

- **Variedades de maturação precoce** – A floração das variedades de kenaf de maturação precoce é independente do número de horas solares. Nas condições pedoclimáticas da região do Mediterrâneo, as variedades de maturação precoce são caracterizadas por apresentarem datas de floração com início desde o meio de Julho indo até ao meio de Agosto. A duração do ciclo vegetativo poderá ser de 75 a 105 dias (variedades precoces) até 105-120 dias (variedades semi-precoces). Na maioria dos

trabalhos de investigação, é referido que as variedades de kenaf de maturação precoce são menos produtivas que as variedades de maturação tardia, uma vez que apresentam um período vegetativo mais curto. Adamson *et al.* (1972) verificou que as variedades de maturação precoce que foram testadas juntamente com outras variedades de kenaf obtiveram valores de matéria seca significativamente inferiores aos registados para as variedades de maturação tardia (Everglades 41 e G4). Mais especificamente, a matéria seca dos caules para as variedades de kenaf de maturação precoce foi de 7,64 t/ha, enquanto para as de maturação tardia foi de 17,9 t/ha. A variedade G4 corresponde à única variedade capaz de combinar um ciclo de crescimento curto com uma elevada produtividade, semelhante às registadas para as variedades de kenaf de maturação tardia. Grandall (1994) sugeriu que a variedade G4 corresponde a uma cultivar insensível ao fotoperíodo. De acordo com Belocchni *et al.* (1998), a variedade de maturação precoce G4 (na região do Mediterrâneo) necessita de um período de cerca de 130 dias desde a emergência até à antese.

- **Variedades de maturação tardia** – A floração das variedades de kenaf de maturação tardia está directamente relacionada com o fotoperíodo. A planta inicia a floração quando a duração do dia é inferior a 12,5 horas de luz. A duração do ciclo vegetativo para as variedades de kenaf de maturação tardia é de 120-140 dias (Alexopoulou, 2003). Nas condições pedoclimáticas da região do Mediterrâneo a floração das variedades de maturação tardia não é iniciadas antes do final de Setembro. Entre as variedades de maturação tardia, as mais conhecidas são a Everglades 41, a Everglades 71, a Tainung 1 e a Tainung 2.
  
- **Novas Variedades** – Nos EUA têm vindo a ser desenvolvidas novas variedades de kenaf. As variedades Gregg e Dowling apresentam um rendimento superior em termos da produtividade do caule e uma maior estabilidade nas produtividades. Estas variedades também apresentam uma maior produção de caule externo, uma tolerância moderada aos nemátodes-das-galhas-radiculares e uma maior resistência à *Christulariella moricola* (Alexopoulou, 2003). A variedade SF459 é uma variedade que apresenta elevada tolerância a solos com problemas de nemátodes (Cook e Scott, 1995).

## 1.2. Factores edafo-climáticos

O kenaf é uma planta que apresenta uma grande adaptabilidade ecológica em relação ao clima e ao solo, relativamente a outras plantas de produção comercial, podendo ser cultivada numa vasta gama de condições edafo-climáticas. Contudo, atinge o seu crescimento máximo em zonas tropicais e sub-tropicais, o que corresponde a latitudes que variam entre os 45°N e os 30°S, onde as altitudes não ultrapassem os 1000 m (Alexopoulou, 2003).

Devido ao rápido crescimento característico desta cultura, os locais de plantação devem ser abrigados de ventos fortes a fim de se evitar a quebra dos caules, o que significaria um decréscimo na produtividade (Alexopoulou, 2003).

Após a sementeira, as fases de germinação e desenvolvimento das sementes são fases críticas da cultura, sendo a sua duração função da temperatura (Alexopoulou, 2003). A temperatura mínima do solo, a 5cm de profundidade, para a sementeira, corresponde a um intervalo de 9,2 a 9,7°C, variando a temperatura óptima entre os 12 e os 15°C (Alexopoulou, 2003). Ao longo do ciclo vegetativo a temperatura mínima não deve ser inferior a 15°C, variando a temperatura óptima entre os 25 e os 28°C (Alexopoulou, 2003). É uma cultura muito sensível à geada (Alexopoulou, 2003).

Em relação às necessidades hídricas, o nível de precipitação deve variar entre os 500 e os 600mm, para um período de 4 a 5 meses correspondentes à fase vegetativa. Para um bom desenvolvimento de uma cultura de kenaf, num período sem chuvas, existe a necessidade de uma rega de 100m<sup>3</sup>/ha de 10 em 10 dias (Suspiro, 1992, El Bassam, 1998). A escassez de água é um factor limitante da cultura, bem como os períodos de grandes chuvadas (Suspiro, 1992; El Bassam, 1998).

A presente cultura é pouco exigente no que respeita ao tipo de solo, obtendo-se maiores taxas de crescimento em solos férteis de sub-solo permeável, de textura areno-argilosa, neutros ou ligeiramente ácidos (pH = 6-7), podendo desenvolver-se bem também em solos argilosos, desde que estes não estejam sujeitos a alagamentos, especialmente na fase de desenvolvimento das sementes, uma vez que este é um factor inibidor do crescimento (El Bassam, 1998).

No que respeita à percentagem de humidade na atmosfera, verificam-se as maiores taxas de crescimento para um intervalo de 65-85% (Alexopoulou, 2003).

### 1.3. Nutrientes

No que respeita à fertilização mineral, o azoto parece ser o elemento de maior importância para a obtenção de produtividades mais elevadas, devendo a adubação realizada nos solos ser completada com a adição de fósforo e potássio, tendo sempre em conta a concentração destes elementos existente no solo e o nível de extração destes por parte da cultura (Webber *et al.*, 2002).

A remoção de nutrientes e fertilizantes do solo para o enriquecimento das sementes é muito significativa, devendo a cultura dispor das seguintes quantidades dos principais nutrientes:

**Quadro 1.1:** Quantidades recomendadas de fertilizantes para o kenaf (El Bassam, 1998).

Elemento	Quantidade (kg/ha)
Azoto na fase de sementeira	20 – 30
Azoto para uma altura da planta de 20cm	50 – 60
Potássio na forma $K_2O$	120
Fósforo na forma $P_2O_5$	60

Para a realização da fertilização da cultura é necessário ter em consideração alguns factores inerentes à cultura, tais como (Alexopoulou, 2003):

- A devolução de nutrientes por parte das folhas na fase de desfoliação dos caules. A degradação das folhas no solo onde a cultura se encontra, devolve ao solo em quantidades significativas nutrientes como o azoto (quantidades de devolução superiores a 4% por unidade de massa), cálcio, magnésio, fósforo e potássio. Para além das folhas, também a degradação da parte não fibrosa dos caules contribui para a devolução de nutrientes ao solo.

- O sistema radicular do kenaf, por ser muito desenvolvido e apresentar raízes profundas e um sistema radicular secundário lateral muito espalhado, consegue obter uma boa eficiência na remoção de nutrientes residuais de culturas anteriores.
- O programa de fertilização deverá ter em consideração apenas as necessidades de nutrientes da cultura, a fim de se evitar a aplicação de um excesso de nutrientes no solo. Neste ponto também o tipo de solo no qual a cultura se encontra deve ser tido em conta, uma vez que a cultura responde de modo diferente ao programa de fertilização, consoante o tipo de solo.

#### **1.4. Espécies Infestantes**

As espécies infestantes do kenaf correspondem ao aparecimento de ervas daninhas nos solos onde a cultura é plantada, sendo o seu controlo vital para o bom desenvolvimento da plantação.

O kenaf, por ser uma cultura de crescimento rápido, consegue formar com as suas folhas cúpulas que impedem a crescimento e desenvolvimento destas ervas, por se formar uma grande área de sombreamento no solo, o que impede que estas ervas recebam as quantidades de radiação necessárias para o seu desenvolvimento (Alexopoulou, 2003).

Em climas quentes cuja adaptabilidade da cultura é superior, a taxa de crescimento do kenaf é elevada, o que lhe oferece uma grande eficiência na competição com estas espécies (Alexopoulou, 2003). Quando a cultura se encontra em climas cuja temperatura é um factor limitante para o seu bom desenvolvimento, por vezes torna-se necessário a aplicação de herbicidas de pré-emergência (Alexopoulou, 2003).

De todas as ervas daninhas que competem com o kenaf, a mais competitiva é uma planta de folha aveludada (*Abutilon theophrasti*) muito semelhante ao kenaf em aparência na fase de germinação e na taxa de crescimento (El Bassam, 1998; Alexopoulou, 2003).

## 1.5. Doenças e Insectos

### 1.5.1. Doenças

O kenaf é uma espécie resistente à grande maioria das doenças, não sofrendo por isso ataques significativos de modo a prejudicar a cultura (Suspiro, 1992).

A antracnose é a doença que maiores riscos acarreta para a cultura, tendo origem no fungo *Colletotrichum hibisci*, podendo inutilizar totalmente a cultura. Pelo difícil combate a este fungo, e pelas implicações que este trás à cultura, recorre-se a variedades resistentes no cultivo do kenaf (Suspiro, 1992; Alexopoulou, 2003).

Outros fungos e agentes causadores de podridões no solo e na cultura têm sido diagnosticados, sem que provoquem prejuízos graves, o mesmo acontecendo com algumas bactérias (Suspiro, 1992).

Outros fungos registados como capazes de provocar doenças no kenaf são as espécies *Rhizoctonia solani*, a *Macrophomina phaseolina* e a *Botrydis sp.* (El Bassam, 1998).

Os nemátodes são animais multicelulares, microscópicos, semelhantes a vermes, que se alimentam sobretudo do sistema radicular da planta, representando por isso um dos maiores problemas associados ao crescimento do kenaf (Alexopoulou, 2003).

Na presença de nemátodes, as folhas da planta têm tendência a amarelecer e a caírem, ficando o crescimento da planta comprometido. Quando a infestação é maior, pode ocorrer a perda total da cultura (El Bassam, 1998).

As espécies de nemátodes com maiores implicações na cultura são a *Meloidogyne incognita*, a *Meloidogyne javanica* e a *Meloidogyne arenaria* (Alexopoulou, 2003).

### **1.5.2. Insectos**

A maioria dos problemas causados por insectos nas culturas de kenaf ocorre sobretudo na fase de germinação (Alexopoulou, 2003). Os insectos que apresentam maior potencial para o surgimento de problemas na cultura são os vermes de corte, os mineiros das folhas e os insectos de mastigação ou sucção (Alexopoulou, 2003).

### **1.6. Sementeira e Produtividade**

Para a realização da sementeira, tem de se ter em consideração a temperatura, visto a cultura ser sensível a temperaturas baixas e ao número de horas de sol diárias. Deste modo, a fase de sementeira deve ser realizada quando as temperaturas médias são superiores a 15°C e o número de horas diárias de sol é superior a 12,5h (El Bassam, 1998).

Outros factores de igual relevância para a germinação e desenvolvimento da cultura, prendem-se com a boa preparação do solo e a profundidade a que a semente é colocada, a qual deverá ser de aproximadamente 2 - 3cm. Nestas condições, a cultura pode emergir entre 4 a 7 dias. (El Bassam, 1998)

Quando a sementeira é realizada em períodos anteriores às condições descritas, verifica-se que a emergência da cultura é menor e mais lenta, sendo o seu crescimento não-competitivo (Webber e Bledsoe, 2002). Quando a sementeira é realizada posteriormente, verifica-se uma redução nas quantidades de biomassa obtidas devido à redução da disponibilidade da radiação necessária (Webber e Bledsoe, 2002). Ou seja, devido ao facto do número de dias disponíveis para o desenvolvimento da fase vegetativa diminuir.

A produtividade da cultura também está relacionada com a densidade de plantação. Para que as produções sejam maximizadas, a densidade de plantação deve variar entre 185000 e 370000 plantas/ha (Webber e Bledsoe, 2002). Com estas densidades conseguem-se obter plantas quase livres de ramificações, estando por isso a biomassa essencialmente concentrada no caule (Webber e Bledsoe, 2002).

Para sementeiras com densidades inferiores a 185000 plantas/ha, a produtividade diminui (Webber e Bledsoe, 2002). Nestas condições a cultura produz diversas ramificações, o que diminui a produtividade dos caules e dificulta os métodos mecânicos de colheita do kenaf (Webber e Bledsoe, 2002). Se a sementeira for realizada com densidades superiores a 370000 plantas/ha, a cultura compete pela disponibilidade de recursos, como a luz, os nutrientes e a humidade do solo, reduzindo deste modo o número total de plantas para os valores de densidade indicados anteriormente (Webber e Bledsoe, 2002).

Os valores de produtividade resultantes desta cultura são calculados com base na quantidade de matéria seca de caule que se consegue obter na fase de colheita. Estes valores, como referido anteriormente, estão dependentes de factores edafo-climáticos, tais como o valor da temperatura média, o tempo de crescimento da cultura e a humidade do solo e de factores associados ao cultivo, como a densidade e a variedade utilizada (Webber e Bledsoe, 2002). Deste modo, os valores de produtividade comercial, podem variar entre 9 e 22 t/ha (em matéria seca) (Alexopoulou, 2003).

#### **1.6.1. Produção de Kenaf em Portugal (Estudos Preliminares em Portugal)**

Em Portugal, os primeiros estudos experimentais realizados com o kenaf foram iniciados em 1991, no âmbito do projecto de demonstração EUROKENAF (Vivas e Augusto, 1994). Estes estudos foram realizados pela FENACAM, com a colaboração de outras entidades nacionais.

Foram instalados campos de demonstração em Setúbal, Santarém, Castelo Branco, Coimbra Portalegre e na Região Autónoma da Madeira, em 11 áreas climática e pedologicamente distintas, onde a amplitude de precipitação é de 514-994 mm e a temperatura média é de 13,9°C a 18,7°C (Vivas e Augusto, 1994) [2].

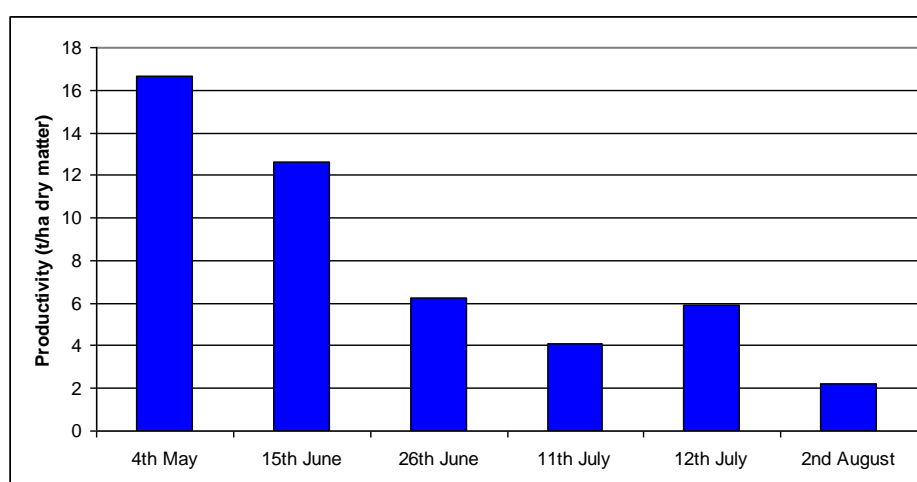
Foram testadas 5 variedades, três variedades de maturação tardia (Salvador, Cubano e Everglades 71) e duas variedades de maturação precoce (PI-343142 e PI-324923) [2].

Obtiveram-se, nestes ensaios, produtividades médias de cerca de 12 t.ha<sup>-1</sup> (em matéria seca) para as variedades de maturação precoce, e de cerca de 20 t.ha<sup>-1</sup> (em matéria seca) para as variedades de maturação tardia [2]. Nestes ensaios, todos os campos receberam uma adubação

de fundo de 100 kg N, 100 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 100 kg de K<sub>2</sub>O, por hectare. Na adubação de cobertura, efectuada cerca de um mês após a sementeira, foi administrado apenas azoto, 40 kg/ha, metade nítrico e metade amoniacal (Vivas e Augusto, 1994). Para controlo de infestantes aplicou-se em pré-sementeira, trifluralina. A sementeira foi realizada entre o final de Abril e meados de Maio [2]. Os campos foram irrigados sempre que necessário, ao longo do ciclo de crescimento da cultura, para evitar situações de tensão hídrica [2].

Em Março de 2003 teve início o projecto “Biomass Production Chain and Growth Simulation Model for Kenaf – Biokenaf”. No âmbito deste projecto, que teve a duração de quatro anos, foram realizados vários ensaios em campo, com o Kenaf, no Monte de Caparica, pelo Grupo de Disciplinas de Ecologia da Hidrosfera/Unidade de Biotecnologia Ambiental da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (Fernando *et al.*, 2007). Estes ensaios tiveram como principais objectivos, o estudo da influência de diferentes variedades, datas de sementeira, densidade de sementeira, níveis de irrigação, níveis de fertilização azotada e datas de colheita, na produção e qualidade da biomassa de kenaf, em Portugal (Fernando *et al.*, 2007).

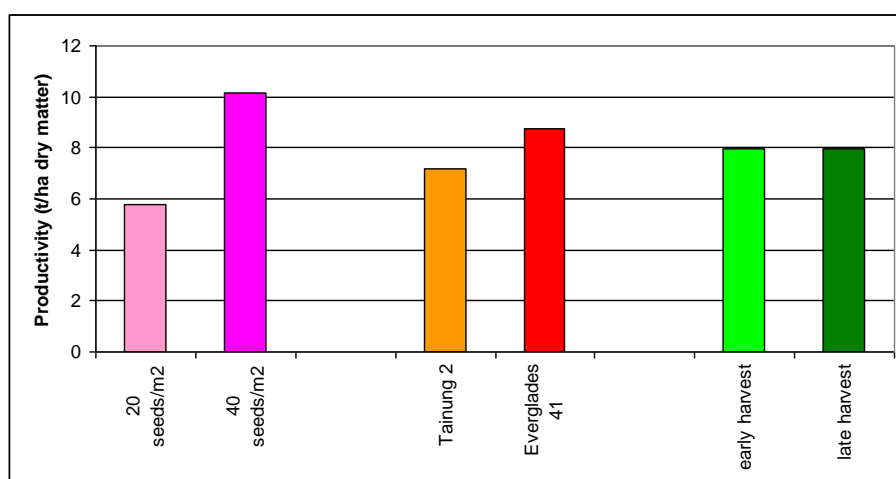
Estes estudos demonstraram que nas condições pedoclimáticas do Sul de Portugal, podem ser alcançados elevados rendimentos (28 t matéria seca.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>), dependendo das técnicas de cultivo aplicadas (Fernando *et al.*, 2007). A produtividade é influenciada pela data de sementeira, pela densidade de sementeira e pelos níveis irrigação (Fernando *et al.*, 2007, 2007a e 2007b) (**Figura 1.5, 1.6 e 1.7**).



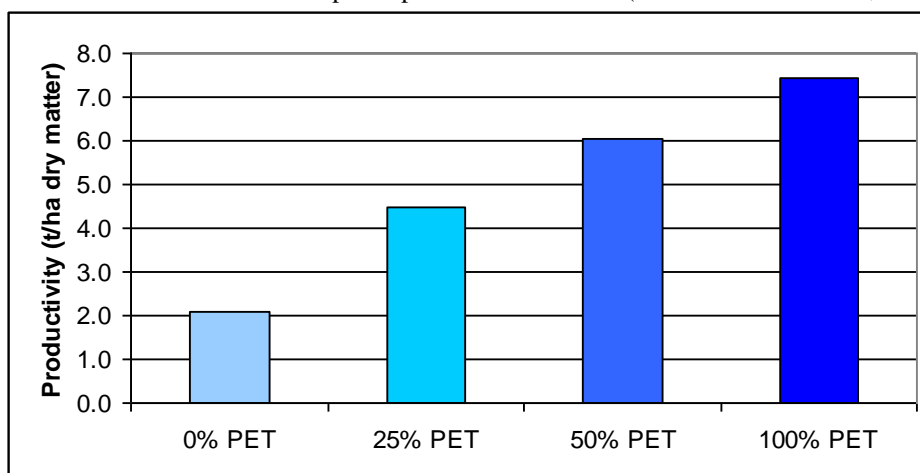
**Figura 1.5:** Efeito das diferentes datas de sementeira na produtividade do kenaf nos campos experimentais da UNL (Fonte: Fernando *et al.*, 2007).

Com efeito, verificou-se que, nas condições do Sul de Portugal, a sementeira deverá ser realizada no início de Maio (**Figura 2.5**), obtendo-se maiores produtividades quando são

semeadas cerca de 40 sementes/ha (**Figura 1.6**) e quando os campos são irrigados de modo a compensar o défice de água no solo e de modo a prevenir o estabelecimento de uma situação de tensão hídrica (**Figura 1.7**) (Fernando *et al.*, 2007, 2007a e 2007b). Das duas variedades estudadas, Tainung 2 e Everglades 41, verificou-se que a variedade Everglades 41 era mais produtiva do que a Tainung 2 (**Figura 1.6**) (Fernando *et al.*, 2007 e 2007a). As colheitas realizadas em Outubro/Novembro apresentaram produtividades semelhantes às obtidas nas colheitas efectuadas em Dezembro/Janeiro (**Figura 1.6**) (Fernando *et al.*, 2007, 2007a e 2007b).



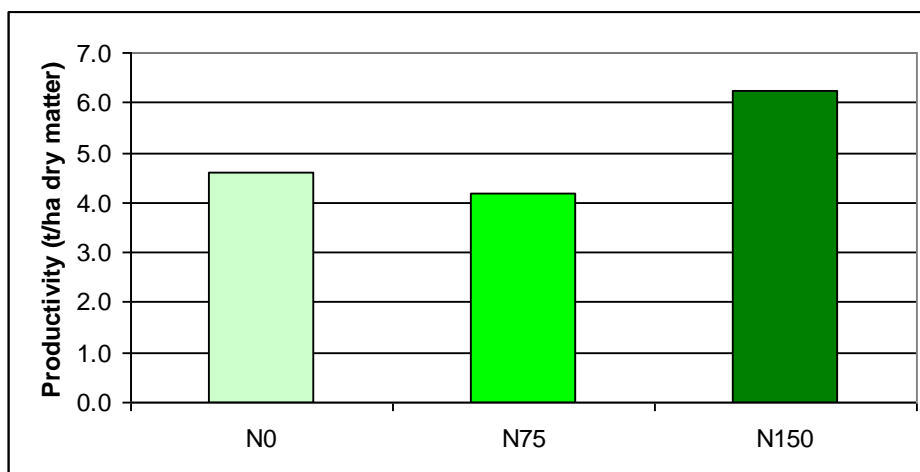
**Figura 1.6:** Influência da densidade de sementeira, de diferentes variedades e das datas de colheita na produtividade do kenaf nos campos experimentais da UNL (Fonte: Fernando *et al.*, 2007).



**Figura 1.7:** Efeito dos níveis de irrigação na produtividade do kenaf nos campos experimentais da UNL (Fonte: Fernando *et al.*, 2007).

Os campos com maior nível de fertilização azotada (150 kg N/ha) apresentaram uma produtividade superior à dos campos com 75 kg N/ha e com 0 kg N/ha, embora sem significado estatístico (**Figura 1.8**) (Fernando *et al.*, 2007 e 2007b). De acordo com as conclusões deste projecto, nas condições do Sul de Portugal, poder-se-á obter uma produção sustentável de kenaf, se os campos forem irrigados com uma irrigação equivalente a 50% do

potencial de evapotranspiração e aplicando cerca de 75 kg N/ha (Fernando *et al.*, 2007 e 2007b).



**Figura 1.8:** Efeito dos níveis de fertilização azotada na produtividade do kenaf nos campos experimentais da UNL (Fonte: Fernando *et al.*, 2007).

A data de sementeira também afectou a qualidade da biomassa, obtendo-se plantas com maior poder calórico, nas sementeiras de Maio-Junho (Fernando *et al.*, 2007 e 2007a). A variedade Tainung 2 apresentou teores em fibra superiores aos da Everglades 41, e a variedade Everglades 41 apresentou um poder calórico superior ao da Tainung 2 (Fernando *et al.*, 2007 e 2007a). A qualidade da biomassa não foi afectada pela densidade da sementeira, pelo nível de irrigação, pelo nível de fertilização azotada e pela data da colheita (Fernando *et al.*, 2007, 2007a e 2007b).

## 1.7. Técnicas de Colheita do kenaf

As técnicas de colheita do kenaf estão dependentes de factores como a localização do campo de produção, dos equipamentos disponíveis, dos métodos de processamento e do fim a que se destina a produção (Webber *et al.*, 2002a).

Os primeiros processos de colheita que surgiram, tinham como objectivo a utilização da fibra exterior da cultura para a sua utilização na cordoaria (Webber *et al.*, 2002a). As plantas eram colhidas manualmente quando se encontravam na fase final de crescimento, sofrendo posteriormente um processo de maceração (Webber *et al.*, 2002a).

O processo de maceração realiza-se em meio húmido com recurso a bactérias, ou através de produtos químicos, onde todo o material não utilizável é removido (Webber *et al.*, 2002a). Neste processo, os caules são atados em molhos e colocados em reservatórios de água ou nas margens de cursos de água para que as bactérias consigam digerir a planta. Deste modo, as fibras exteriores surgem como produto final deste processo (Webber *et al.*, 2002a).

### 1.7.1. Maquinaria

As primeiras máquinas fabricadas para este processo tinham por base o processo de extracção anteriormente referido. Estas máquinas colhiam as plantas ainda verdes, removiam a sua parte folhosa superior, separavam as fibras exteriores, atando-as em molhos (Webber *et al.*, 2002a). Estas máquinas tinham como único objectivo o aproveitamento das fibras exteriores, sendo por isso as fibras interiores tratadas como resíduos do processo. Actualmente, existem máquinas produzidas especificamente para o processo de colheita do kenaf, as quais colhem e também separam as fibras interiores para que possam ser utilizadas (Webber *et al.*, 2002a).

Para além destas máquinas, e devido à utilização de ambas as fibras na indústria da pasta de papel, foram desenvolvidos outros equipamentos de colheita, os quais correspondem a aproximações de máquinas de colheita da cana-de-açúcar e de máquinas de colheita de forragem, com o objectivo da colheita do caule por inteiro (Webber *et al.*, 2002a).

- **Máquinas de colheita de cana-de-açúcar:** estas máquinas podem ser utilizadas para o processo de colheita de kenaf sem sofrerem quaisquer alterações, ou com apenas alterações ligeiras. Estas possuem sistemas de lâminas circulares que conseguem cortar a base do caule e a parte folhosa superior da planta. Depois de cortados, estes caules são posteriormente deixados no solo em pilhas para que ocorra a sua secagem. Depois de secos, os caules são recolhidos por outro equipamento de colheita utilizado também na cana-de-açúcar. Este tipo de equipamento tanto pode ser utilizado para a colheita de caules verdes, como de caules já secos (Webber *et al.*, 2002a).



**Figura 1.9:** Máquina de colheita de kenaf (Fonte: Webber *et al.*, 2002a)

- **Máquinas de colheita de forragem e equipamento de enfardamento:** a maquinaria utilizada para a colheita de forragem, como as máquinas de corte do caule das plantas ao nível do solo, as máquinas de corte do caule para redução do seu comprimento e as máquinas de enfardamento podem ser utilizadas de igual modo para o processo de colheita do kenaf (Webber *et al.*, 2002a). O kenaf pode ser enfardado em fardos com forma rectangular ou circular, sendo que através deste processo se consegue um aumento da densidade da matéria e, como tal, uma maior facilidade de transporte e armazenamento (Webber *et al.*, 2002a).



**Figura 1.10:** Enfardamento de kenaf (Fonte: Kemble *et al.*, 2002)

### 1.7.2. Factores que afectam o processo

Os caules secos do kenaf, despidos de folhas, correspondem a um material muito leve e com baixos valores de densidade ( $0,31 \text{ g/cm}^3$ ), sendo que as fibras cortadas apresentam ainda uma

densidade inferior ( $0,1 \text{ g/cm}^3$ ) (Webber *et al.*, 2002a). Estes baixos valores de densidade afectam a eficiência dos procedimentos de transporte e armazenamento do material.

Para a resolução deste problema, e de modo a aumentar a densidade deste material, é feita uma peletização que aumenta a densidade do material em cerca de 390%, o que corresponde a uma densidade de  $1,21 \text{ g/cm}^3$ . Este material peletizado apresenta um diâmetro que varia entre 0,5 e 1,9 cm (Webber *et al.*, 2002a)

Outro método utilizado para o aumento da densidade do material consiste na sua compressão em forma de cubos. Os cubos compostos por fibra interior apresentam uma densidade de  $0,89 \text{ g/cm}^3$ , os cubos de fibra exterior  $1,22 \text{ g/cm}^3$ , apresentando os cubos compostos por uma mistura das duas fibras uma densidade de  $0,93 \text{ g/cm}^3$  (Webber *et al.*, 2002a). Em termos de dimensões, estes apresentam uma base de  $3 \times 3 \text{ cm}$  e um comprimento que varia entre 3 e 13 cm (Webber *et al.*, 2002a).



**Figura 1.11:** Fibra de kenaf peletizada (Fonte: Webber *et al.*, 2002a)

## 1.8. Utilizações do Kenaf

Desde há muitos séculos que o kenaf era já conhecido do povo egípcio como planta produtora de fibra. Na Índia o kenaf, também conhecido por mesta, é cultivado e utilizado, desde tempos pré-históricos, para cordoaria, sacaria, forro de tapetes, assim como para artigos de decoração doméstica (Cook, 1960). Em Espanha o kenaf foi largamente cultivado na Estremadura e Andaluzia e a sua biomassa utilizada para a cordoaria, durante a época dos descobrimentos (Moreno, 2003). Permaneceu como uma das menos importantes plantas produtoras de fibras até à 2ª Guerra Mundial, altura em que, face à crise económica, plantas de crescimento rápido

produtoras de fibra ganharam acrescida importância como substitutos de outros materiais conhecidos que se tinham tornado escassos e de preço elevado (Seca, 1999).

O kenaf pode ser considerado como uma planta bastante versátil quando comparado, por exemplo com a juta, que só é cultivada em regiões muito restritas do globo, como a Índia e o Bangladesh, uma vez que, se adapta bem a diversas regiões, desde 45° de latitude N a 30° de latitude S (Seca, 1999; Alexopoulou, 2003). Além disso, a fibra do kenaf, é mais resistente que a da juta, embora menos flexível, verificando-se assim que o kenaf corresponde a uma planta com excelentes características para sucedâneo da juta (Seca, 1999).

Nas últimas décadas, a produção de kenaf sofreu uma grande expansão em diversos países da América do Norte e Central, em alguns estados da ex-URSS, assim como na Índia, Egipto, Nigéria, China e Coreia (Seca, 1999). A produção mundial anual de kenaf foi de 0,51 milhões de toneladas, em 1998/2000, sendo produzida quase na sua totalidade na China (44%), Índia (39%) e Tailândia (12%) (FAO, 2003). De facto, o interesse por plantas anuais de crescimento rápido, produtoras de fibra com uma qualidade semelhante à que se pode obter a partir da madeira, como o kenaf, advém de algumas vantagens destas sobre as espécies arbóreas tradicionais. De acordo com Fried (1999), o kenaf num período de seis meses pode atingir uma altura de três a quatro metros e a sua produção pode ser duas a três vezes superior (por ha e por ano) à do pinheiro. Além disso, é uma cultura que provoca um menor desgaste dos solos e contribui para a diminuição do impacto ambiental dos efluentes da indústria da pasta de papel, uma vez que são necessários menos produtos químicos no processo (Seca, 1999). No entanto, convém salientar que existem algumas desvantagens na utilização de espécies anuais pela indústria papelreira tais como, o facto do nível da sua produção anual não ser constante, a sua difícil conservação quando armazenadas, bem como o facto de possuírem elevados teores de sais inorgânicos que provocam problemas na recuperação dos licores de cozimento (Seca, 1999). A desflorestação, o preço elevado da madeira virgem e o aumento da procura de produtos à base de pasta de papel são outros factores que têm contribuído para a importância e crescimento de culturas fibrosas anuais, como o kenaf (Wood e Jong, 1997; Fried, 1999).

A polpa do kenaf pode ser utilizada na produção de diversos tipos de papel, o qual apresenta boa qualidade, durabilidade, boa qualidade para impressão e absorção de tinta (Kugler, 1988; Fuwape, 1993). Na produção de pasta pode ser processado o caule por inteiro ou então pode-se separar o caule externo (35% do caule) do caule interno (65% do caule), sendo estes

processados separadamente (Alexopoulou, 2003). No entanto, a qualidade do papel resultante do caule externo é muito diferente da qualidade do papel que se pode obter a partir do caule interno. O papel produzido a partir das fibras do caule interno é mais fino e denso, enquanto o papel produzido a partir das fibras do caule externo é mais grosso, volumoso, leve e geralmente mais resistente (Alexopoulou, 2003).

Embora a importância desta cultura seja sobretudo para a produção de pasta para papel, o kenaf pode ser utilizado em múltiplas aplicações industriais adicionais (Alexopoulou, 2003). Com efeito, as fibras de kenaf podem ser utilizadas na indústria têxtil, na construção de painéis de fibra de média densidade, como camas para animais (para gatos; em aviários; em cavalariças), como absorventes de petróleo ou dos seus derivados em derrames, etc (Kugler, 1988; USDA, 1988; Perry *et al.*, 1993; Alexopoulou, 2003).

A maceração do caule de kenaf com o auxílio de enzimas leva à obtenção de fibras da zona cortical do caule, fibras essas que podem ser utilizadas na produção têxtil (Seca, 1999). As partes não aproveitadas pela indústria têxtil e de pasta celulósica (folhas e extremidades não lenhificadas) podem ser utilizadas para forragem, uma vez que estas partes da planta possuem um elevado teor em proteínas bem como um bom espectro de aminoácidos (Seca, 1999; Alexopoulou, 2003).

As plantas verdes, obtidas numa fase inicial do crescimento, também podem ser utilizadas para forragem, uma vez que a cultura, nesta fase, apresenta elevados teores em proteína (Hurse e Bledsoe, 1990; Philips *et al.*, 1990). A digestibilidade do material seco é elevada, o que indica que o seu conteúdo fibroso é reduzido, mesmo em plantas colhidas 70 dias após a sementeira (Wood, 1975). Além disso, quando a colheita é realizada entre 40 a 70 dias após a sementeira, é possível o re-crescimento nas parcelas, sendo possível a obtenção de dois ou mais cortes a partir de uma única sementeira (Wood, 1975). De acordo com estudos realizados em campos experimentais de kenaf utilizados para pasto, a vantagem da utilização desta cultura reside no facto de se conseguir obter um pasto de qualidade até ao final de Novembro, o que significa um decréscimo na suplementação com feno e grão (Hovermale e Louis, 1999).

As fibras do kenaf podem ainda ser utilizadas na indústria como substituto da fibra de vidro e de outras fibras sintéticas. Losure e Hudson (1999) investigaram a possibilidade da utilização

das fibras do caule externo do kenaf, como enchimento em combinação com PVC, de modo a diminuir os custos do produto resultante e sem diminuição significativa das propriedades físicas e mecânicas do compósito. De acordo com Chow *et al.* (1998, 1999), o kenaf pode ser utilizado como enchimento em plásticos para a produção de painéis compósitos termoplásticos. Em Itália, o kenaf (as fibras do caule externo) tem vindo a ser utilizado como matéria-prima alternativa na produção de painéis integrados para isolamento térmico, em substituição de materiais correntemente utilizados, muitos derivados de combustíveis fósseis (por exemplo, a esferovite) (Fernando, 2008). A companhia KEFI ITALIA, localizada perto de Bolonha, produz painéis integrados para isolamento térmico, utilizando apenas a fibra exterior do kenaf, obtida em Itália e na Malásia (Fernando, 2008) (**Figura 1.12**). Estes painéis contêm cerca de 11% (p/p) do material lenhoso da planta (fibra interior), apresentando uma condutividade térmica semelhante à de outros produtos comerciais à base de outras fibras (Lips, 2007).



**Figura 1.12:** Fibra exterior após separação (esquerda) e painéis integrados para isolamento térmico (direita) da KEFI ITALIA (Fonte: Lips, 2007).

Existe ainda outra firma em Itália, localizada perto de Nápoles, a “Agrikenaf Volturno” que produz também painéis integrados para isolamento térmico, nos quais as fibras de kenaf (caule externo) são incorporadas numa matriz de poliéster (Fernando, 2008). De acordo com Ardente *et al.* (2008), a condutividade térmica deste compósito apresenta um valor de 0,038 W/mK. De acordo com Lips (2007), a incorporação de fibras de kenaf em polipropileno, produz um compósito que apresenta propriedades aceitáveis.

O óleo, um sub-produto do kenaf, tem ainda potencial para ser valorizado (Alexopoulou, 2003). A semente apresenta um teor em óleo relativamente elevado (cerca de 20%), com uma composição em ácidos gordos semelhante à do óleo das sementes de algodão (sem gossipol,

um composto com propriedades tóxicas) e teores em fitoesteróis e fosfolípidos, que sugerem a sua utilização para fins alimentares (Mohamed *et al.*, 1995; Webber e Bledsoe, 2002, Alexopoulou, 2003). Este óleo pode ainda ser usado no fabrico de sabões, linóleo, tintas e vernizes e para iluminação (Alexopoulou, 2003). Após a extracção do óleo da semente, obtém-se um bagaço, que contém 35% de proteínas, que pode ser utilizado na alimentação de animais (Browning, 1967).

Outras utilizações têm vindo a ser estudadas para o kenaf:

- O kenaf pode ser utilizado em leitos para animais, sobretudo as fibras do caule interno. De acordo com Lips *et al.* (2009) o material tem uma capacidade de absorção da água que é semelhante à de outros materiais, como a palha.
- O kenaf também tem vindo a ser considerado como uma matéria-prima alternativa na produção de painéis integrados para isolamento acústico. Sellers *et al.* (1995) referenciaram a aplicação da fibra do caule interno para isolamento acústico. Neste momento está a ser efectuado um estudo no LNEC, em colaboração com a FCT/UNL, em que se pretende estudar a potencialidade da utilização do kenaf como factor de sustentabilidade energética e de melhoria do ambiente acústico interior (Fernando, 2008).
- O caule interno do kenaf foi comparado com a sílica gel para determinar a sua adequabilidade enquanto agente secante em embalagens (William *et al.*, 1998). De acordo com este estudo, o caule interno do kenaf poderá ser um biomaterial alternativo à sílica gel.
- O caule interno do kenaf demonstrou bons resultados quando utilizado como substrato para a produção de cogumelos (Sameshima *et al.*, 1999). A produção de cogumelos aumentou 86% quando se misturou caule interno à madeira (na proporção de 80:20, respectivamente), em relação à produção obtida em madeira sem adição de kenaf.
- Inagaki *et al.* (1999) relatam que obtiveram um corante amarelo para seda e algodão, a partir de uma solução de 0,5 a 2% em pigmentos extraída de pétalas secas da flor de kenaf.
- Outros trabalhos têm sido descritos na literatura, nos quais o kenaf é estudado e utilizado como sistema de tratamento. Estes estudos serão abordados com detalhe no capítulo 3.

Esta planta pode também ser valorizada de outras formas, entre as quais se salienta o seu aproveitamento energético (El Bassam, 1998). Com efeito, o kenaf, cultura de elevada produtividade no Sul da Europa, é uma cultura energética potencial, assim como os resíduos obtidos nos diversos processos industriais (El Bassam, 1998). Em termos de aproveitamento energético, o poder calorífico da biomassa vegetal seca é, em média, 15,3 MJ/kg, sendo o caule interno mais energético do que o caule externo (Fernando *et al.*, 2007). Como subproduto das indústrias que utilizam as fibras longas do caule externo, os caules internos são canalizados para a produção de pelets que são depois utilizadas em centrais termoeléctricas (Ardente *et al.*, 2008).

van den Berg (2007) estudou em particular as aplicações termoquímicas do kenaf. Em termos da adequação do material para a conversão térmica, testes preliminares mostraram que o teor em cinzas era de 2% para os caules internos e de 2,4% para a totalidade do caule, valores baixos e apropriados, enquanto que a fusão das cinzas apresentou um IDT (*Initial Deformation Temperature*) acima de 1270°C, valor elevado e considerado vantajoso numa cultura herbácea. Outras culturas como o *Miscanthus* e o *Arundo* têm valores de IDT mais baixos. A baixa densidade das plantas, em particular se considerarmos a utilização da totalidade do caule, afecta não só as operações de combustão, gasificação ou pirólise mas também os procedimentos de alimentação do reactor, que têm de ser mais lentos do que os sistemas que utilizam estilha de madeira. Pode ser necessário um pré-tratamento ao material de modo a aumentar a sua densidade.

De acordo com os estudos de van den Berg (2007), na combustão do kenaf pode ocorrer a emissão de elevados teores de NO<sub>x</sub>, devido à composição química do kenaf, o que pode ser um óbice à sua utilização. Nos testes de gasificação, van den Berg (2007) verificou que o caule interno tem um comportamento semelhante ao do *Miscanthus* e do *Arundo*. Verificou, igualmente, que o gás produzido não tem cloro, o qual poderá ter sido capturado pelo cálcio e/ou magnésio. Por outro lado, os teores em enxofre e amoníaco presentes no gás, podem ser considerados elevados se o gás for directamente utilizado em motores a gás. Nos testes de pirólise, o rendimento de produção de óleo é elevado quando comparado com o que é obtido com o *Miscanthus*, o *Arundo* ou a palha, mas mais baixo do que o rendimento obtido com madeira. Devido à composição do kenaf, a combustão do óleo poderá resultar em emissões de NO<sub>x</sub> elevadas.

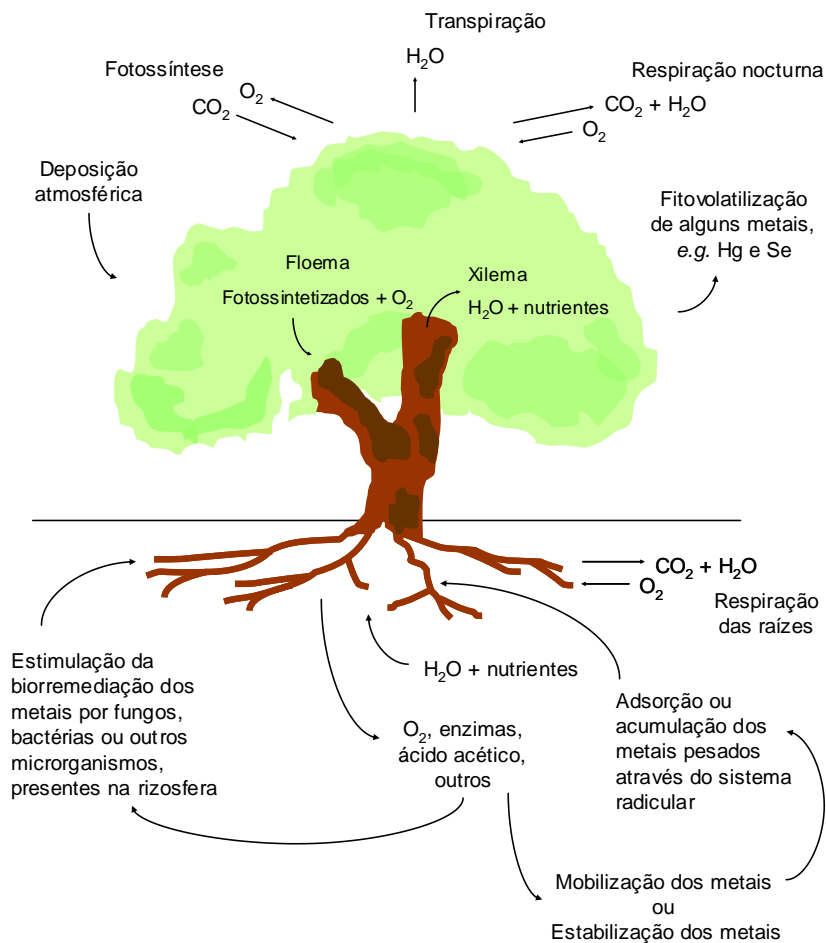
## 2. UTILIZAÇÃO DE CULTURAS ENERGÉTICAS NA REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM METAIS PESADOS

### 2.1. Fitorremediação

A fitorremediação pode ser definida como sendo o uso de vegetação *in situ* para o tratamento de solos contaminados (Schnoor *et al.*, 1995; Cunningham e Ow, 1996; Watanabe, 1997). As plantas podem remediar os solos contaminados com metais pesados através dos seguintes mecanismos: a) adsorção dos metais no sistema radicular, estabilizando/imobilizando os contaminantes (fitoadsorção); b) libertação para o solo de oxigénio, exsudados e enzimas, que podem estimular a remediação, através da estabilização/imobilização dos metais pesados (fitoestabilização); c) estimulação da biorremediação por fungos ou outros microrganismos localizados na interface solo-raíz (rizorremediação); d) absorção e acumulação dos metais pesados nos tecidos das plantas (fitoextração) (Fernando e Oliveira, 2004). A **Figura 3.1** apresenta esquematicamente os mecanismos de fitorremediação de solos contaminados com metais pesados.

#### 2.1.1. Fitoadsorção

Na fitoadsorção, os metais pesados, presentes na solução do solo sob a forma catiónica, são adsorvidos pelas raízes, interagindo com moléculas carregadas negativamente, como por exemplo o ácido poligalacturónico, presentes na estrutura das paredes celulares (Dushenkov *et al.*, 1995). As Antoceratófitas, plantas do grupo das Briófitas, adsorvem elevadas concentrações de metais, imobilizando-os, e diminuindo, portanto, a sua concentração na solução do solo (Schnoor *et al.*, 1995).



**Figura 2.1:** Mecanismos de fitorremediação de solos contaminados com metais pesados. (Fonte: Fernando, 2005).

### 2.1.2. Fitoestabilização

As plantas podem reduzir a carga metálica dos íons presentes na solução do solo, quando podem induzir a conversão dos metais presentes sob a forma solúvel, a espécies menos solúveis, ou que precipitam. A redução do íon  $\text{Cr}^{6+}$ , que representa um risco ambiental, a  $\text{Cr}^{3+}$ , que é pouco solúvel e não apresenta risco evidente para o ambiente, pode ser realizada por plantas, através da libertação de compostos orgânicos pelas raízes para a solução do solo (Mishra *et al.*, 1995). Chaney *et al.* (1997) e Dushenkov *et al.* (1995) verificaram que a libertação de exsudados das raízes de *Agrostis capillaris* e de *Brassica juncea*, pode originar a precipitação de Pb da solução do solo, sob a forma de piromorfite ou de outros fosfatos. O Hg ou o Cd podem ser imobilizados no solo pela adição de selenatos ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) e selenitos ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ). O mecanismo de imobilização dos metais deve-se à libertação de ácidos orgânicos pelas

raízes, o que providencia a formação de um ambiente redutor favorável à formação de Se e Se<sup>2-</sup>, a partir dos selenatos e dos selenitos. Estes reagem com o Hg ou com o Cd, formando complexos (HgSe ou CdSe) muito estáveis e muito pouco solúveis (Shanker *et al.*, 1996). Neste processo, observa-se igualmente uma redução significativa das quantidades de Hg ou de Cd acumuladas pelas plantas.

As substâncias que as plantas libertam para o solo incluem também agentes quelantes e/ou enzimas, que podem complexar os metais, facto que pode contribuir para a redução da sua toxicidade. Os choupos, por exemplo, libertam, através das suas raízes, quantidades apreciáveis de compostos de carbono orgânico dissolvido (açúcares, álcoois, ácidos), que podem complexar os metais pesados, reduzindo a sua biodisponibilidade (Schnoor *et al.*, 1995). No entanto, tanto esta técnica como a Rizorremediação têm uma maior expressão na degradação de compostos orgânicos em solos contaminados.

### **2.1.3. Rizorremediação**

As raízes das plantas, em conjunto com a comunidade microbiana associada, constituem uma hipótese de tratamento potencialmente importante para a biorremediação *in situ* de solos contaminados. Efectivamente, o sistema radicular das plantas constitui um veículo para a colonização efectiva do solo e uma fonte significativa de nutrientes. Contribui assim para que a actividade microbiana da rizosfera seja maior e mais facilmente sustentada do que num solo sem vegetação, possibilitando uma maior eficiência no processo biorremediador (Fernando e Oliveira, 2004).

As plantas podem estimular a biorremediação na rizosfera de diversas formas. As plantas libertam, através das raízes, exsudados, tais como açúcares e aminoácidos. Estes compostos aumentam o carbono orgânico da rizosfera, podendo estimular as transformações microbianas e o crescimento microbiano (Anderson *et al.*, 1993). As plantas, além de fornecerem um meio para o crescimento das populações microbianas, fornecem também oxigénio às raízes, processo esse que favorece as transformações aeróbias próximo das raízes. A presença da vegetação influencia também o fluxo de iões, o potencial redox e a humidade, entre outros parâmetros. Por outro lado, as raízes podem libertar determinados compostos, tais como

agentes quelantes, produtos tensioactivos, ou ácidos, que podem solubilizar os metais adsorvidos no solo, tornando-os mais disponíveis para os microrganismos.

Neste tipo de biorremediação, poderá verificar-se o envolvimento de múltiplas espécies de microrganismos da comunidade, ou seja, estamos face a um consórcio microbiano e não perante a actuação de um único tipo de membro dessa comunidade. A composição da comunidade microbiana da rizosfera depende do tipo de raíz, da espécie da planta e da sua idade, bem como do tipo de solo (Anderson *et al.*, 1993). Depende ainda de outros factores, tais como a exposição histórica das raízes das plantas aos xenobióticos (Anderson *et al.*, 1993).

A comunidade microbiana da rizosfera pode também estar envolvida num processo de protecção da planta face aos compostos químicos poluentes. Por exemplo, a bactéria do solo *Alcaligenes eutrophus* CH34 produz uma substância alcalina que interage com o cádmio, diminuindo a sua biodisponibilidade para a planta e reduzindo, conseqüentemente, os seus efeitos tóxicos (van der Lelie *et al.*, 2000). Vários estudos parecem indicar que os processos de humificação, mediados na rizosfera por via microbiana, podem ter uma influência importante na redução da biodisponibilidade dos metais, através da sua estabilização com a matéria orgânica do solo (Anderson *et al.*, 1993). Por outro lado, os fungos ou as bactérias que colonizam as raízes podem estimular a fitorremediação. Efectivamente, podem libertar para o solo compostos que têm a capacidade de mobilizar os metais pesados, os quais podem ser extraídos pelas plantas a partir da solução do solo (Fernando e Oliveira, 2004).

#### **2.1.4. Fitoextração**

Neste processo, as plantas, tolerantes aos metais pesados, podem reduzir a sua mobilidade nos solos, através da acumulação e armazenamento dos mesmos, nas raízes e na parte aérea (Kumar *et al.*, 1995). Não é, no entanto, uma técnica a utilizar quando a contaminação do solo se traduz na presença de formas sólidas isoladas, tais como concreções, resíduos ou objectos metálicos (Fernando e Oliveira, 2004).

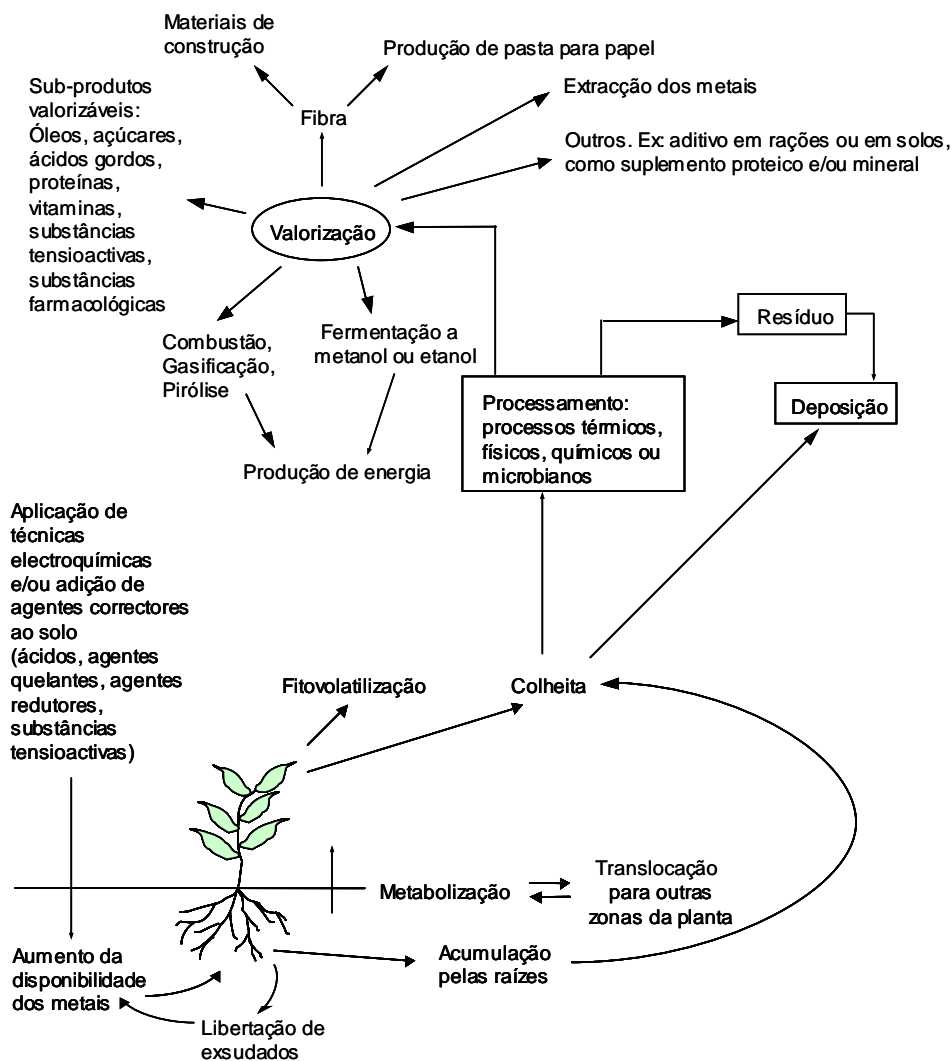
A acumulação de metais pesados pelas plantas só é eficiente se o contaminante for depois removido do sistema, através, por exemplo, da colheita da biomassa, a qual poderá ser

realizada utilizando métodos agrícolas tradicionais. Depois da colheita, a biomassa deverá ser processada, para que deste modo se proceda à extracção e recolha de parte tão elevada quanto possível da contaminação metálica presente. No caso de alguns metais (e.g. Ni, Zn, Cu e Co), o valor do metal extraído pode representar um incentivo adicional à remediação. Alternativamente, o volume ou o peso da biomassa, podem ser reduzidos, recorrendo a processos térmicos, físicos, químicos ou microbianos. Este passo reduzirá quer o manuseamento, quer o processamento, e, subseqüentemente, os custos potenciais da deposição. Pode representar mesmo uma forma de valorização económica.

Nalguns casos, a remoção é espontaneamente realizada, por fitovolatilização dos contaminantes absorvidos pela vegetação. É o caso, por exemplo, do selénio, que se volatiliza a partir de alguns sistemas vegetativos, sob a forma de dimetilselenídeo e de dimetildiselenídeo, através de uma aparente interacção simbiótica, planta-microrganismo (Cunningham e Ow, 1996). Foi também já desenvolvido um método específico para a fitovolatilização do mercúrio o qual envolve a introdução nas plantas do gene bacteriano da reductase do ião mercúrico. A expressão do gene, na *Arabidopsis thaliana* transgénica, traduz-se pela tolerância ao metal e pela volatilização do mercúrio pela planta modificada (Watanabe, 1997). A fitovolatilização, no entanto, não é aplicável à maioria dos iões inorgânicos. Por outro lado, a aplicação desta técnica, apresenta riscos, devendo ser considerada com grande cuidado (Fernando e Oliveira, 2004).

Os principais processos envolvidos na fitoextracção são apresentados na **Figura 3.2**.

Uma série de factores poderá influenciar a absorção dos metais pesados pela planta. São factores que se relacionam com o solo, com as condições climatéricas e com as características específicas da planta em causa (Cunningham e Ow, 1996). A concentração dos metais presentes no solo e a sua especiação, são também factores que podem condicionar a absorção dos metais pela planta (Schnoor *et al.*, 1995).



**Figura 2.2:** Processos envolvidos na fitoextração (Fonte: Fernando, 2005).

De acordo com Watanabe (1997) e Fernando (2005), as plantas fitoextractoras, para serem efectivas na remoção da contaminação, deverão apresentar as seguintes características: a) elevada velocidade de acumulação do contaminante, mesmo em ambientes onde existem concentrações reduzidas desse poluente; b) capacidade de acumulação de elevadas quantidades de metais; c) capacidade de acumulação de diversos metais; d) crescimento rápido; e) produção elevada de biomassa; f) resistência a pragas e doenças; g) capacidade de tolerar concentrações elevadas de metais pesados. As plantas devem também adaptar-se facilmente à grande variedade de condições climáticas e ambientais que se poderão verificar nos solos contaminados. Estudos de Huang *et al.* (1997) indicam que, para reduzir os níveis de metais pesados presentes em solos contaminados, num intervalo aceitável (de 3 a 20 anos),

as plantas deverão ser capazes de acumular, na parte aérea, mais do que 1% do metal a remover e apresentar uma produtividade superior a 20 t.ha<sup>-1</sup>.

De acordo com Kumar *et al.* (1995) e Fernando (2005), a tolerância de algumas plantas a teores elevados em metais pesados poderá ser devida a mecanismos de resistência de vários tipos, nomeadamente, os seguintes:

- A planta poderá ter a capacidade de alterar o ambiente circundante e de reduzir a toxicidade do contaminante.
- A planta pode actuar por exclusão, isto é, pode ter capacidade de reconhecer o ião tóxico, evitando a sua acumulação, e não ser sujeita, por isso, à sua toxicidade.
- A planta pode absorver o ião mas actua de modo a minimizar os seus efeitos. Este processo pode envolver fenómenos de complexação, precipitação, compartimentação (localização nos espaços intercelulares, nos vacúolos ou na parede celular, longe da actividade metabólica no citoplasma), ou até de excreção do contaminante metálico.
- As plantas podem também desenvolver um sistema metabólico que funcione, mesmo quando se registam teores em metais potencialmente tóxicos. A planta pode activar mecanismos metabólicos alternativos menos sensíveis a esses iões metálicos, modificando a estrutura de algumas enzimas, ou alterando a permeabilidade das membranas, por reorganização estrutural ou por mudanças composicionais.

As plantas que toleram concentrações muito elevadas de metais, apresentam, normalmente, mais do que um destes mecanismos. Por exemplo, a resistência ao zinco é um fenómeno múltiplo, que envolve a exclusão do metal pelas paredes celulares das raízes, a sua localização na parede celular e, principalmente, a sua localização nos vacúolos das células, nos quais o ião é complexado pelo malato (Fitter e Hay, 1989). O cádmio, por sua vez, acumula-se, principalmente, nos espaços intercelulares, embora uma pequena percentagem se possa localizar nos vacúolos, onde é complexado pelas fitoquelatinas (Goldsbrough, 2000). Na maioria dos estudos realizados sobre plantas tolerantes a metais pesados, verificou-se que cada metal pesado parece induzir, quase sempre, adaptações específicas (Schat *et al.*, 2000).

As plantas, acumulam os metais pesados através das raízes. Uma vez nas raízes, os iões metálicos podem ser ou armazenados ou exportados para a parte aérea. A acumulação dos metais pelas raízes e a translocação dos metais para a parte aérea da planta são processos

independentes. Na parte aérea, os metais acumulam-se preferencialmente nas folhas (Salt *et al.*, 1995).

Algumas plantas são hiperacumuladoras de metais, ou seja, são capazes de absorver, através das suas raízes, teores muito elevados destes contaminantes (Kumar *et al.*, 1995). De acordo com Watanabe (1997), classificam-se como plantas hiperacumuladoras de metais, as que contêm na matéria seca mais do que 0,01% de Cd, 0,1% de Co, Cu, Cr, Pb, Ni, ou mais do que 1% de Zn e Mn.

As plantas hiperacumuladoras de metais são relativamente raras, existindo em geral em áreas geograficamente remotas ou distribuindo-se em zonas nas quais se localiza uma importante actividade mineira. A maioria das plantas com características hiperacumuladoras de metais é proveniente dos Trópicos, pertencendo, sobretudo, à família das *Euforbiaceae* e de zonas montanhosas, tais como os Alpes e as Montanhas Rochosas, áreas que sobreviveram à Era Glaciar (Gardner, 1998). Nos climas temperados, o maior número de espécies conhecidas deste tipo pertence à família das *Brassicaceae* (Gardner, 1998). No entanto, o seu potencial de exploração, como meio de descontaminação dos solos, é claramente limitado pela baixa produtividade que apresentam. Por exemplo, a *Thlaspi rotundifolium* pode acumular até 8200 ppm de Pb (na matéria seca), mas só se conseguem obter 5 a 50 mg de tecido seco por planta, após cinco meses de crescimento (Cunningham e Ow, 1996).

Por outro lado, as plantas com elevadas produtividades, acumulam, em geral, pequenas quantidades de metais pesados, apenas se estes estiverem disponíveis em concentrações moderadas. Estas características das plantas, assim como a disponibilidade dos metais pesados no solo, influenciam fortemente o tempo necessário para a descontaminação por esta via, que pode variar entre um e centenas de anos, situação essa que poderá comprometer a utilização desta técnica (Fernando, 2005).

### **2.1.5. Vantagens e Limitações da Fitorremediação**

Face às tecnologias físico-químicas, a fitorremediação apresenta como vantagens o seu relativo baixo custo e a possibilidade de se apresentar como uma técnica atractiva em locais onde o volume de solo a descontaminar é muito elevado ou em locais onde a contaminação

com metais pesados está presente em concentrações muito baixas (Fernando, 2005). Para além da possibilidade fitorremediadora, o estabelecimento de um coberto vegetal pode ser vantajoso, na medida em que reduz a dispersão aérea e as escorrências superficiais, reduz o volume de água percolado e, conseqüentemente, a lixiviação dos metais, fornece cobertura para a vida selvagem, introduz melhorias ao nível do impacto visual e pode ainda permitir uma cultura economicamente viável (Fernando, 2005). É também uma técnica facilmente aceite pelas populações. No entanto, se os poluentes metálicos não estiverem ao alcance das raízes, solubilizados na solução do solo ou tornados biodisponíveis, este tratamento não é o mais adequado. É, também, um tratamento mais lento do que o tratamento pelas técnicas físico-químicas tradicionais, devido ao período necessário para o crescimento das espécies fitorremediadoras (3-5 meses). Não é, portanto, a solução apropriada em situações de risco elevado para a Saúde Pública (Fernando, 2005). Em muitos casos, a fitorremediação é considerada como um passo de tratamento final, para encerramento de locais contaminados, após neles terem sido aplicadas outras tecnologias de remediação (Schnoor *et al.*, 1995).

## **2.2. Utilização de Culturas energéticas na remediação da contaminação com metais pesados**

### **2.2.1. Colza**

A colza (*Brassica napus*) é uma planta de origem mediterrânica. Esta planta é explorada para produção de óleo, que pode ser usado na alimentação e como combustível. As sementes são ricas em óleo e a produção deste varia entre as 2,2 e as 2,8 t/h/ano (El Bassam, 1998).

A colza tem-se revelado eficiente na remoção de metais pesados em solos. Ao contrário da maioria das plantas, que armazenam metais nas raízes, a *B. napus* transloca-os para os ramos e folhas. Num estudo realizado por Rossi *et al.* (2002) sobre a absorção de cádmio e zinco, observou-se que ao fim de cinco semanas, estes se encontravam principalmente no caule e nas folhas.

A absorção de cádmio pode ser potenciada com o uso de agentes quelantes como o EDTA. O EDTA não só permite que a produção de biomassa aumente até 28% nas raízes e 38% nos ramos, mas também facilita a translocação do cádmio para a parte aérea da planta (Seth *et al.*,

2008). O facto da acumulação de metais se realizar no caule e folhas, é uma vantagem em termos económicos, pois estes podem ser colhidos para serem tratados, enquanto que os rizomas permanecem no solo, não sendo necessário remover a planta toda.

Devido a uma associação simbiótica com duas estirpes de bactérias, a colza também consegue extrair chumbo presente no solo. As duas estirpes, *P. fluorescens* G10 e *Microbacterium* sp. G16, são endofíticas, vivendo no interior dos rizomas das plantas, ficando assim protegidas do stress ambiental. As bactérias conseguem solubilizar o chumbo e permitem que este seja acumulado pela planta. Esta simbiose permite a sobrevivência da planta e maiores produções de biomassa (Sheng *et al*, 2008).

### 2.2.2. Purgueira

A Purgueira (*Jatropha curcas*) é um arbusto que pode alcançar uma altura de 5 metros. É uma planta perene, resistente a secas e a pestes. Propaga-se vegetativamente e dá semente a partir dos 3 anos de idade, ainda que em quantidade reduzida. Os frutos são venenosos e no seu interior encontram-se as sementes que são compostas por 30% de óleo (Debnath e Verma, 2008). Num ano, um hectare pode produzir entre 5 e 12 toneladas de sementes, dos quais se conseguem extrair 2 a 4 toneladas de óleo (Debnath e Verma, 2008).

O facto de os frutos não poderem ser consumidos por humanos juntamente com a capacidade de crescimento em solos impróprios para o cultivo de alimentos, torna esta planta numa mais-valia para produção de biodiesel.

Para além da possibilidade de ser usada na reclamação dos solos, também pode ser utilizada para a sua recuperação através da remoção de metais pesados. Segundo um estudo realizado por Kumar *et al.* (2008), exemplares de purgueira foram transplantados para solos previamente saturados em chumbo e cádmio, e foi observado o seu crescimento durante um mês e meio. Os resultados obtidos permitiram concluir que a absorção de cádmio é mais rápida que a do chumbo, contudo, o primeiro é mais tóxico, tendo-se registado necrose das folhas.

A purgueira também foi estudada na remoção de crómio de solos contaminados. Neste tipo de solos observou-se que para uma concentração inicial de crómio de  $90 \text{ mg.kg}^{-1}$  não ocorrem alterações significativas da parte aérea e das raízes.

Esta planta apresenta um crescimento lento e só recentemente tem sido estudada para a produção de biodiesel e remediação de solos, pelo que ainda não se encontram dados que permitam caracterizar esta cultura como fitorremediadora. Os poucos dados que existem actualmente indicam que a purgueira não é uma hiperacumuladora de metais, mas que se poderá revelar útil na extracção destes devido à grande quantidade de biomassa que produz.

### 2.2.3. *Miscanthus*

O género *Miscanthus*, pertencente à família das Poáceas (Gramíneas), engloba 15 diferentes espécies, a maioria originária do Leste Asiático (Lewandowsky *et al*, 2000). São plantas perenes, altas e rizomatosas, sendo das poucas culturas com metabolismo em C4 a crescer em climas temperados (Fernando, 2005).

O *Miscanthus* foi introduzido na Europa, a partir do Japão, na década de 1930, como planta ornamental. O híbrido *Miscanthus x giganteus* foi levado para a Dinamarca em 1935 por Aksel Olsen, onde se veio a verificar que tinha excepcionais qualidades a nível do crescimento. Assim sendo, campos extensivos de cultivo vêm sendo realizados no Norte da Europa desde 1983 (Lewandowsky *et al*, 2000).

Podendo atingir os 4 metros de altura e conseguindo subsistir em campos sem haver replantação durante 20 anos, o *Miscanthus x giganteus* é visto como tendo grande potencial para produção de biomassa e posterior combustão para produção de energia (Fernando, 2005). A produção de biomassa pode variar entre 10 a  $30 \text{ t ha}^{-1}$ , com um máximo registado nos campos do Sul da Europa, sendo a maior produção registada no Outono (Lewandowsky *et al*, 2000, Fernando, 2005). Apesar do *Miscanthus* não ser uma planta hiperacumuladora, o seu uso na descontaminação de solos explica-se pela sua elevada produção de biomassa, já que a maioria dos hiperacumuladores produzem pouca biomassa, o que reduz o seu potencial efeito benéfico na remediação de solos.

Na Universidade de Pisa, Itália, estudou-se a influência da disponibilidade de cádmio no crescimento do *M. x giganteus*. Concluiu-se que, apesar de ser sensível ao cádmio (crescimento decresce com o aumento da concentração de Cd), o *Miscanthus x giganteus* seria uma opção credível no tratamento de solos com elevados níveis de Cádmio (Arduini *et al*, 2004). As baixas concentrações, o Cd pode translocar-se dos rizomas para a parte aérea na quase totalidade, mas com concentrações mais elevadas de Cd, ocorre a saturação dos transportadores, havendo hiperacumulação nos rizomas (Arduini *et al*, 2004).

Num estudo efectuado na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, verificou-se que face à contaminação individualizada no solo com Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg e Cr, as plantas de *M. x giganteus* se revelaram mais sensíveis à contaminação com Cd, Cu e Hg, para os níveis ensaiados, tendo-se observado produtividades significativamente mais reduzidas nestes tratamentos do que as obtidas no tratamento testemunha (Fernando, 2005). No entanto, em relação à contaminação com Ni, Pb, Zn e Cr, as plantas de *Miscanthus* mostraram uma elevada tolerância, para os níveis de contaminação estudados (Fernando, 2005). A par deste estudo foram efectuados outros estudos, em campo e em vasos, em que os solos foram contaminados com lamas residuais urbanas contendo quantidades muito elevadas de metais pesados (Fernando, 2005). Dos vários estudos efectuados na FCT/UNL, pode afirmar-se que as plantas de *Miscanthus* são, efectivamente, capazes de acumular e de bioconcentrar na sua biomassa os metais pesados do meio de crescimento, numa perspectiva de eficiência fitoextractora (Fernando, 2005). A maior proporção dessa contaminação, permaneceu nos rizomas e raízes (Fernando, 2005). Este facto torna valorizável a biomassa aérea, quer para produção de energia, quer para produção de pasta para papel ou para outras utilizações.

No Reino Unido em 2004, numa antiga central industrial de carvão, em Bishop Palace, e no âmbito do “CLEMANCE European Regional Development Fund Bioremediation Programme”, quatro culturas energéticas, dentre as quais o *M. x giganteus*, foram plantadas, com o efeito de estudar os possíveis efeitos no crescimento. O solo continha zinco (400-1000 ppm), cobre (100-500 ppm), níquel (100-200 ppm), chumbo (300-2000 ppm) e arsénio (50-200 ppm). Os resultados mostraram que o crescimento do *Miscanthus* não foi afectado, o que abre perspectivas para uma forma ecológica, barata e estética para reaproveitar terrenos contaminados [3].

#### 2.2.4. Girassol

O girassol (*Helianthus annuus*) é uma planta originária do continente americano. Consegue crescer em solos pobres, desde que bem irrigados e as suas raízes podem-se estender até aos 3m de profundidade (El Bassam, 1998). Num ano, a produção de semente varia entre os 900 e os 1757 kg.ha<sup>-1</sup>, embora já se tenham registado produções de 3375 kg.ha<sup>-1</sup>. As sementes são muito ricas em óleo, podendo conter até 50% de óleo, que pode ser usado para alimentação bem como para produção de biodiesel (El Bassam, 1998).

O girassol tem sido estudado para absorção de elementos radioactivos presentes em solos e águas, em especial o iodo radioactivo, o urânio e o rádio. O mecanismo de absorção de iodo radioactivo é igual ao do iodo não radioactivo, pelo que se pode concluir que a planta não faz distinção entre os dois isótopos. A acumulação do isótopo é mais elevada nas folhas e caule, contudo, pode ser encontrado disperso por toda a planta. O girassol é muito eficiente na remoção de iodo radioactivo da água, conseguindo remover até 59% da actividade na água (Vanek *et al.*, 2006). A eficiência na remoção de urânio e rádio é menor, contudo, a absorção pode chegar até aos 24% e 42%, respectivamente (Tomé *et al.*, 2008). Com estes elementos o mecanismo de acumulação é diferente. Verificou-se que praticamente todo o urânio absorvido é retido nas raízes, ao contrário do que se sucede com o rádio, em que 86% é translocado para a parte aérea (Tomé *et al.*, 2008). Estes ensaios foram realizados com culturas hidropónicas, em situações controladas laboratorialmente, pelo que se espera que os rendimentos em solos, sejam menores. Com o girassol criado em culturas hidropónicas observou-se também que esta planta tem a capacidade de precipitar estes elementos (Tomé *et al.*, 2008). O mecanismo de fitoestabilização ainda não está esclarecido mas apresenta-se como um meio promissor para a depuração de águas contaminadas.

#### 2.2.5. Kenaf

Poucos estudos têm sido efectuados com o kenaf em que se tenha testado a sua capacidade fitorremediadora de solos contaminados com metais pesados. No entanto, alguns ensaios têm sido efectuados pelo “Agricultural Research Service”, na Califórnia, em que se pretendeu estudar a capacidade do kenaf para desintoxicar águas com selénio e na recuperação de solos

contaminados com esse mesmo elemento [4]. No solo, e após 6 meses, o kenaf tinha retirado 25% do selénio existente até uma profundidade de 1 metro. Apesar de ser menos tolerante do que culturas como a colza (também fitorremediadora de selénio), o efeito do kenaf faz-se sentir devido à sua rapidez de crescimento e elevada produção de biomassa [4].

O kenaf, no entanto, tem sido testado como sistema de tratamento de outros poluentes. No Japão, experiências foram feitas com o kenaf, onde ficou demonstrada a sua capacidade em fitoabsorver nitratos, melhorando assim a qualidade da água (Ikeda *et al.*, 1999). Outro estudo, efectuado na “U.S. Army Cold Regions Research and Engineering Laboratory”, em 1999, realça a capacidade do kenaf, quando irrigado com águas contaminadas com TNT, em absorver e fitotransformar os resíduos, produzindo compostos de reduzida toxicidade [5].

As propriedades absorventes do kenaf favorecem a biorremediação (Borazjani e Diehl, 1994), nomeadamente em processos de tratamento de águas, como sistema filtrante (Lee e Eiteman, 2001). Estudos apontam o kenaf como bom absorvente de crude de águas contaminadas em caso de derramamentos, tal como outros materiais celulósicos como o algodão (Choi e Cloud, 1992). Borazjani e Diehl (1994) referem que a adição de kenaf (moído e seco) a solos arenosos contaminados com óleo de crude, com ou sem adição de microrganismos, poderia melhorar o processo de biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo totais. Noutro campo experimental, foi concebido e demonstrado um sistema de tratamento em que a estilha do caule de kenaf é utilizada como meio de suporte num bioreactor (Burcham *et al.*, 1999). Esse estudo conclui que o kenaf poderá ser utilizado como meio para a redução de odores.

### **3. DESCRIÇÃO DAS METODOLOGIAS, DOS MATERIAIS E DOS ENSAIOS**

Como referido anteriormente, o presente trabalho teve como principal objectivo a avaliação do comportamento de diversas variedades de *Hibiscus cannabinus* L. na fitorremediação de solos contaminados com metais pesados.

O ponto 4.1. descreve as metodologias e materiais utilizados no decurso de todo o trabalho experimental e o ponto 4.2. os ensaios de fitotoxicidade realizados. Todas as análises descritas foram realizadas pela própria no Laboratório de Análises Físico-Químicas Professor Doutor J.F. Santos Oliveira e no Laboratório 375, do Grupo de Disciplinas de Ecologia da Hidrosfera, sitos no Edifício Departamental da FCT/UNL.

#### **3.1. Metodologias e Materiais**

##### **3.1.1. Metodologias Analíticas Aplicadas aos Solos**

O solo utilizado nos ensaios de fitotoxicidade corresponde a um substrato vegetal de compra, SIRO-Plant, o qual é obtido a partir de composto vegetal “esterilizado por método térmico natural e controlado (sem químicos), enriquecido com macro e microelementos de origem mineral“(Leal & Soares, SA).

As amostras de solo analisadas foram retiradas directamente das diversas embalagens utilizadas (cerca de 100g por embalagem). Estas foram secas em estufa, a uma temperatura entre 25-30°C, sendo depois submetidas a destorroamento e crivagem, recorrendo a um crivo de malha de 2 mm, tal como indicado por Dyckhoff *et al.* (1996), Baize (2000) e Fernando *et al.* (2001). No entanto, as determinações do pH, da condutividade, e do teor em humidade, foram realizadas nas amostras húmidas, tal como é indicado em Domingues (1999). As amostras húmidas foram imediatamente analisadas, sendo as amostras secas misturadas, homogeneizadas e armazenadas em frascos de vidro e colocadas num local seco e fresco até serem analisadas (Dyckhoff *et al.*, 1996). O teor em humidade foi calculado e tomado em consideração nas determinações e cálculos que, posteriormente, foram realizados naqueles solos.

No **Quadro 3.1** são indicadas as diversas metodologias utilizadas para a caracterização físico-química do solo utilizado nos ensaios.

**Quadro 3.1:** Metodologias utilizadas na caracterização físico-química dos solos.

<b>Parâmetro</b>	<b>Método analítico</b>
Humidade	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 horas, com repetição até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (NP 84, 1965).
pH (H <sub>2</sub> O) pH (KCl)	Determinação efectuada por potenciometria com eléctrodo de vidro, numa suspensão de terra em água destilada ou em KCl 1N na razão 1:2,5 (Baize, 2000).
Condutividade	Determinação efectuada com um condutivímetro, numa suspensão de terra em água destilada, na razão 1:2,5 (Baize, 2000).
Matéria orgânica	Diferença de peso entre a amostra seca a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ e incinerada a $500 \pm 25^\circ\text{C}$ (5h), em relação à amostra seca (Haigh e Dyckhoff, 1996; Watts e Halliwell, 1996).
Azoto Kjeldahl	Método de Kjeldahl, através da 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 (Haigh e Dyckhoff, 1996; Watts e Halliwell, 1996; Baize, 2000).
Nitritos, Nitratos	Extracção com KCl 1N na razão L/S igual a 2,5 (Haigh e Dyckhoff, 1996). Redução dos nitratos a nitritos por contacto do extracto filtrado com pó de zinco (Palintest Ltd). Os nitritos são determinados por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado vermelho-púrpura, pela combinação do ácido sulfanílico diazotado com NED (Jenkins <i>et al.</i> , 1996).
Azoto amoniacal	Extracção com KCl 1N na razão L/S igual a 2,5. Destilação do extracto e sua titulação com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,02N (Haigh e Dyckhoff, 1996).
Fósforo total	Digestão a quente com HNO <sub>3</sub> e H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Watts e Halliwell, 1996). Determinação dos fosfatos no digerido por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , tartarato de potássio e antimónio e ácido ascórbico (Watanable e Olsen, 1965).
Fosfatos extractáveis	Extracção com NaHCO <sub>3</sub> 0,5M, na razão L/S igual a 200 (Olsen <i>et al.</i> , 1954). Determinação dos fosfatos no filtrado como descrito para o fósforo total.
Potássio extractável	Extracção com NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 1 M, na razão L/S igual a 2,5. Determinação do potássio no filtrado por espectrofotometria de absorção atómica (Watts e Halliwell, 1996).
Cd, Ni, Mn, Hg, Cu, Zn, Cr, Fe, Pb, Na, K, Mg, Ca, Al, As	Digestão com água régia (Norma ISO 11466: 1995). Determinação dos metais no digerido por espectrofotometria de absorção atómica.

A determinação da humidade permite que os resultados obtidos possam ser expressos em termos de matéria seca (ms). A matéria seca, expressa em percentagem, representa a diferença entre o teor de humidade (%) e 100.

O carbono orgânico foi calculado a partir da razão Matéria Orgânica/1,724, tal como é indicado por Costa (1999) e Baize (2000). Este factor foi estabelecido admitindo que a matéria orgânica tem 58% de carbono<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Trata-se de uma hipótese que não foi verificada para o substrato utilizado, mas que é usualmente admitida.

O azoto Kjeldahl, muitas vezes designado por azoto total, corresponde à soma do azoto orgânico com o azoto amoniacal. Este método não detecta o azoto sob a forma de nitritos e nitratos. Estes últimos podem ser libertados para a atmosfera durante o processo de digestão, pela formação de óxidos de azoto e ácido nítrico gasoso (Haigh e Dyckhoff, 1996).

Para a mineralização e extracção dos elementos minerais, podem ser utilizados diversos métodos. O método de mineralização que permite a obtenção de resultados mais correctos consiste num ataque com ácido fluorídrico associado ao ácido perclórico e nítrico. Através deste processo, o solo é totalmente mineralizado incluindo os metais e o fósforo ligados à fracção silicatada (Vandecasteele e Block, 1993; Haigh e Dyckhoff, 1996; Baize, 2000).

Contudo, optou-se pela digestão com água régia na determinação de metais no solo e digestão com ácido sulfúrico e ácido nítrico concentrados para a determinação do fósforo, uma vez que a manipulação do ácido fluorídrico requer material e cuidados específicos, não dispondo o laboratório do GDEH/UBIA das condições de segurança necessárias ao seu manuseamento. Deste modo, na determinação dos metais e do fósforo total, apenas foram contabilizados os elementos que não estavam contidos na fracção silicatada.

No caso da determinação dos metais, incluindo o mercúrio, a digestão pela água régia apresenta, inclusive, vantagens, por ser o método referenciado pela portaria 177/96, utilizado pela maioria dos países da União Europeia, o qual descreve as regras na análise de solos receptores de lamas. Além disso, constitui um processo analítico rápido.

No entanto, e de acordo com Haigh e Dyckhoff (1996) e Baize (2000), nesta metodologia o mercúrio pode facilmente volatilizar-se à temperatura de refluxo (150°C), podendo verificarem-se perdas para a atmosfera. Poder-se-ão, portanto, obter resultados por defeito, em relação a este metal.

As análises de Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu, Al, Fe, Mn, Pb, Cr, Ni, Cd foram efectuadas nos extractos obtidos, por espectrofotometria de absorção atómica (Espectrofotómetro de Absorção Atómica Unicam Solaar 939), com chamas de acetileno/ar ou acetileno/protóxido de azoto. Em algumas amostras, a análise do Ni, Cd, Cr e Pb foi efectuada por atomização electrotérmica (Forno de Grafite Unicam GS 90 e Amostrador Automático FS90). O As foi determinado por espectrofotometria de absorção atómica, com chama de acetileno/ar, após

geração de hidretos (Sistema de Vapor Unicam VP90). Antes da análise do As, o As (V) dos extractos foi reduzido a As (III) com iodeto de sódio ou de potássio, em ácido clorídrico (APHA *et al.*, 1985). Na determinação do mercúrio, o ião  $Hg^{2+}$  dos extractos foi reduzido a mercúrio metálico, por uma solução de  $SnCl_2$ . O Hg, sob a forma de vapor monoatômico, é depois arrastado por uma corrente de gás, à temperatura ambiente (Sistema de Vapor Unicam VP 90), sendo depois determinado por espectrofotometria de absorção atômica, sem chama. No Anexo I apresentam-se os limites de sensibilidade do equipamento, para cada elemento e para cada técnica. A calibração efectuada aquando da medição dos metais, foi realizada recorrendo a soluções padrão monoelementares, preparadas com os reagentes utilizados nas extracções. Estas soluções padrão foram preparadas a partir de soluções de 1000 mg/L, certificadas. Em todas as metodologias que envolveram a determinação de metais, foi utilizada água desionizada, sendo todo o material previamente lavado com uma solução de ácido nítrico 2M (em contacto durante 24h) e com água desionizada.

Nas metodologias referidas em 4.1.2.-4.1.4. os metais foram igualmente analisados por espectrofotometria de absorção atômica, tal como descrito neste capítulo, tendo-se adoptado os mesmos critérios na calibração. Em todas as metodologias (4.1.1.-4.1.4.), os reagentes químicos usados tinham grau de pureza analítico.

### 3.1.2. Metodologias Analíticas Aplicadas aos Adubos

Na realização dos ensaios de fitotoxicidade foram utilizados adubos, pelo que se procedeu à sua caracterização química. As análises químicas efectuadas são descritas no quadro seguinte (**Quadro 3.2**):

**Quadro 3.2:** Análises químicas efectuadas aos adubos utilizados nos ensaios de Fitotoxicidade

<b>Adubo</b>	<b>Análises Químicas</b>
Superfosfato de cálcio 18%	Humidade, azoto total, Na, K, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Sn, Al, As, Hg e Pb
Sulfato de potássio	Humidade, azoto total, fósforo, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Sn, As, Hg e Pb
Nitrolusal 26	Humidade, fósforo, Na, K, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Sn, Al, As, Hg e Pb

Para a realização das análises químicas descritas no quadro anterior, foi retirada uma amostra representativa de cada saco de adubo. Para tal foi utilizado material de plástico de modo a

minimizar as contaminações metálicas e não alterar as características dos adubos. Estas amostras foram guardadas em material de vidro e armazenadas em local seco até à sua análise (Dyckhoff *et al*, 1996).

O teor de humidade dos adubos foi determinado, tendo sido tomado em consideração nos cálculos que, posteriormente, foram realizados. A determinação da humidade permitiu exprimir todas as concentrações em relação à matéria seca (ms). Os métodos analíticos utilizados na caracterização química dos adubos estão descritos no **Quadro 3.3**.

**Quadro 3.3:** Metodologias analíticas utilizadas para a caracterização química dos adubos.

Parâmetro	Método analítico
Humidade	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 5 horas, com repetição até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (Norma Portuguesa NP EN 12048:1998).
Azoto total	Redução do azoto nítrico a amoniacal pelo pó de crómio, em meio ácido. Transformação do azoto orgânico e ureico em sulfato de amónio, por mineralização com $\text{H}_2\text{SO}_4$ concentrado, em presença de catalizador. Destilação e titulação do destilado com $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,02N (Norma Portuguesa NP 3646, 1987).
Fósforo	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e $\text{H}_2\text{SO}_4$ (Norma Portuguesa NP 3389, 1986). Determinação dos fosfatos no extracto filtrado, por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanable e Olsen, 1965).
Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Sn, Al, As, Pb, Hg	Digestão a quente com HCl (Norma ISO NP 3046: 1990). Determinação dos metais nos extractos por espectrofotometria de absorção atómica.

### 3.1.3. Metodologias Analíticas Aplicadas à Água Utilizada na Irrigação

A recolha das águas de irrigação dos ensaios de fitotoxicidade, para efeitos de análise, foi efectuada quinzenalmente, desde o início dos ensaios até ao final de Outubro, período durante o qual os vasos foram irrigados. Estas amostras foram recolhidas em frascos de plástico de 100ml. As amostras foram depois filtradas por filtro de membrana, com uma porosidade de  $0,45\mu\text{m}$ . Quando as análises não podiam ser imediatamente realizadas nas amostras filtradas, estas eram conservadas de acordo com a norma ISO 5667-3 (1985), tal como referido no caso das águas de lixiviação.

As análises químicas realizadas foram as mesmas para todas as amostras recolhidas. Estas consistem na análise dos metais Cd, Ni, Mn, Hg, Cu, Zn, Cr, Fe, Pb, Na, K, Mg e Ca. Os

métodos analíticos utilizados na caracterização química das amostras de água são apresentados no **Quadro 3.4**.

**Quadro 3.4:** Métodos analíticos utilizados na caracterização química das águas de irrigação.

Parâmetros	Métodos analíticos
Cd, Ni, Mn, Cu, Zn, Cr, Fe, Pb, Na, K, Mg, Ca	Determinação dos metais por espectrofotometria de absorção atômica. Ca e Mg de acordo com a ISO 7980 (1986). Na e K de acordo com a ISO 9964 (1993). Ni, Cu, Zn, Pb de acordo com a norma ISO 8288 (1986), quando foi utilizada chama. Ni e Pb por atomização eletrotérmica, Fe e Mn com chama, de acordo com os “Standard Methods” da APHA <i>et al.</i> (1985). Cd pela norma ISO 5961 (1994). Cr pela norma ISO 9174 (1990).
Hg	Digestão da amostra com permanganato de potássio e persulfato de potássio, a quente, de modo a converter todas as formas de mercúrio presente a Hg <sup>2+</sup> . Redução do excesso de oxidante com cloreto de hidroxilamônio. Determinação do Hg, nos extractos, por espectrofotometria de absorção atômica (ISO 5666-1, 1983).

### 3.1.4. Metodologias analíticas aplicadas às plantas

Nos ensaios de fitotoxicidade determinaram-se às plantas parâmetros biométricos, a sua produtividade e analisou-se a composição química da biomassa.

Como parâmetros biométricos foram analisados a altura e diâmetro na base dos caules das plantas, a área foliar e a taxa de germinação. A taxa de germinação foi determinada no fim das duas primeiras semanas de ensaio, enquanto as análises à altura, diâmetro e área foliar foram apenas realizadas após a colheita das plantas (início de Dezembro). A área foliar foi determinada num medidor de área foliar Li-3100C Area meter da LI-COR Biosciences. A taxa de germinação foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de germinação} = (\text{n.º de sementes germinadas})/(\text{n.º de sementes semeadas})$$

A determinação da produtividade foi realizada no final do ensaio experimental através da pesagem tanto da parte aérea como das raízes das plantas. A parte aérea foi subdividida em folhas, caule exterior e caule interior.

Após a colheita das plantas e análise dos parâmetros biométricos, a terra foi removida das raízes com a ajuda de um pincel e todas as amostras foram cortadas em pequenos pedaços para que o seu manuseamento se tornasse mais facilitado. Após este procedimento preliminar de preparação das amostras, estas foram pesadas para a obtenção das massas frescas correspondentes e posteriormente secas a 40°C durante 48h, numa estufa de vácuo. Procedeu-

se novamente à pesagem das amostras para obtenção da massa seca (Dyckhoff *et al.*, 1996). Após esta última pesagem, as amostras foram moídas, crivadas por um filtro de malha de 1mm, com vista à sua homogeneização e guardadas em sacos de plástico devidamente etiquetados, os quais foram armazenados num local seco e fresco até o seu conteúdo ser analisado (Adrian *et al.*, 2000).

Os parâmetros físico-químicos foram analisados com base nos métodos analíticos descritos no quadro seguinte (**Quadro 3.5**):

Na determinação dos metais, a dissolução das cinzas foi efectuada com ácido nítrico. Este ácido possibilita o ataque oxidativo a metais que não se dissolvem em HCl ou noutros ácidos não-oxidantes (Vandecasteele e Block, 1993). O Hg também foi determinado nas amostras mineralizadas por via seca. No entanto, este procedimento poderá ter conduzido a perdas por volatilização deste elemento (Vandecasteele e Block, 1993). Por este motivo, nos vasos onde foi testada a contaminação com Hg e nos vasos testemunhas, as diversas fracções das plantas foram analisadas por outra metodologia: mineralização das amostras em microondas, com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio (Vandecasteele e Block, 1993). Foi utilizado neste procedimento o sistema Ethos 1600 Advanced Microwave Labstation, da Milestone, Microwave Laboratory Systems.

**Quadro 3.5:** Metodologias analíticas utilizadas para a caracterização físico-química das plantas.

Parâmetro	Método analítico
Humidade	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 horas, com repetição até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (AOAC, 1990).
Cinzas	Resíduo mineral obtido após incineração a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 3 horas (AOAC, 1990).
Azoto total	Método de Kjeldahl, através da mineralização com $\text{H}_2\text{SO}_4$ , destilação e titulação do destilado com $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,02N (Watts e Halliwell, 1996).
Fósforo	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e $\text{H}_2\text{SO}_4$ (Watts e Halliwell, 1996). Determinação dos fosfatos no digerido por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanable e Olsen, 1965).
Cd, Ni, Mn, Hg, Cu, Zn, Cr, Fe, Pb, Na, K, Mg, Ca	Mineralização das amostras por via seca através da incineração em mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ e dissolução das cinzas com $\text{HNO}_3$ (Vandecasteele e Block, 1993). Determinação dos metais nos extractos por espectrofotometria de absorção atómica.
Fibra	Método de Van Soest: ataque com detergente neutro durante 1h a $100^\circ\text{C}$ , secagem da amostra na estufa a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ e pesagem, incineração em mufla a $500 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 3 horas, pesagem (Van Soest e Wine, 1967).
Poder Calorífico	Medição do calor produzido na combustão total das amostras através de um calorímetro adiabático (Adrian <i>et al.</i> , 2000).

A determinação do poder calorífico das amostras foi efectuada num calorímetro adiabático (Parr 1241, com bomba de oxigénio).

O teor de humidade foi calculado, tendo sido tomado em consideração nas determinações e cálculos que, posteriormente, foram realizados.

### **3.2. Ensaio de Fitotoxicidade**

Nestes ensaios pretendeu estudar-se o desenvolvimento da planta face à contaminação individualizada do solo, induzida por alguns metais pesados, nomeadamente o zinco, o cobre, o crómio, o cádmio e o mercúrio. Estes metais apresentam elevada mobilidade e biodisponibilidade e são referenciados na Portaria 176/96, respeitante aos valores limite de concentração dos metais pesados nos solos destinados à agricultura, receptores de lamas. Face à contaminação individualizada do solo, foram estudadas seis diferentes variedades de kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), sendo estas a Tainung 2, a Everglades 41, a Gregg, a G4, a Dowling e a SF 459.

As sementes foram fornecidas pelo CRES (Center for Renewable Energy Sources, Píkermi, Grécia).

Os ensaios de fitotoxicidade, foram realizados em vasos com um diâmetro de 13,3 cm e uma altura de 13,9 cm, o que corresponde a um volume aproximado de 2L. Cada vaso foi preenchido com aproximadamente 0,5kg de um substrato vegetal fertilizado da marca SIRO-Plant e adubados com nitrolusal (15g N/m<sup>2</sup>), superfosfato de cálcio (6g P/m<sup>2</sup>) e sulfato de potássio (6g K/m<sup>2</sup>). Em cada vaso foram semeadas cinco sementes de kenaf de modo equidistante.

A escolha dos níveis de fertilização azotada aplicados, assim como os níveis de fósforo e potássio, foi baseada nos valores que tinham sido aplicados nos campos experimentais na FCT/UNL, no âmbito do projecto BioKenaf. A razão desta escolha resultou do conhecimento já obtido, onde se verificou que estes níveis permitiam a obtenção de elevadas produtividades

(El Bassam, 1998, Fernando *et. al.*, 2004, 2005 e 2006). Foram utilizados os seguintes adubos comercializados pela empresa ADP – Adubos de Portugal S.A.:

- P – Superfosfato de cálcio 18%, contendo 18,0% de fósforo ( $P_2O_5$ ), 29,0% de cálcio (CaO) e 30,0% de enxofre ( $SO_3$ );
- K – Sulfato de potássio, contendo 50,0% de potássio ( $K_2O$ ), 45% de enxofre ( $SO_3$ ) e um máximo de cloro de 3% (Cl);
- N – Nitrolusal 26, uma mistura homogênea de nitrato de amónio e de carbonato de cálcio, contendo 26,0% de azoto (N) e 12,8% de cálcio (CaO).

A sementeira foi realizada no fim de Julho de 2004. Os solos foram contaminados 10 dias após cada sementeira. Os ensaios foram finalizados no início de Dezembro do mesmo ano, quando as plantas foram colhidas e analisadas, quer à parte aérea quer às raízes.

A contaminação dos solos com metais pesados foi feita através da adição ao solo de soluções salinas, com o objectivo de estudar o efeito individual de cada metal pesado nas diversas variedades. Como termo de comparação, foram utilizados vasos sem qualquer tipo de contaminação, para cada variedade, apenas com adubação NKP, denominados testemunhas. Todos os ensaios foram realizados em triplicado.

No **Quadro 3.6** estão indicados os metais em estudo, bem como os níveis de contaminação testados e as soluções salinas respectivamente aplicadas. Na preparação destas soluções, foram utilizados reagentes com um grau de pureza analítico.

**Quadro 3.6:** Níveis de contaminação, soluções salinas e respectivos volumes utilizados para cada metal em estudo.

<b>Metal</b>	<b>Nível de contaminação (mg/g solo)</b>	<b>Solução salina</b>	<b>Volume utilizado (ml)</b>
Zinco	0,6	$ZnCl_2 - 1000 \text{ mg Zn l}^{-1}$	300
Cobre	0,15	$CuCl_2 \cdot 2H_2O - 1000 \text{ mg Cu l}^{-1}$	75
Crómio	0,008	$K_2Cr_2O_7 - 100 \text{ mg Cr l}^{-1}$	40
Cádmio	0,003	$CdCl_2 - 100 \text{ mg Cd l}^{-1}$	15
Mercúrio	0,01	$HgCl_2 - 100 \text{ mg Hg l}^{-1}$	50

Os níveis de contaminação do solo, para cada metal em estudo, foram escolhidos tendo como base os valores da legislação canadiana referentes aos valores mínimos a partir dos quais se justifica a intervenção em solos contaminados que se destinam à prática agrícola (MEE, 1997).

Os ensaios decorreram na varanda do 1º piso do Edifício Departamental, no *Campus* da FCT/UNL (**Figura 3.1**). Ao longo do ensaio, os vasos foram regados com água da rede, de modo a compensar o défice de água no solo e para prevenir o estabelecimento de uma situação de tensão hídrica. Em cada irrigação foram recolhidas as águas percoladas, que foram reutilizadas na rega seguinte.

Ao longo dos ensaios, a água utilizada na irrigação foi caracterizada quimicamente. Esta caracterização permitiu quantificar alguns dos metais introduzidos no solo, através da irrigação, nomeadamente Cd, Ni, Mn, Cu, Zn, Cr, Fe, Pb, Na, K, Mg, Ca e Hg.



**Figura 3.1:** Montagem dos ensaios de fitotoxicidade na varanda do 1º piso do Edifício Departamental, no *Campus* da FCT/UNL.

As metodologias utilizadas na caracterização química da água de irrigação, encontram-se identificadas em 3.1.3.

Os adubos foram, também, caracterizados quimicamente. Pretendeu-se com esta caracterização quantificar não só os nutrientes (NPK) introduzidos nos vasos pela aplicação dos fertilizantes, como também determinar os teores nalguns outros metais (Na, K, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Hg, Sn, Al, As e Pb). As metodologias utilizadas na caracterização química dos adubos encontram-se descritas em 3.2.1.

O delineamento estatístico do ensaio foi o de blocos casualizados com seis modalidades de contaminação (testemunha, Zn, Cu, Cr, Cd e Hg), seis variedades (Tainung 2, Everglades 51, Gregg, G4, Dowling e SF459) e com três repetições, perfazendo um total de 108 vasos, tendo sido semeados, em cada vaso, 5 sementes.

No final do período vegetativo (Dezembro), as plantas foram colhidas e separadas em diferentes fracções: caule exterior, caule interior, folhas e raízes. Determinaram-se alguns parâmetros biométricos, a produtividade das diversas fracções da planta e realizaram-se análises à sua biomassa tal como o descrito em **3.1.4**.

A interpretação estatística dos resultados, em termos de significância das variações obtidas foi efectuada recorrendo à Análise de variância – ANOVA e ao t-Test, utilizando o programa Microsoft Office Excel 2003.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Caracterização Química do Substrato Vegetal Siro-Plant

Antes da montagem dos Ensaio de Fitotoxicidade, foi realizada uma caracterização físico-química prévia ao substrato vegetal utilizado nos vasos como suporte de crescimento para as plantas (**Quadro 4.1**). A caracterização prévia deste substrato permitiu a quantificação dos nutrientes e de alguns metais presentes, possibilitando, assim, a escolha dos níveis de contaminação que foram ensaiados.

**Quadro 4.1:** Caracterização físico-química do substrato vegetal Siro-Plant

Humidade (%)	61 ± 1		
pH (H <sub>2</sub> O)	7,20 ± 0,04		
pH (KCl)	6,02 ± 0,01		
Condutividade (µS.cm <sup>-1</sup> )	181 ± 7		
Matéria Orgânica (% ms)	86 ± 1		
Carbono Orgânico (% em C, ms)	50 ± 1		
Azoto Kjeldahl (% em N, ms)	1,08 ± 0,04		
Nitratos (mg.kg <sup>-1</sup> em N, ms)	22,6 ± 0,3		
Nitritos (mg.kg <sup>-1</sup> em N, ms)	0,21 ± 0,06		
Azoto amoniacal (mg.kg <sup>-1</sup> em N, ms)	6,8 ± 0,0		
Fósforo total (% em P, ms)	0,31 ± 0,02		
Fosfatos extractáveis (mg.kg <sup>-1</sup> em P, ms)	0,077 ± 0,002		
<b>Metais (extractos obtidos por mineralização com Água Régia)</b>			
Na (g.kg <sup>-1</sup> ms)	0,363 ± 0,003	As (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	< LD
K (g.kg <sup>-1</sup> ms)	3,7 ± 0,2	Cd (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	< LD
K extractável (g.kg <sup>-1</sup> ms)	3,2 ± 0,1	Cu (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	8,5 ± 0,1
Ca (g.kg <sup>-1</sup> ms)	9 ± 1	Ni (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	< LD
Mg (g.kg <sup>-1</sup> ms)	1,4 ± 0,2	Pb (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	< LD
Fe (g.kg <sup>-1</sup> ms)	2,4 ± 0,3	Zn (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	41 ± 1
Al (g.kg <sup>-1</sup> ms)	2,7 ± 0,1	Hg (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	< LD
Mn (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	74 ± 3	Cr (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	1,9 ± 0,5

LD – limite de detecção

Tendo em consideração os valores dos parâmetros analíticos do **Quadro 4.1**, pode concluir-se que o substrato vegetal utilizado apresentava um pH neutro e teores muito elevados em matéria orgânica (Santos, 1983; Baize, 2000), sendo portanto um substrato muito fértil. De

acordo com Baize (2000), verificou-se que o substrato pode ser classificado como sendo não salino, uma vez que apresenta valores de condutividade inferiores a  $2,5 \text{ mS.cm}^{-1}$ .

## 4.2. Caracterização Química dos Adubos

Os adubos utilizados nos Ensaio foram também caracterizados quimicamente. Tal como foi referido no **Capítulo 4**, pretendeu-se através desta caracterização, quantificar não só os nutrientes (NPK) introduzidos no solo pela aplicação dos fertilizantes, como também determinar os teores nalguns outros metais presentes.

Os resultados obtidos na caracterização química dos adubos são apresentados no **Quadro 4.2**.

**Quadro 4.2:** Caracterização química dos adubos utilizados nos Ensaio (resultados expressos em ms).

	Superfosfato de cálcio	Sulfato de potássio	Nitrolusal 26
N	0,089 %	$2,96 \text{ mg.kg}^{-1}$	<b>26,0 %*</b>
P	<b>7,86 %*</b>	$1,78 \text{ mg.kg}^{-1}$	$12 \text{ mg.kg}^{-1}$
K	0,33 %	<b>41,5 %*</b>	$6,4 \text{ mg.kg}^{-1}$
Na	0,59 %	1,13 %	$2,9 \text{ mg.kg}^{-1}$
Ca	<b>20,7 %*</b>	$890 \text{ mg.kg}^{-1}$	<b>9,14 %*</b>
Mg	0,27 %	$841 \text{ mg.kg}^{-1}$	0,089 %
Fe	0,13 %	$184 \text{ mg.kg}^{-1}$	$68 \text{ mg.kg}^{-1}$
Mn	$8,2 \text{ mg.kg}^{-1}$	$1,35 \text{ mg.kg}^{-1}$	$21 \text{ mg.kg}^{-1}$
Al	0,14 %	**	$8,9 \text{ mg.kg}^{-1}$
Zn	0,028 %	$0,85 \text{ mg.kg}^{-1}$	$1,3 \text{ mg.kg}^{-1}$
Cu	$20 \text{ mg.kg}^{-1}$	$4,1 \text{ mg.kg}^{-1}$	$0,60 \text{ mg.kg}^{-1}$
Ni	$13 \text{ mg.kg}^{-1}$	$1,4 \text{ mg.kg}^{-1}$	<LD
Cd	$5,2 \text{ mg.kg}^{-1}$	<LD	<LD
Cr	$96 \text{ mg.kg}^{-1}$	$8,1 \text{ mg.kg}^{-1}$	$2,0 \text{ mg.kg}^{-1}$
Pb	$12 \text{ mg.kg}^{-1}$	<LD	<LD
Hg	$0,15 \text{ mg.kg}^{-1}$	<LD	<LD
Sn	<LD	<LD	<LD

\* - valor rotulado; \*\* - elemento não determinado; LD – limite de detecção

## 4.3. Caracterização Química das águas de Irrigação

Os resultados obtidos são apresentados no **Quadro 4.3**.

**Quadro 4.3:** Caracterização físico-química das águas de irrigação utilizadas nos Ensaio de Fitotoxicidade.

Parâmetros	Valor Médio
pH	7,5 ± 0,2
Condutividade (mS.cm <sup>-1</sup> )	0,50 ± 0,05
Oxidabilidade (mg.L <sup>-1</sup> O <sub>2</sub> )	0,65 ± 0,05
Azoto amoniacal (mg.L <sup>-1</sup> N)	< LD
Azoto Kjeldahl (mg.L <sup>-1</sup> N)	0,5 ± 0,2
Nitratos (mg.L <sup>-1</sup> N)	8 ± 1
Nitritos (mg.L <sup>-1</sup> N)	< LD
Fosfatos (mg.L <sup>-1</sup> P)	0,06 ± 0,01
Fósforo total (mg.L <sup>-1</sup> P)	0,07 ± 0,01
Na (mg.L <sup>-1</sup> )	30 ± 6
K (mg.L <sup>-1</sup> )	4,4 ± 0,9
Ca (mg.L <sup>-1</sup> )	7,8 ± 0,8
Mg (mg.L <sup>-1</sup> )	6,9 ± 0,9
Fe (mg.L <sup>-1</sup> )	0,013 ± 0,002
Mn (mg.L <sup>-1</sup> )	0,009 ± 0,001
Zn (mg.L <sup>-1</sup> )	0,34 ± 0,02
Cu (mg.L <sup>-1</sup> )	0,35 ± 0,08
Ni (mg.L <sup>-1</sup> )	< LD
Pb (mg.L <sup>-1</sup> )	< LD
Cd (mg.L <sup>-1</sup> )	< LD
Cr (mg.L <sup>-1</sup> )	< LD
Hg (mg.L <sup>-1</sup> )	< LD

LD – limite de detecção

Os valores apresentados mostram que as águas de irrigação utilizadas nos ensaios de fitotoxicidade, obedecem, em relação aos parâmetros analisados, aos critérios de qualidade das águas destinadas à rega (Anexo XVI do DL 236/98).

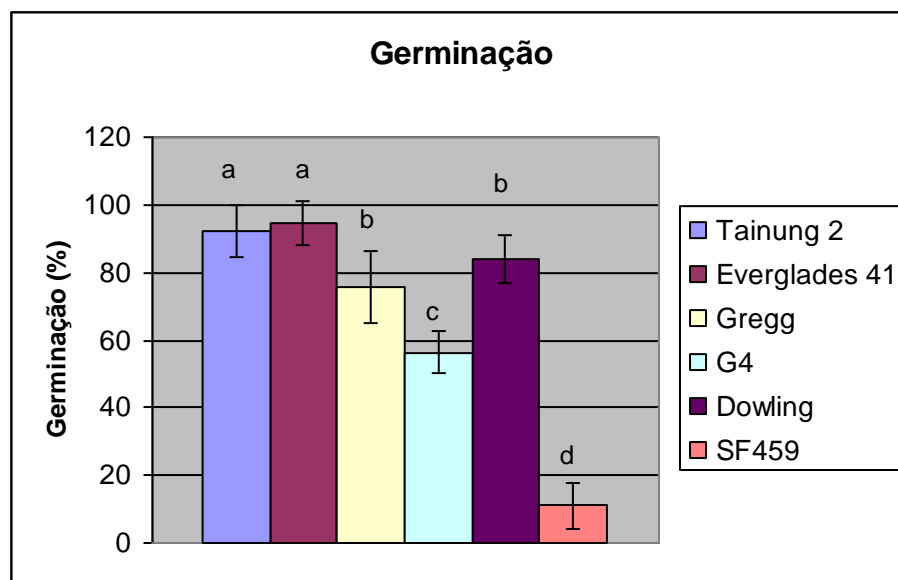
## 4.4. Caracterização Química das Plantas

### 4.4.1. Germinação

A percentagem de germinação das sementes das diferentes variedades de kenaf utilizadas nos ensaios de fitotoxicidade é apresentada no **Quadro 4.4** e na **Figura 4.1**.

**Quadro 4.4:** Percentagem de germinação

Varietade	Tainung 2	Everglades 41	Gregg	G4	Dowling	SF459
% Germinação	92±8%	94±6%	76±11%	56±6%	84±7%	11±7%



**Figura 4.1:** Germinação das sementes (%) das variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

Foi efectuada a interpretação estatística dos resultados obtidos, em termos da significância das variações obtidas (Análise de variância – ANOVA), entre variedades.

Da análise dos resultados estatísticos obtidos, concluiu-se que em termos de percentagem de germinação se verificaram variações significativas entre diferentes variedades ( $P = 2,4 \times 10^{-16}$ ). As variedades Tainung 2 e Everglades 41 foram as que apresentaram a maior taxa de germinação (respectivamente 92 e 94%). As variedades Gregg e Dowling também apresentaram taxas de germinação elevadas (76 e 84%, respectivamente), mas significativamente inferiores às obtidas nas variedades Tainung 2 e Everglades 41. Em relação à variedade G4, apenas metade das sementes germinaram (56%). Este resultado também foi significativamente inferior aos obtidos para as variedades Tainung 2, Everglades 41, Gregg e Dowling. A variedade SF459 apresentou uma taxa de germinação muito reduzida (apenas 11% das sementes germinaram), e significativamente inferior à das restantes variedades em estudo. Devido a esta reduzida germinação, não foi possível efectuar o estudo proposto com esta variedade. Esta diferença na taxa de germinação das sementes de diferentes variedades,

não era expectável. Com efeito, nos campos gregos onde as mesmas sementes foram testadas não se verificaram diferenças na taxa de germinação entre variedades (Alexopoulou *et al.*, 2007). No entanto, apenas as variedades Tainung 2 e Everglades 41 estão disponíveis em termos comerciais. As variedades Gregg, Dowling, SF459 e G4, são variedades novas que estão ainda a ser testadas, não havendo informação disponível sobre a qualidade das suas sementes (em termos de germinação).

#### 4.4.2. Parâmetros Biométricos

##### 4.4.2.1. Altura do Caule

O **Quadro 4.5** apresenta os resultados obtidos na medição da altura do caule das plantas de kenaf, no final do estudo experimental.

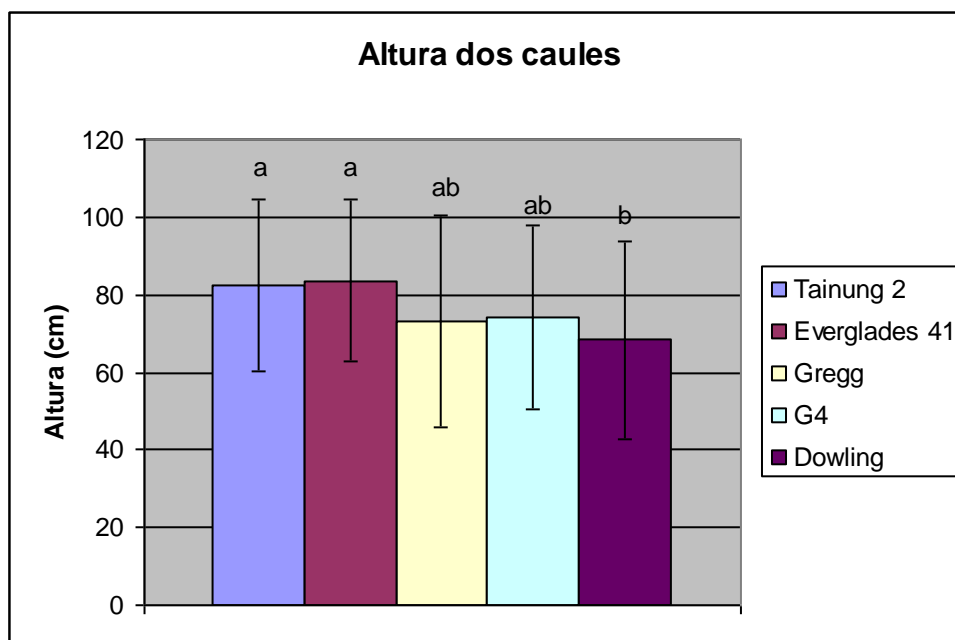
**Quadro 4.5:** Altura dos caules (cm) no final do ensaio para as variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

	<b>Tainung 2</b>	<b>Everglades 41</b>	<b>Gregg</b>	<b>G4</b>	<b>Dowling</b>
<b>Testemunha</b>	83±24	77±22	73±25	68±32	64±27
<b>Zn</b>	63±25	62±20	68±23	65±15	66±25
<b>Cu</b>	81±28	86±15	78±31	72±22	62±33
<b>Cr</b>	89±15	93±18	77±24	84±24	77±18
<b>Cd</b>	92±15	94±19	72±32	80±36	79±19
<b>Hg</b>	84±14	91±12	72±33	81±12	63±27

Em termos de altura das plantas verificaram-se diferenças significativas entre variedades ( $P=0,00019$ , ANOVA). A **Figura 4.2** representa os resultados obtidos na medição da altura do caule das plantas de Kenaf, registados no final do ensaio experimental, mostrando as diferenças entre variedades.

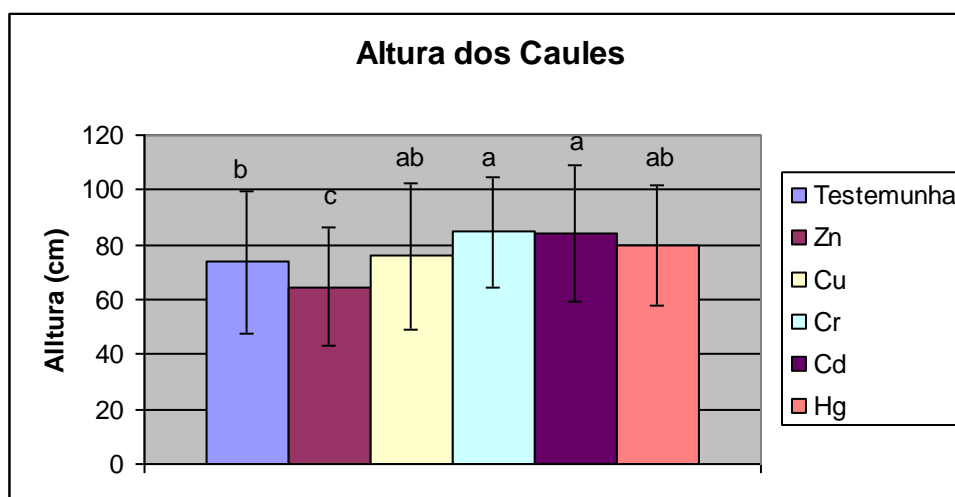
As variedades Everglades 41 e Tainung 2 apresentaram uma altura de caule mais elevada do que as das variedades G4 e Gregg e significativamente mais elevada do que a altura do caule

da variedade Dowling. As variedades G4 e Gregg apresentam alturas semelhantes e superiores às da variedade Dowling mas sem significado estatístico.



**Figura 4.2:** Altura dos caules (cm) no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

A contaminação dos solos com os metais em estudo traduziu-se igualmente na obtenção de variações significativas ( $P=2,8 \times 10^{-5}$ , ANOVA, **Figura 4.3**).

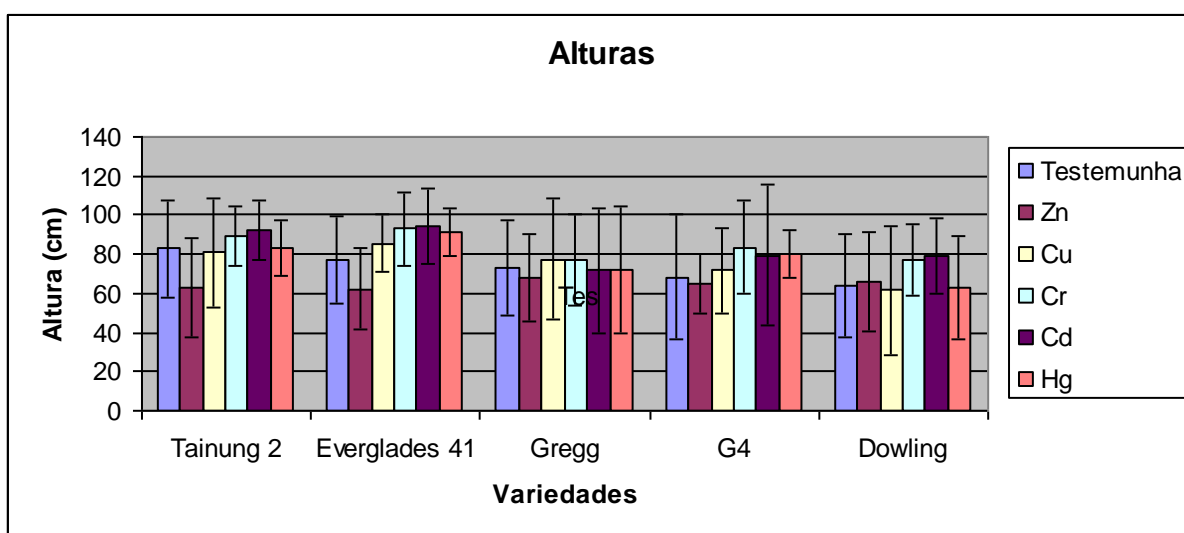


**Figura 4.3:** Variação da altura dos caules (cm) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

De acordo com os resultados obtidos, é possível atribuir um efeito fitotóxico à contaminação dos solos com zinco (Zn). Com efeito, nos vasos onde foi aplicado este metal, a altura dos caules foi significativamente mais baixa do que nos vasos testemunha (sem contaminação).

De acordo com os resultados obtidos, é possível verificar-se que a contaminação dos solos com crómio e cádmio resultou num efeito benéfico. Os vasos contaminados com estes metais apresentaram alturas do caule significativamente superiores às verificadas nos vasos testemunha. A contaminação com mercúrio e cobre não influenciou este parâmetro biométrico.

Em termos do parâmetro altura do caule, as variedades Tainung 2 e Everglades 41 foram as que apresentaram um efeito fitotóxico mais pronunciado relativamente à contaminação com Zn (**Figura 4.4**,  $P_{\text{Testemunha e Zn}} = 0,031$  e  $P_{\text{Testemunha e Zn}} = 0,035$ , t-Test, respectivamente). A variedade Everglades 41 foi também a mais influenciada (beneficamente) pela contaminação com crómio ( $P_{\text{Testemunha e Cr}} = 0,028$ , t-Test), cádmio ( $P_{\text{Testemunha e Cd}} = 0,019$ , t-Test) e mercúrio ( $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,026$ , t-Test).



**Figura 4.4:** Altura dos caules (cm) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

#### 4.4.2.2. Diâmetro do Caule na Base

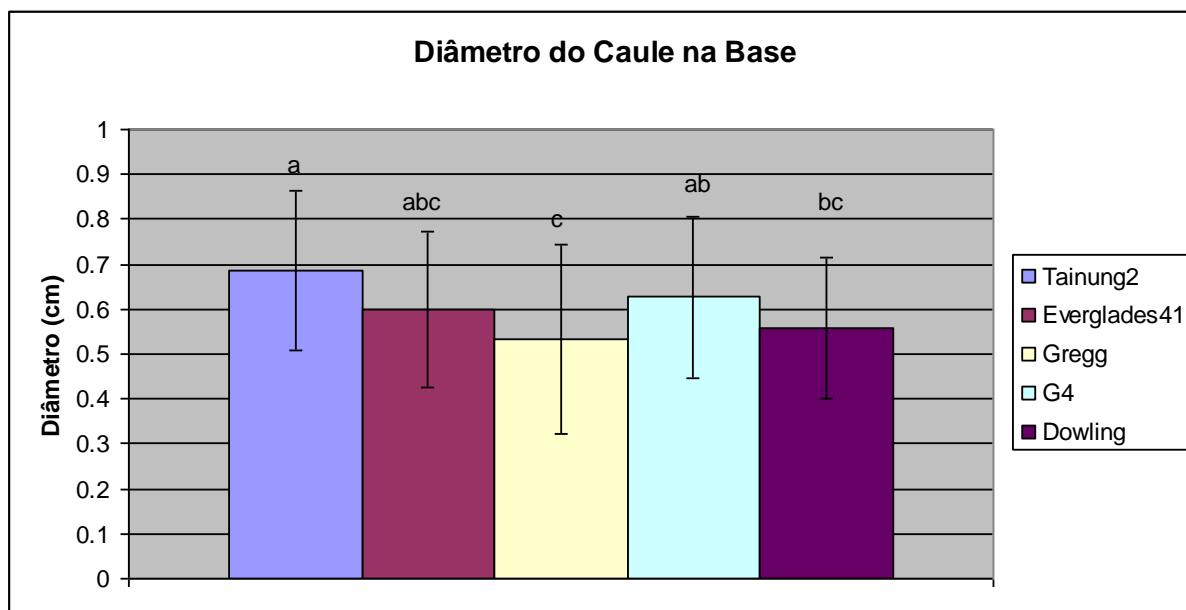
O **Quadro 4.6** apresenta os resultados obtidos no final do ensaio referentes ao diâmetro dos caules (na base) das plantas de kenaf.

**Quadro 4.6:** Diâmetros (cm) obtidos no final do ensaio para as variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

	Tainung 2	Everglades 41	Gregg	G4	Dowling
<b>Testemunha</b>	0,7±0,2	0,6±0,2	0,5±0,2	0,5±0,2	0,5±0,1
<b>Zn</b>	0,6±0,2	0,4±0,1	0,5±0,2	0,5±0,1	0,5±0,2
<b>Cu</b>	0,7±0,2	0,6±0,1	0,6±0,3	0,6±0,2	0,5±0,2
<b>Cr</b>	0,7±0,2	0,6±0,2	0,6±0,2	0,7±0,2	0,6±0,1
<b>Cd</b>	0,7±0,2	0,6±0,1	0,5±0,2	0,6±0,3	0,6±0,1
<b>Hg</b>	0,7±0,2	0,8±0,1	0,6±0,2	0,7±0,1	0,5±0,2

Em termos dos diâmetros dos caules, verificaram-se diferenças significativas entre variedades ( $P = 2,5 \times 10^{-6}$ , ANOVA).

A **Figura 4.5** evidencia a variação observada entre variedades para o parâmetro diâmetro do caule na base.



**Figura 4.5:** Diâmetro dos caules na base (cm) no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

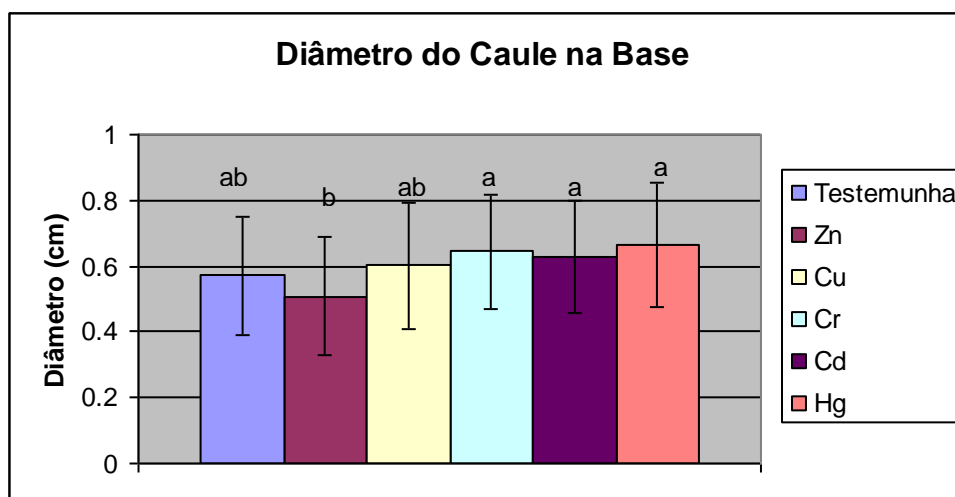
Em relação a este parâmetro, observou-se a seguinte ordem decrescente entre as variedades em estudo:

Tainung 2 > G4 > Everglades 41 > Dowling > Gregg

Comparando os resultados da altura dos caules com o diâmetro dos caules na base, verifica-se que a variedade Tainung 2 é simultaneamente a variedade em que se obtêm os caules mais

altos e com maior diâmetro. A variedade Dowling apresenta os caules mais curtos e diâmetros reduzidos. A variedade G4 apresenta resultados intermédios em termos de altura e de diâmetro do caule. A variedade Everglades 41 apresenta uma altura mais elevada, face às variedades Gregg, G4 e Dowling e semelhante face à variedade Tainung 2, mas, em relação ao diâmetro do caule na base, esta variedade tem caules mais finos do que os da variedade Tainung 2 e semelhantes aos da variedade G4. Apresenta ainda caules com um diâmetro na base superior aos caules das variedades Gregg e Dowling. A variedade Gregg apresenta caules com uma altura intermédia (inferior à das variedades Tainung 2 e Everglades 41, semelhante à da variedade G4, mas superior à da variedade Dowling), mas os seus caules são mais finos do que os das outras variedades (semelhantes em diâmetro aos das variedades Everglades 41 e Dowling, mas com valor inferior aos das variedades Tainung 2 e G4).

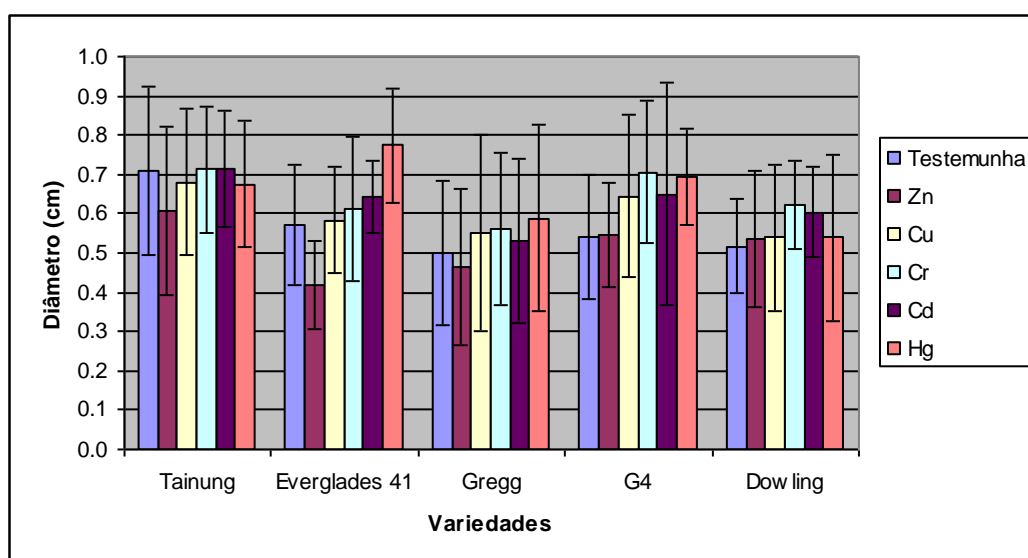
A contaminação dos solos com a adição de metais traduziu-se igualmente na obtenção de variações significativas, em termos do valor de diâmetro do caule na base ( $P=3,3\times 10^{-5}$ , ANOVA). A **Figura 4.6** representa os valores obtidos de diâmetro dos caules das plantas de Kenaf, no fim do ensaio, evidenciando as diferenças observadas entre a contaminação induzida pelos diferentes metais estudados e os ensaios testemunha.



**Figura 4.6:** Variação do diâmetro dos caules na base (cm) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

De acordo com os resultados apresentados, é possível verificar que a contaminação dos vasos com zinco, influenciou negativamente o tamanho do diâmetro dos caules. Esta diferença em relação aos ensaios testemunha não tem, no entanto, significado estatístico.

A influência da contaminação com metais pesados, em termos de diâmetro do caule, não foi semelhante para todas as variedades (**Figura 4.7**). As variedades Tainung 2 e Gregg não foram influenciadas pela contaminação com metais pesados (em relação ao parâmetro diâmetro do caule na base). A contaminação dos solos com zinco influenciou negativamente o diâmetro dos caules da variedade Everglades 41. Com efeito, nestes vasos os valores obtidos foram significativamente inferiores aos do ensaio testemunha (**Figura 4.7**,  $P_{\text{Testemunha e Zn}} = 0,0026$ , t-Test). No entanto, a contaminação dos solos com mercúrio beneficiou o crescimento (em termos de diâmetro do caule) desta variedade (**Figura 4.7**,  $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,0006$ , t-Test). Para as restantes variedades G4 e Dowling, não se observaram efeitos fitotóxicos no crescimento do diâmetro dos caules, para a contaminação metálica em estudo. Verificaram-se, contudo, efeitos benéficos. A contaminação dos solos com mercúrio e com crómio beneficiou o crescimento (em termos do diâmetro do caule) da variedade G4 (**Figura 4.7**,  $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,013$  e  $P_{\text{Testemunha e Cr}} = 0,031$ , t-Test). A contaminação com crómio e com cádmio beneficiou, igualmente, o crescimento (do diâmetro do caule) da variedade Dowling (**Figura 4.7**,  $P_{\text{Testemunha e Cr}} = 0,020$  e  $P_{\text{Testemunha e Cd}} = 0,041$ , t-Test).



**Figura 4.7:** Diâmetro dos caules na base (cm) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

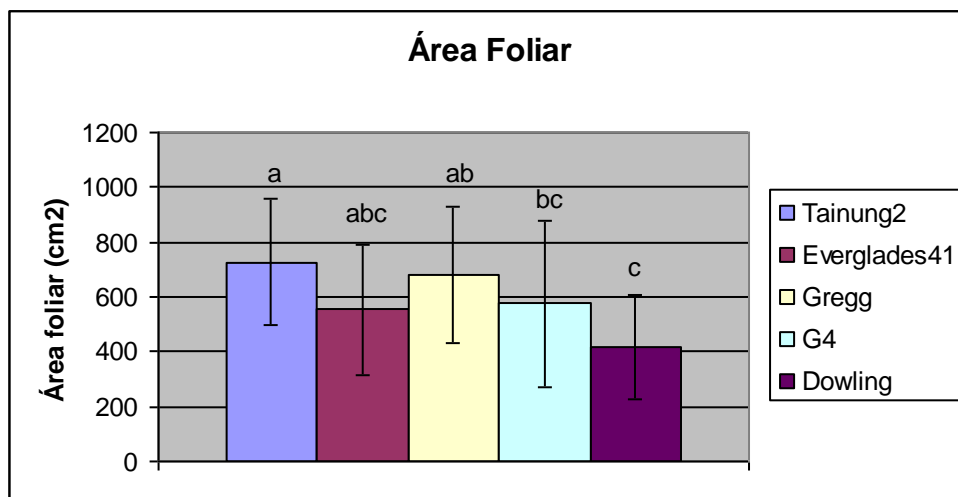
#### 4.4.2.3. Área Foliar

Em termos da área foliar, atendendo a que a área superficial foi idêntica em todos os vasos, é possível comparar os resultados obtidos de área foliar entre variedades e, para cada variedade, entre o ensaio testemunha e os ensaios em que existiu adição de metais ao solo (**Quadro 4.7**).

**Quadro 4.7:** Área foliar (cm<sup>2</sup>) das plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

	Tainung 2	Everglades 41	Gregg	G4	Dowling
Testemunha	860±210	660±130	910±240	630±230	480±140
Zn	550±460	230±50	510±260	600±520	620±270
Cu	800±210	390±340	650±290	510±340	240±90
Cr	640±180	630±140	520±240	530±290	370±70
Cd	750±80	630±50	640±210	410±360	280±110
Hg	780±110	790±100	850±100	760±150	540±150

Em termos da área foliar, verificaram-se diferenças significativas entre variedades (**Figura 4.8**,  $P = 0,0031$ , ANOVA).

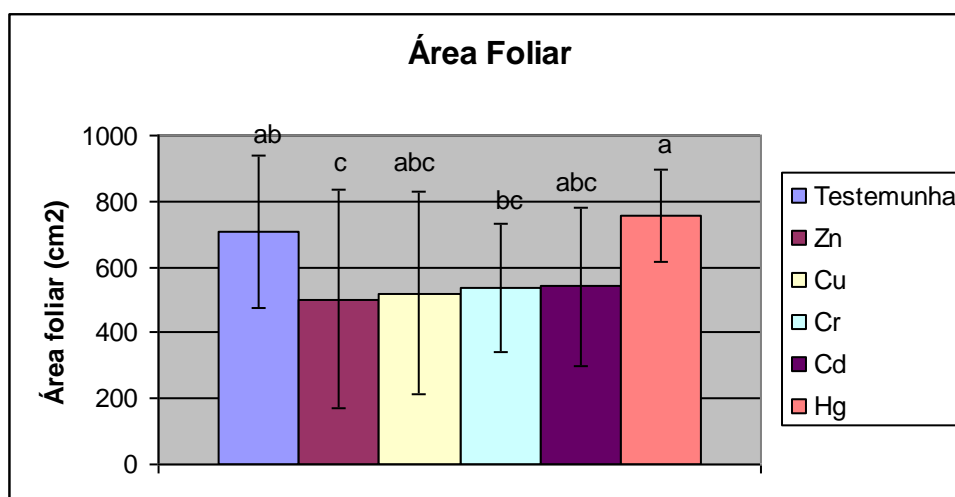


**Figura 4.8:** Área foliar (cm<sup>2</sup>) no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

As variedades Tainung 2 e Gregg foram as que apresentaram maior área foliar. A variedade Dowling foi a que apresentou menor área foliar. Atendendo à forma das folhas, as variedades Tainung 2, Gregg e G4 apresentam folhas divididas, ou seja, folhas que apresentam 3, 5 ou 7 lóbulos por folha. As variedades Everglades 41 e Dowling apresentam folhas inteiras, ou seja,

levemente lobuladas e cordiformes (em forma de coração). Portanto, era expectável, devido à forma das folhas, que as variedades com folhas inteiras fossem as que tivessem apresentado maior área foliar (Everglades 41 e Dowling). Como referido, não foi isso que se verificou, mesmo nos ensaios testemunha (onde o efeito da contaminação do solo não é uma variável). As variedades Tainung 2 e Gregg, com folhas divididas, foram as que apresentaram a maior área foliar, como já referido. Portanto, factores relacionados com o desenvolvimento da cultura (como por exemplo, o tipo de solo, as condições edafo-climáticas), podem ter afectado o seu crescimento e, conseqüentemente, a sua área foliar.

A **Figura 4.9** representa a variação da área foliar, no fim do ensaio experimental, entre a contaminação induzida pelos diferentes metais estudados e os ensaios testemunha. Esta variação foi significativa ( $P=0,023$ , ANOVA).

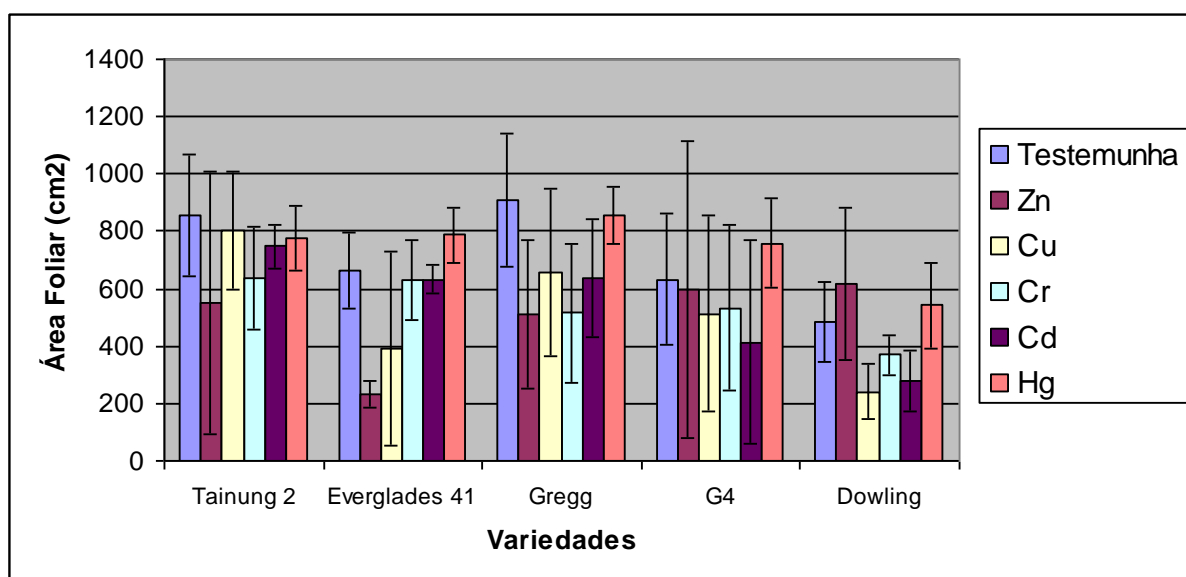


**Figura 4.9:** Variação da área foliar ( $\text{cm}^2$ ) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

De acordo com a **Figura 4.9** é possível verificar que a contaminação dos vasos com zinco, cobre, crómio e cádmio, influenciou negativamente a área foliar das plantas de kenaf. No entanto, apenas os efeitos da contaminação com zinco, em termos de área foliar, foram estatisticamente significativos face aos ensaios testemunha.

A influência da contaminação dos solos com metais pesados, no parâmetro área foliar, apresentou mais significado nas variedades Everglades 41 e Dowling (**Figura 4.10**). Com efeito, verificou-se que a adição de zinco exerceu um efeito fitotóxico na área foliar da

variedade Everglades 41. Esta variedade nos vasos contaminados com zinco apresentou uma área foliar significativamente inferior à obtida no ensaio testemunha ( $P_{\text{Testemunha e Zn}} = 0,0066$ , t-Test, **Figura 4.10**). Também o cobre exerceu um efeito fitotóxico, em termos da área foliar, no que respeita à variedade Dowling. Comparando os resultados obtidos neste parâmetro entre os vasos contaminados com cobre e o ensaio testemunha, verificou-se que estes eram significativamente inferiores ( $P_{\text{Testemunha e Cu}} = 0,045$ , t-Test, **Figura 4.10**). A área foliar das variedades Tainung 2, Gregg e G4 não foram influenciadas pela contaminação dos solos (**Figura 4.10**).



**Figura 4.10:** Área foliar ( $\text{cm}^2$ ) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

Em termos globais, e no que diz respeito aos parâmetros biométricos, pode afirmar-se que em termos de contaminação dos solos com metais pesados, o zinco foi o metal que exerceu um maior efeito fitotóxico nas variedades em estudo. Concretamente a adição de zinco ao solo influenciou negativamente o crescimento (em altura) das variedades Tainung 2 e Everglades 41, o crescimento do diâmetro e a área foliar da Everglades 41. A adição de cobre também afectou negativamente a área foliar da variedade Dowling.

No entanto, a adição de metais ao solo também resultou em efeitos benéficos para as variedades em estudo. O crómio potenciou o crescimento em altura da variedade Everglades 41 e o aumento do diâmetro das variedades G4 e Dowling. A adição de mercúrio potenciou o crescimento em altura da variedade Everglades 41 e do seu diâmetro. Potenciou também o

crescimento do diâmetro do caule da variedade G4. A adição de cádmio potenciou o crescimento em altura da variedade Everglades 41 e o crescimento do diâmetro do caule da variedade Dowling.

Entre variedades, verificou-se que a Everglades 41 foi a mais sensível à adição de metais ao solo, quer por mostrar efeitos fitotóxicos (no caso da adição de zinco), quer por mostrar efeitos positivos (no caso da adição de crómio, cádmio e mercúrio).

Como expectável, verificaram-se diferenças significativas entre variedades no que respeita ao seu desempenho em termos dos parâmetros biométricos. Efectivamente, de acordo com estudos anteriores (Alexopoulou *et al.*, 2007), estas variedades também apresentam variações comportamentais.

#### **4.4.3. Produtividade**

A produtividade de cada variedade foi determinada considerando separadamente a parte aérea (caule interno, caule externo e folhas) e radicular (raízes). Estes resultados foram obtidos no final do ciclo vegetativo das diversas variedades em estudo. Os resultados são apresentados no **Quadro4.8**.

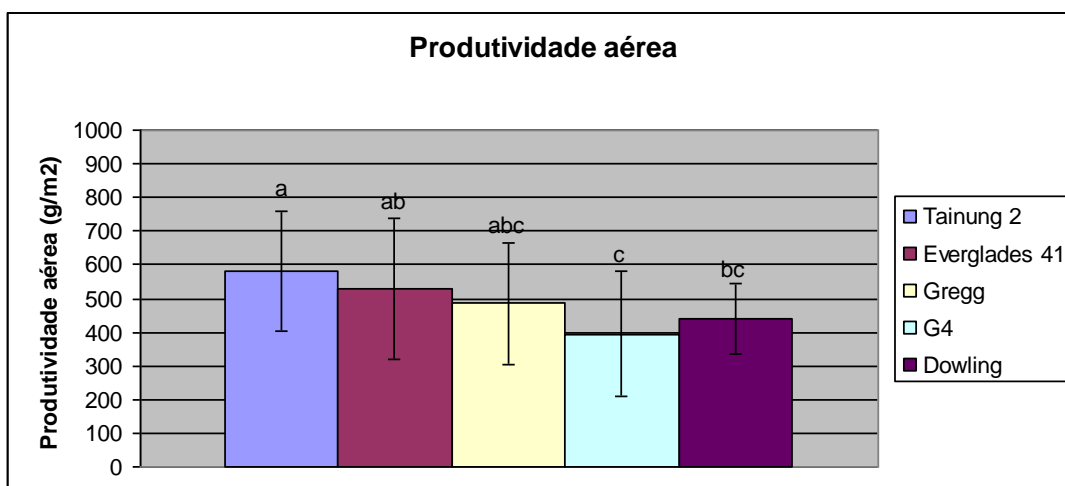
Procedeu-se à interpretação estatística dos resultados, em termos da significância das variações obtidas (Análise de variância - ANOVA), quer para a produtividade aérea quer para a produtividade radicular.

Em termos da produtividade aérea, verificaram-se diferenças significativas entre variedades (**Figura 4.11**,  $P = 0,019$ , ANOVA). As variedades Tainung 2 e Everglades 41 foram as que apresentaram maior produtividade aérea. A variedade G4 foi a que apresentou menor produtividade aérea. As produtividades obtidas entre variedades assumem um perfil de variação semelhante ao observado na Grécia, mas em resultados em campo. Com efeito, nos resultados apresentados por Alexopoulou *et al.* (2007), verifica-se que a variedade G4 também foi a que apresentou uma produtividade significativamente inferior à das outras variedades, não se tendo observado diferenças significativas entre as restantes variedades (em termos de produtividade).

Considerando o caule na totalidade, a percentagem de caule interno (56%) e de caule externo (44%) obtidas nestes ensaios é semelhante à que foi observada nos ensaios do projecto Biokenaf (Fernando *et al.*, 2007).

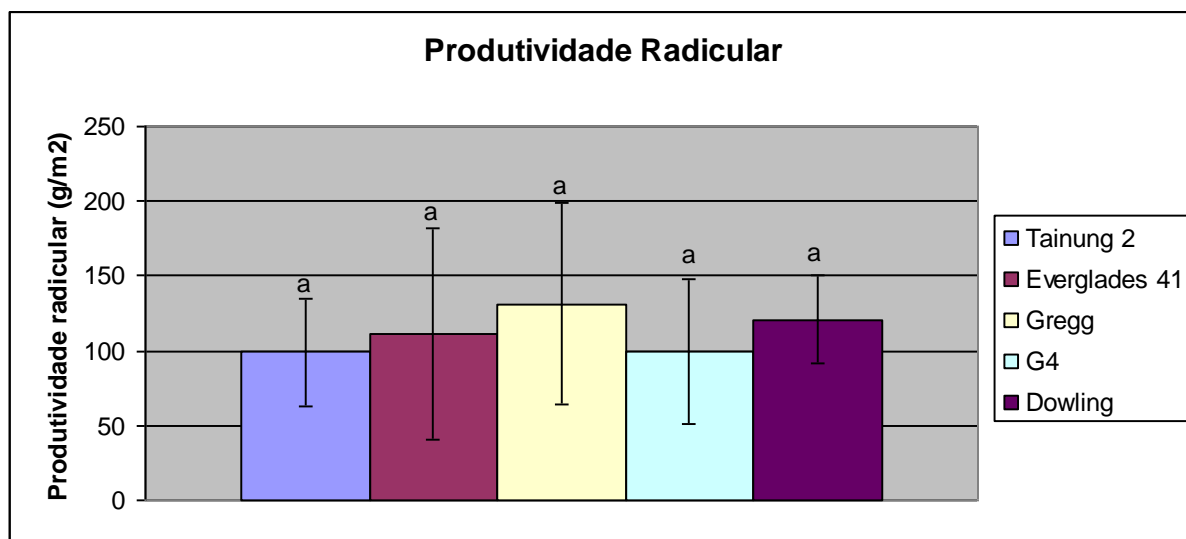
**Quadro 4.8:** Produtividade ( $\text{g.m}^{-2}$ , matéria seca) das plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

		<b>Testemunha</b>	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>Cr</b>	<b>Cd</b>	<b>Hg</b>
<b>Tainung 2</b>	Caule interno	288 ± 95	139 ± 42	292 ± 101	322 ± 55	368 ± 139	299 ± 63
	Caule externo	187 ± 18	103 ± 26	210 ± 67	214 ± 37	261 ± 28	245 ± 39
	Folhas	96 ± 32	65 ± 31	102 ± 33	79 ± 24	102 ± 5	111 ± 2
	<b>Total aérea</b>	<b>571 ± 139</b>	<b>308 ± 96</b>	<b>604 ± 197</b>	<b>615 ± 98</b>	<b>731 ± 150</b>	<b>654 ± 123</b>
	<b>Raízes</b>	<b>96 ± 33</b>	<b>63 ± 28</b>	<b>101 ± 56</b>	<b>99 ± 39</b>	<b>100 ± 17</b>	<b>136 ± 16</b>
<b>Everglades 41</b>	Caule interno	220 ± 40	109 ± 19	220 ± 64	287 ± 48	315 ± 51	408 ± 38
	Caule externo	173 ± 25	86 ± 22	167 ± 42	208 ± 30	236 ± 31	291 ± 6
	Folhas	74 ± 17	25 ± 2	44 ± 41	84 ± 21	92 ± 15	134 ± 13
	<b>Total aérea</b>	<b>467 ± 80</b>	<b>221 ± 42</b>	<b>432 ± 135</b>	<b>579 ± 98</b>	<b>643 ± 86</b>	<b>833 ± 31</b>
	<b>Raízes</b>	<b>75 ± 13</b>	<b>29 ± 9</b>	<b>68 ± 19</b>	<b>113 ± 27</b>	<b>147 ± 39</b>	<b>234 ± 19</b>
<b>Gregg</b>	Caule interno	161 ± 52	130 ± 59	177 ± 67	185 ± 44	291 ± 71	296 ± 25
	Caule externo	149 ± 44	119 ± 53	159 ± 63	168 ± 40	245 ± 46	253 ± 11
	Folhas	93 ± 29	61 ± 37	88 ± 44	75 ± 31	101 ± 35	156 ± 24
	<b>Total aérea</b>	<b>403 ± 3</b>	<b>310 ± 147</b>	<b>425 ± 171</b>	<b>428 ± 114</b>	<b>637 ± 145</b>	<b>705 ± 56</b>
	<b>Raízes</b>	<b>92 ± 39</b>	<b>76 ± 52</b>	<b>104 ± 49</b>	<b>104 ± 27</b>	<b>179 ± 38</b>	<b>234 ± 30</b>
<b>G4</b>	Caule interno	149 ± 71	82 ± 52	150 ± 66	221 ± 9	146 ± 121	253 ± 37
	Caule externo	141 ± 55	83 ± 47	131 ± 53	180 ± 11	117 ± 97	213 ± 47
	Folhas	90 ± 29	46 ± 41	55 ± 26	97 ± 41	72 ± 62	132 ± 26
	<b>Total aérea</b>	<b>380 ± 153</b>	<b>212 ± 140</b>	<b>337 ± 144</b>	<b>498 ± 34</b>	<b>335 ± 280</b>	<b>598 ± 109</b>
	<b>Raízes</b>	<b>97 ± 37</b>	<b>50 ± 31</b>	<b>94 ± 32</b>	<b>124 ± 8</b>	<b>67 ± 55</b>	<b>164 ± 23</b>
<b>Dowling</b>	Caule interno	163 ± 49	179 ± 42	204 ± 49	205 ± 63	234 ± 32	243 ± 72
	Caule externo	135 ± 38	153 ± 32	156 ± 39	159 ± 50	189 ± 30	208 ± 64
	Folhas	78 ± 16	103 ± 40	48 ± 20	66 ± 12	82 ± 17	113 ± 35
	<b>Total aérea</b>	<b>375 ± 91</b>	<b>436 ± 106</b>	<b>406 ± 88</b>	<b>430 ± 111</b>	<b>476 ± 73</b>	<b>564 ± 171</b>
	<b>Raízes</b>	<b>109 ± 34</b>	<b>121 ± 24</b>	<b>114 ± 41</b>	<b>118 ± 23</b>	<b>112 ± 19</b>	<b>168 ± 20</b>



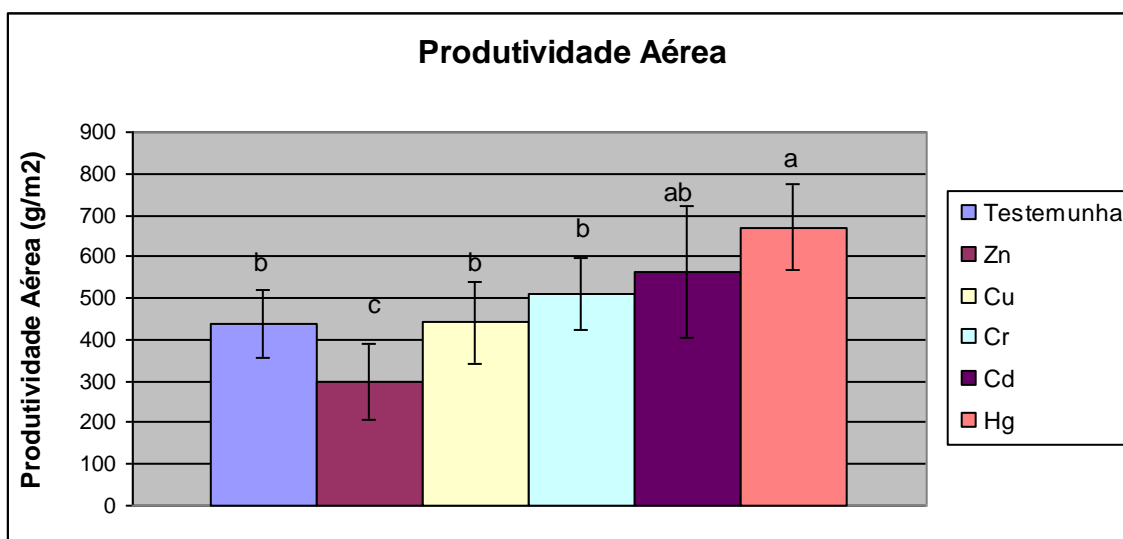
**Figura 4.11:** Produtividade aérea no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

Em termos da produtividade radicular não se verificaram diferenças significativas entre variedades (**Figura 4.12**,  $P = 0,30$ , ANOVA). A produtividade aérea foi superior à produtividade radicular para todas as variedades. Esta relação também foi observada nos ensaios do projecto Biokenaf (Fernando *et al.*, 2007).



**Figura 4.12:** Produtividade radicular no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

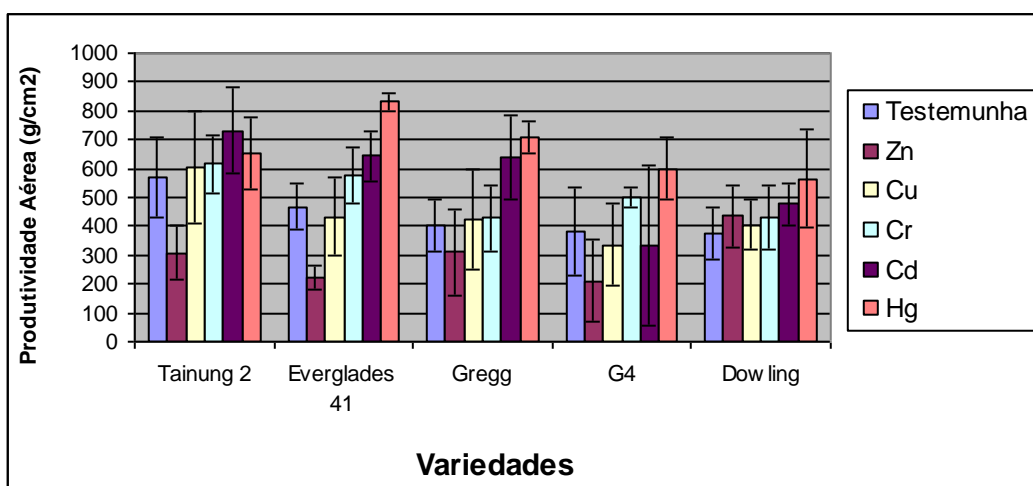
No que respeita à contaminação dos solos através da adição de metais, verificou-se uma variação significativa no que respeita à produtividade aérea ( $P=0,00032$ , ANOVA). A **Figura 4.13** diz respeito à variação da produtividade aérea entre o ensaio testemunha e os ensaios de contaminação induzida pelos diferentes metais.



**Figura 4.13:** Variação da produtividade aérea (g/cm<sup>2</sup>) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

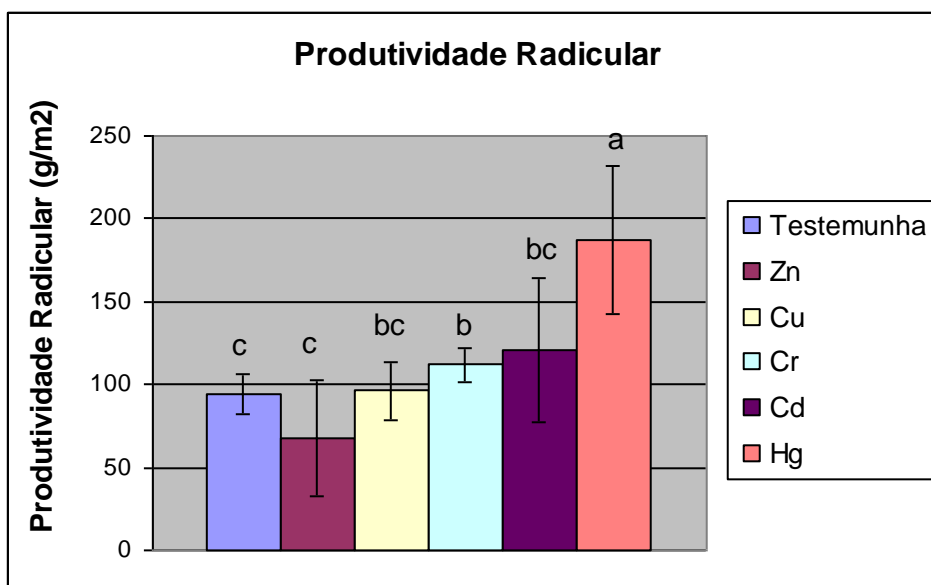
De acordo com a **Figura 4.13** e com o resultado obtido na análise estatística (ANOVA), é possível verificar que apenas a contaminação dos vasos com zinco influenciou negativamente a produtividade aérea das plantas de kenaf, sendo que os efeitos desta contaminação foram estatisticamente significativos. Ao contrário do zinco, a aplicação de mercúrio nos vasos estimulou a produtividade aérea do kenaf, a qual foi significativamente superior à dos ensaios testemunha.

A influência da contaminação com metais pesados, em termos da produtividade aérea, não foi semelhante para todas as variedades (**Figura 4.14**). Com efeito, verificou-se que a produtividade aérea das variedades G4 e Dowling não foi afectada pela contaminação. A contaminação com zinco teve um efeito fitotóxico significativo na produtividade aérea das variedades Tainung 2 e Everglades 41 (respectivamente,  $P_{\text{Testemunha e Zn}} = 0,027$ ,  $P_{\text{Testemunha e Zn}} = 0,0091$ , t-Test). Por outro lado, a adição de mercúrio ao solo teve um efeito benéfico significativo em termos da produtividade aérea das variedades Everglades 41 e Gregg (respectivamente,  $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,0026$ ,  $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,0085$ , t-Test) e a adição de cádmio ao solo teve um efeito benéfico significativo em termos da produtividade aérea da variedade Everglades 41 ( $P_{\text{Testemunha e Cd}} = 0,030$ , t-Test).



**Figura 4.14:** Produtividade aérea (g/cm<sup>2</sup>) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

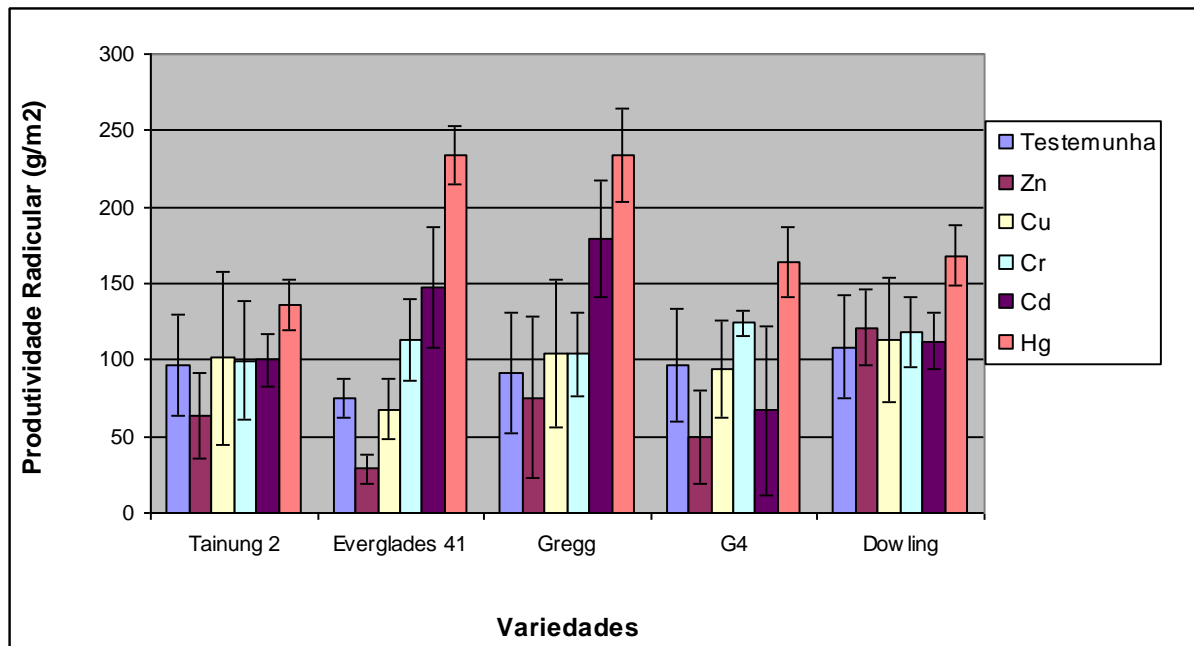
A análise estatística realizada à produtividade radicular revelou a existência de uma variação significativa devido à contaminação dos solos com os metais estudados ( $P=7,1 \times 10^{-5}$ , ANOVA). A **Figura 4.15** reflecte estas diferenças obtidas no final do ensaio experimental.



**Figura 4.15:** Variação da produtividade aérea (g/cm<sup>2</sup>) no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

A análise aos resultados obtidos (ANOVA) revela que não existe um efeito fitotóxico significativo induzido por nenhum dos metais em estudo. Por outro lado verificou-se que a adição aos solos de mercúrio se traduziu num efeito benéfico significativo para as culturas, em termos da produtividade radicular.

A influência da contaminação com metais pesados, em termos da produtividade radicular, não foi semelhante para todas as variedades (**Figura 4.16**). Todas as variedades, exceptuando a Tainung 2, apresentaram uma produtividade radicular significativamente superior à dos ensaios testemunha após a adição de mercúrio aos solos (**Figura 4.16**,  $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,00013$ ,  $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,0038$ ,  $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,037$  e  $P_{\text{Testemunha e Hg}} = 0,045$ , t-Test, respectivamente para as variedades Everglades 41, Gregg, G4 e Dowling). A adição de cádmio também se revelou benéfica, em termos da produtividade radicular, para as variedades Everglades 41 e Gregg (respectivamente,  $P_{\text{Testemunha e Cd}} = 0,047$  e  $P_{\text{Testemunha e Cd}} = 0,025$ , t-Test, **Figura 4.16**). Apenas a variedade Everglades 41 apresentou efeitos fitotóxicos significativos devido à contaminação com zinco ( $P_{\text{Testemunha e Zn}} = 0,0035$ , t-Test, **Figura 4.16**). A produtividade radicular da variedade Tainung 2 não foi afectada pela contaminação.



**Figura 4.16:** Produtividade radicular ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

No que diz respeito à produtividade, tanto aérea como radicular, pode afirmar-se que em termos de contaminação dos solos com metais pesados, o zinco foi o metal que exerceu um efeito fitotóxico no kenaf. Concretamente, a adição de zinco ao solo influenciou negativamente a produtividade aérea das variedades Tainung 2 e Everglades 41 e a produtividade radicular da variedade Everglades 41. Pelo contrário, a adição de mercúrio influenciou benéficamente a produtividade do kenaf.

Verificou-se, que também para o parâmetro da produtividade, a variedade Everglades 41 foi a mais sensível à adição de metais ao solo, quer por mostrar efeitos fitotóxicos (no caso da adição de zinco), quer por mostrar efeitos positivos (no caso da adição de cádmio e mercúrio).

Num plano comercial, a variedade que apresentou melhores características em termos de produtividade, para ser utilizada na remediação de metais pesados é a Tainung 2. Com efeito, foi com esta variedade que se obtiveram as maiores produtividades aéreas nos vasos contaminados com Cu, Cr e Cd. A variedade Dowling foi a variedade mais produtiva em solos contaminados com Zn e a variedade Everglades 41 foi a variedade mais produtiva em solos contaminados com Hg. Estes resultados apontam para o facto de que estas duas variedades são mais promissoras para a remediação de solos contaminados com zinco e mercúrio, respectivamente.

#### **4.4.4. Caracterização da Biomassa**

##### **4.4.4.1. Teor de Cinzas**

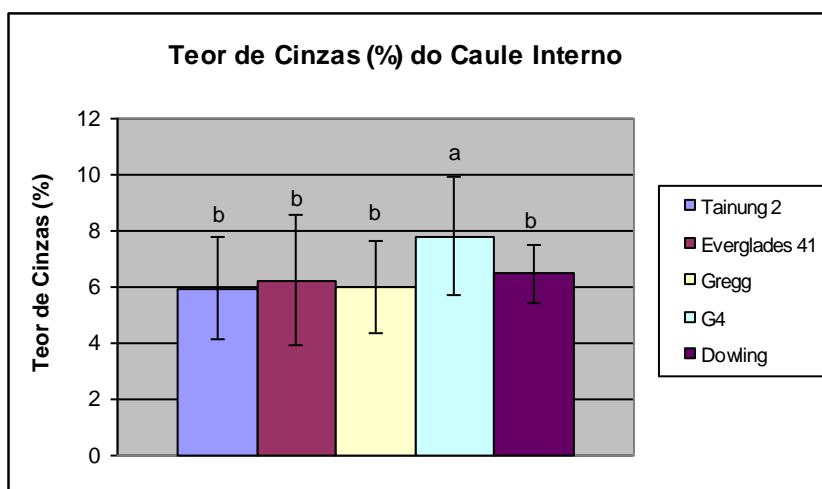
O teor de cinzas de cada variedade foi analisado nas várias partes que constituem a planta, caule interno, caule externo, folhas e raízes. O **Quadro 4.9** apresenta os resultados obtidos relativos ao teor de cinzas das plantas de kenaf, no fim do estudo experimental.

Em termos da interpretação estatística dos resultados relativos ao caule interno, verificou-se a existência de diferenças significativas entre variedades (**Figura 4.17**,  $P=0,022$ , ANOVA). A variedade G4 foi a que apresentou o valor significativamente mais elevado em termos de teor de cinza.

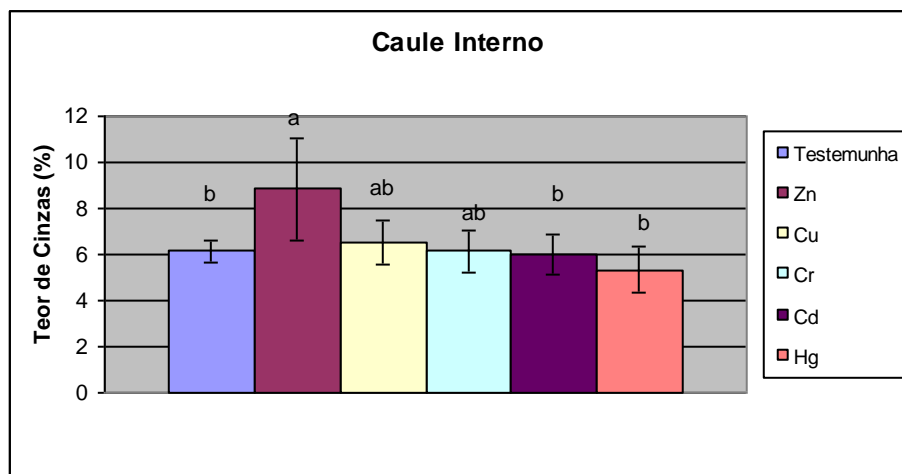
A variação do teor de cinzas do caule interno devido ao efeito da contaminação dos solos foi igualmente significativa (**Figura 4.18**  $P=0,0025$ , ANOVA).

**Quadro 4.9:** Teor de Cinzas (% , ms) das plantas de kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

		Testemunha	Zn	Cu	Cr	Cd	Hg
<b>Tainung 2</b>	Caule interno	6,8±0,4	8,0±3,1	5,1±0,9	6,0±2,2	5,9±0,3	4,5±0,9
	Caule externo	7,9±0,6	9,9±1,6	8,2±1,4	9,7±1,6	8,7±0,2	7,9±0,3
	Folhas	12±1	12±1	11±1	10±1	11±1	10±1
	Raízes	7,7±0,7	7,3±1,3	8,2±1,6	7,6±0,8	7,9±1,2	6,1±0,4
<b>Everglades 41</b>	Caule interno	5,8±0,5	11±2	6,4±0,8	5,1±0,6	5,1±0,8	4,5±0,8
	Caule externo	9,5±0,5	14±1	11±2	9,3±0,7	8,7±0,8	7,9±1,0
	Folhas	12±1	12±2	12±1	10±1	10±0	9,4±0,4
	Raízes	5,5±1,0	5,3±1,3	5,8±0,8	6,4±0,2	7,2±1,1	6,6±1,0
<b>Gregg</b>	Caule interno	5,8±0,5	8,1±2,9	6,4±1,5	5,6±0,7	5,3±1,3	5,0±0,4
	Caule externo	11±2	12±3	11±1	10±1	7,9±0,9	7,8±0,4
	Folhas	12±1	12±1	11±1	11±1	10±2	11±1
	Raízes	7,1±0,6	6,6±0,8	6,6±1,5	6,8±1,1	6,1±0,6	6,7±0,4
<b>G4</b>	Caule interno	7,0±0,8	11±3	7,9±2,4	7,3±0,2	6,6±0,4	6,7±0,5
	Caule externo	11±1	16±3	12±2	11±0	11±1	10±1
	Folhas	10±0	12±1	11±2	10±1	10±1	9,2±0,4
	Raízes	8,3±0,6	10±1	8,9±1,5	9,1±0,8	8,8±0,2	10±0
<b>Dowling</b>	Caule interno	6,1±0,5	6,0±0,7	6,7±1,5	6,9±1,8	7,1±0,9	6,0±0,4
	Caule externo	10±1	10±1	10±2	9,8±1,5	10±1	9,1±1,1
	Folhas	8,9±0,9	10±1	8,3±0,4	8,0±0,4	8,3±0,5	8,8±0,6
	Raízes	7,9±0,0	7,6±0,5	8,9±1,4	8,7±1,4	8,6±1,1	8,8±0,7



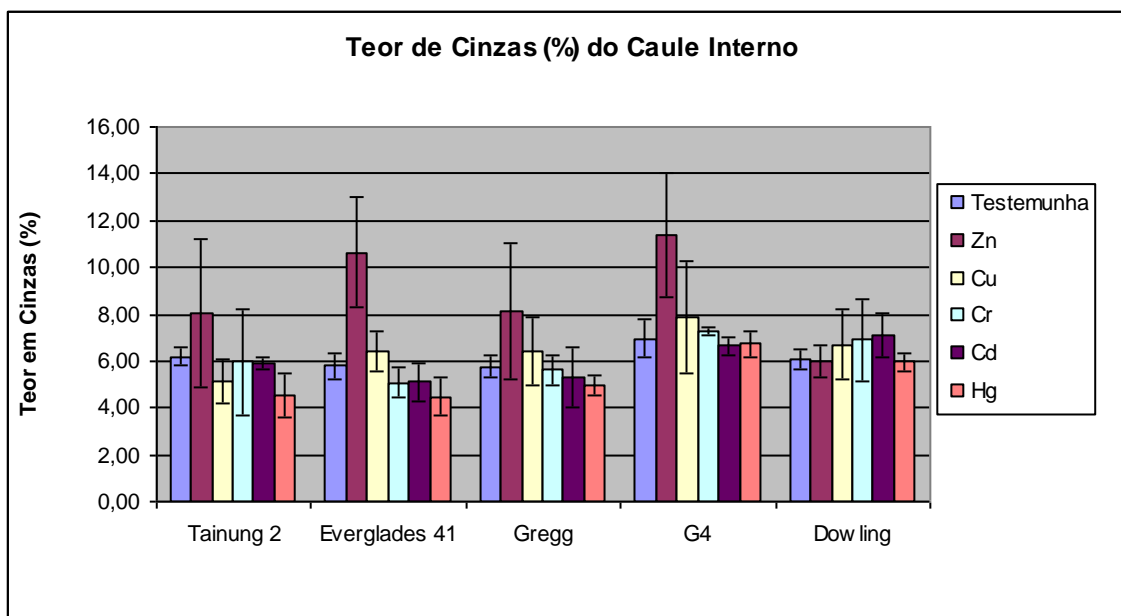
**Figura 4.17:** Teor de Cinzas (%) do Caule interno no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).



**Figura 4.18:** Teor de cinzas (%) do caule interno no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

De acordo com os resultados obtidos, é possível verificar que a contaminação dos solos com zinco resultou num teor de cinzas nos caules internos do kenaf significativamente superior ao ensaio testemunha. Os restantes metais não tiveram um efeito significativo em termos dos teores de cinzas no caule interno, em comparação com o ensaio testemunha.

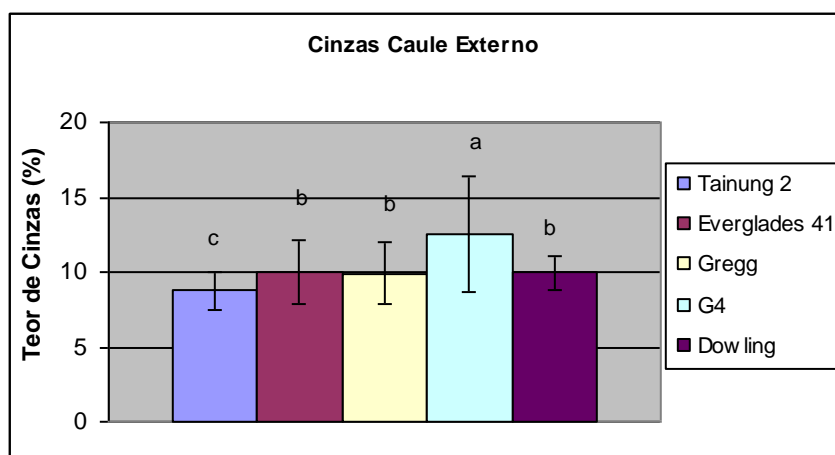
A influência da contaminação com metais pesados, em termos do teor de cinzas do caule interno, não foi semelhante para todas as variedades (**Figura 4.19**).



**Figura 4.19:** Teor de cinzas (%) do caule interno no final do ensaio para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

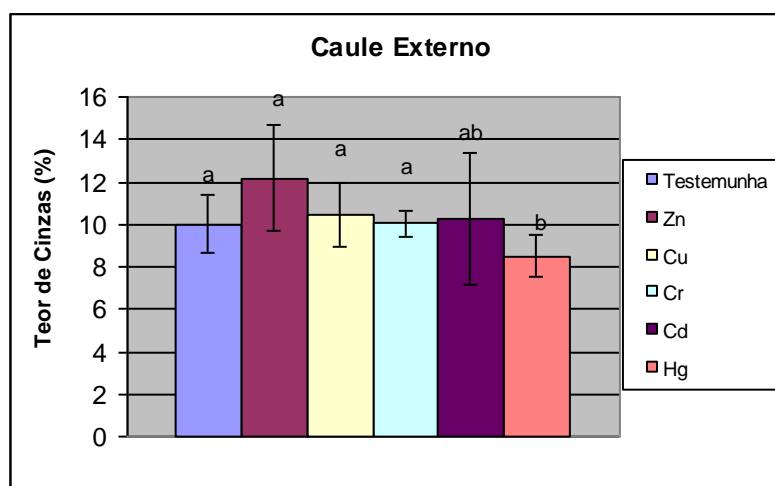
Verificou-se, em todas as variedades, que a contaminação com zinco se traduziu em teores de cinzas do caule interno superiores ao verificado no ensaio testemunha, e também, verificado nos caules internos das plantas obtidas nos vasos contaminados com Cu, Cr, Cd e Hg. No entanto, essa diferença só foi estatisticamente significativa no caso da variedade Everglades 41 (**Figura 4.19**,  $P_{\text{Testemunha e Zn}}=0,037$ , t-Test).

No que respeita ao teor de cinzas do caule externo, também se verificaram diferenças significativas entre variedades (**Figura 4.20**  $P=9,9 \times 10^{-5}$ , ANOVA). A variedade G4 correspondeu, também no caule externo, à variedade que apresentou o valor significativamente mais elevado em termos de teor de cinza, e a variedade Tainung 2 foi a que apresentou teores de cinzas significativamente mais baixos.



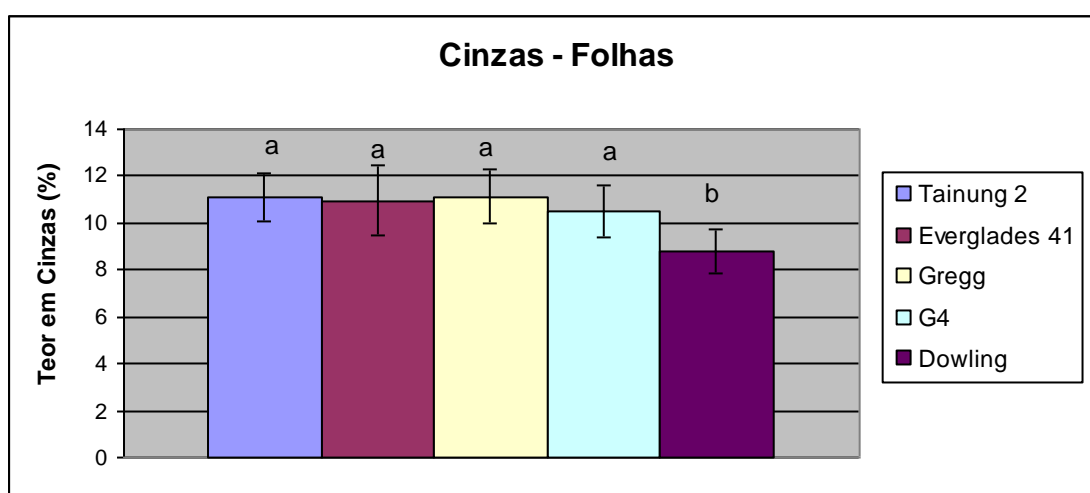
**Figura 4.20:** Teor de Cinzas (%) do Caule externo no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

Não se verificaram variações significativas nos teores de cinzas do caule externo devido à contaminação dos solos com metais pesados (**Figura 4.21**  $P=0,12$ , ANOVA). Verifica-se, no entanto, que o teor de cinzas das plantas cujos vasos foram contaminados com mercúrio é significativamente inferior ao teor de cinzas das plantas dos vasos testemunha.



**Figura 4.21:** Teor de cinzas (%) do caule externo no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

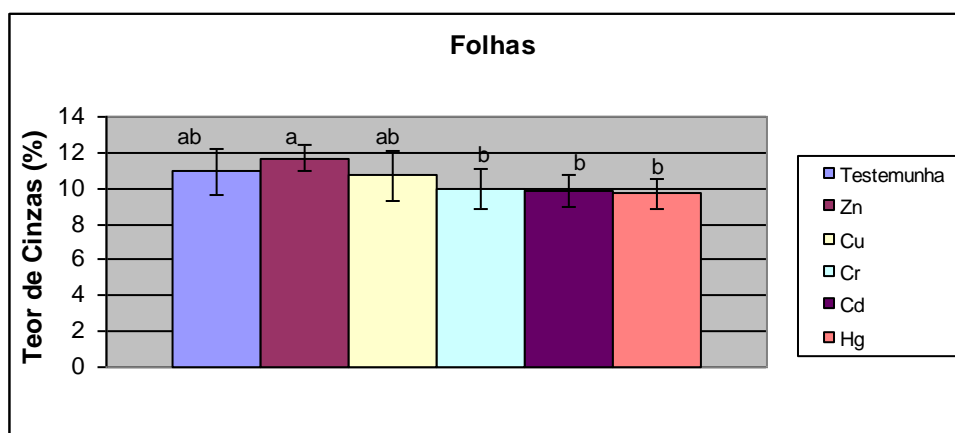
Em termos do teor de cinzas das folhas, verificaram-se diferenças significativas entre variedades ( $P=7,4 \times 10^{-8}$ , ANOVA). A **Figura 4.22** representa os resultados obtidos para as cinco variedades de kenaf no final do ensaio experimental, mostrando as diferenças existentes entre elas. Todas as variedades apresentaram teores de cinzas semelhantes excepto a variedade Dowling que apresentou teores de cinzas significativamente inferiores aos das restantes variedades.



**Figura 4.22:** Teor de Cinzas (%) das Folhas no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

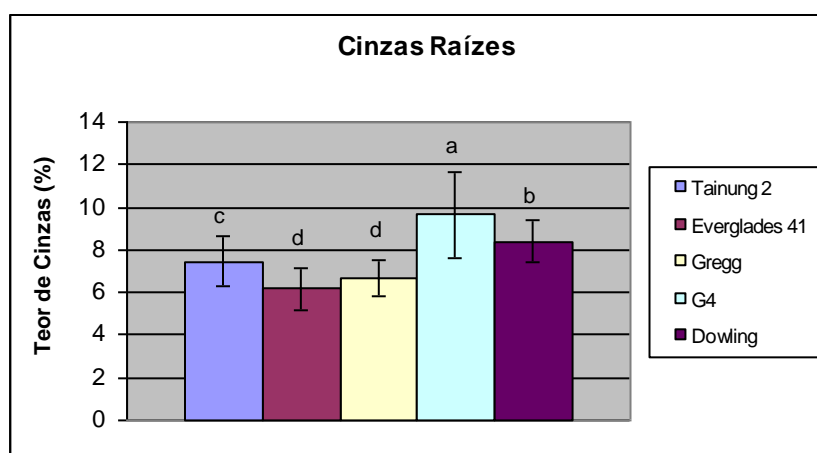
Não se verificaram variações significativas nos teores de cinzas das folhas devido à contaminação dos solos ( $P=0,052$ , ANOVA, **Figura 4.23**). A contaminação dos vasos com

zinco foi a que originou nas folhas teores superiores de cinzas, embora sem significado estatístico face às folhas dos ensaios testemunha.



**Figura 4.23:** Teor de cinzas (%) das Folhas no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

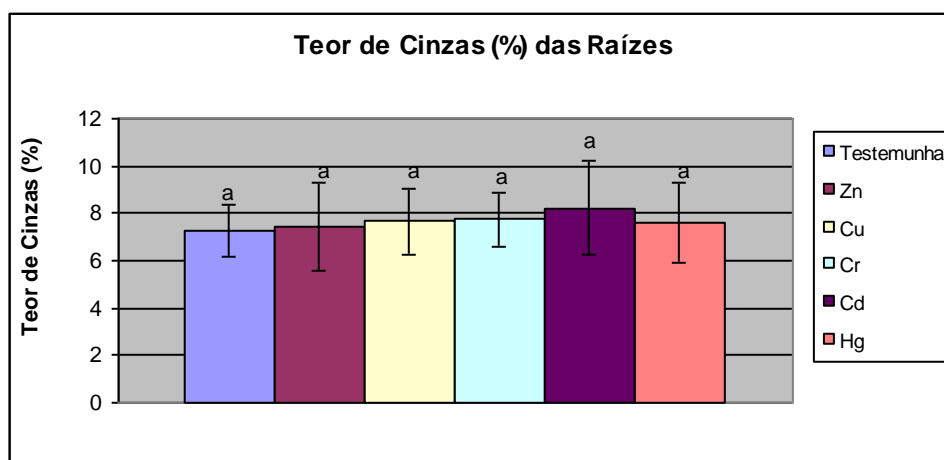
A **Figura 4.24** mostra a variação observada entre as variedades de kenaf em estudo relativamente ao teor de cinzas das raízes.



**Figura 4.24:** Teor de Cinzas (%) das Raízes no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

Em termos de teor de cinzas das raízes, verificaram-se diferenças significativas entre variedades ( $P=4,3 \times 10^{-12}$ , ANOVA). A variedade G4 foi a que apresentou teores em cinzas significativamente mais elevados e as variedades Everglades 41 e Gregg as que apresentaram os teores mais reduzidos.

A **Figura 4.25** mostra a influência da contaminação com metais pesados nos teores de cinzas das raízes.



**Figura 4.25:** Teor de cinzas (%) das Raízes no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

De acordo com a **Figura 4.25**, juntamente com o resultado obtido através da análise estatística (ANOVA), é possível verificar que a contaminação dos vasos com metais pesados não influenciou os teores de cinzas das raízes ( $P=0,95$ , ANOVA).

Globalmente pode afirmar-se que os teores de cinzas das diversas fracções das plantas de kenaf variam de acordo com as variedades. A variedade G4 foi a que globalmente apresentou teores em cinzas mais elevados do que as restantes variedades, provavelmente devido a um efeito de concentração de minerais pois esta variedade apresentou produtividades mais reduzidas do que as restantes. A contaminação dos solos com metais só teve efeitos a nível dos teores de cinzas do caule interno e apenas nos vasos contaminados com zinco.

Os teores de cinzas da parte aérea (caules e folhas) e das raízes apresentaram valores semelhantes aos obtidos no projecto Biokenaf (Fernando *et al.*, 2007). O caule externo e as folhas são as fracções das plantas que apresentaram maiores teores de cinzas (cerca de 10%). As raízes e os caules internos apresentaram teores de cinzas mais reduzidos (cerca de 7-8%).

#### 4.4.4.2. Teor de Fibra e Poder calorífico

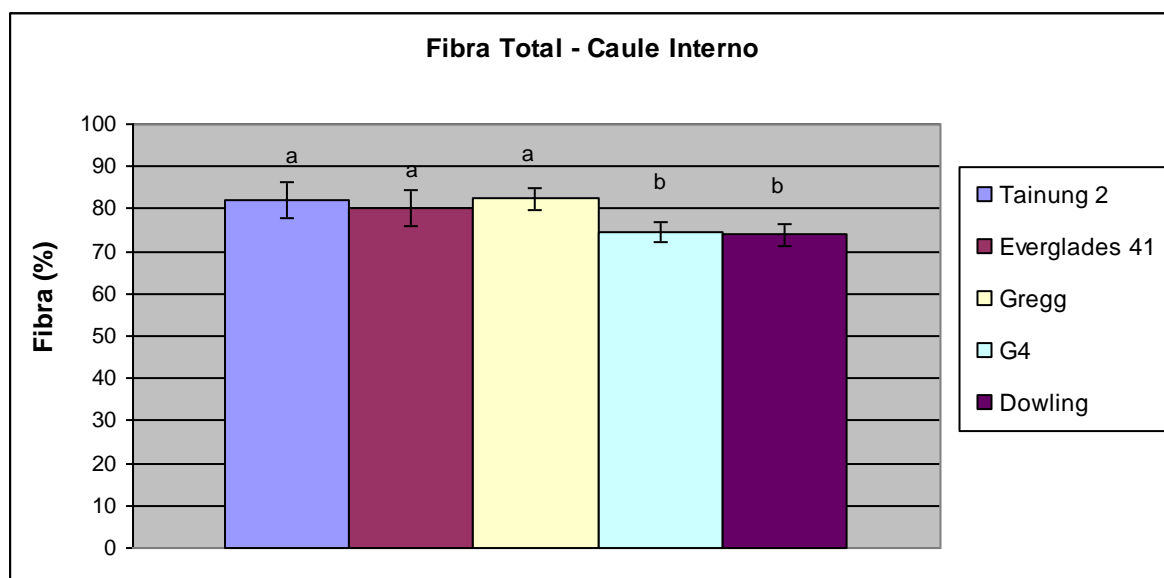
O teor de fibra e o poder calorífico de cada variedade foi analisado no caule interno e no caule externo das plantas de kenaf, tendo em vista a possibilidade da utilização industrial das

plantas, quer na produção de materiais à base de fibra quer na produção de energia. O **Quadro 4.10** apresenta os resultados obtidos relativos ao teor de fibra e ao poder calorífico das plantas de kenaf, no fim do estudo experimental.

**Quadro 4.10:** Teor de Fibra (% , ms) e Poder calorífico (kJ/g, ms) das plantas de kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo.

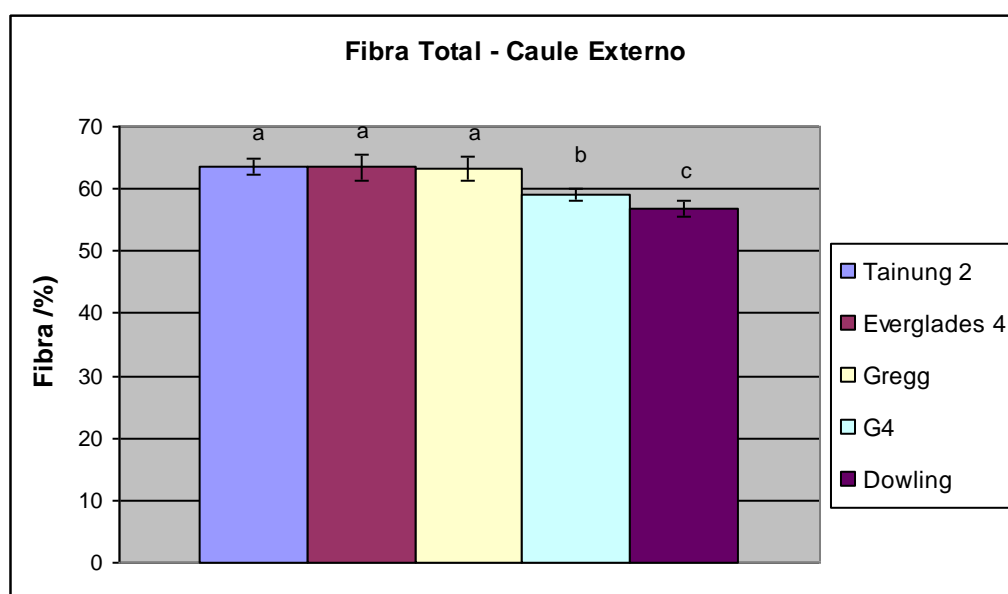
		Fibra	Poder calorífico
Tainung 2	Caule interno	82±4	15±2
	Caule externo	64±1	14±1
Everglades 41	Caule interno	80±4	15±2
	Caule externo	63±2	14±2
Gregg	Caule interno	82±3	18±5
	Caule externo	63±2	14±2
G4	Caule interno	75±2	16±2
	Caule externo	59±1	13±1
Dowling	Caule interno	74±3	16±2
	Caule externo	57±1	14±1

Em termos da interpretação estatística dos resultados relativos ao teor de fibra do caule interno, verificou-se a existência de diferenças significativas entre variedades (**Figura 4.26**,  $P=6,0 \times 10^{-12}$ , ANOVA). As variedades Tainung 2, Everglades 41 e Gregg apresentaram teores de fibra significativamente superiores aos das variedades G4 e Dowling. Não se observaram variações significativas no teor de fibra dos caules internos devido à contaminação dos solos com metais pesados ( $P=0,68$ , ANOVA).



**Figura 4.26:** Teor de Fibra (%) do caule interno no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

Verificou-se também a existência de diferenças significativas entre variedades, em termos dos teores de fibra do caule externo (**Figura 4.27**,  $P=9,1 \times 10^{-21}$ , ANOVA). As variedades Tainung 2, Everglades 41 e Gregg apresentaram teores de fibra significativamente superiores aos das variedades G4 e Dowling. A variedade Dowling apresentou teores de fibra significativamente inferiores aos obtidos pela variedade G4. Não se observaram variações significativas no teor de fibra dos caules externos devido à contaminação dos solos com metais pesados ( $P=0,60$ , ANOVA). Verifica-se, igualmente, que o caule interno apresenta significativamente maiores quantidades de fibra do que o caule externo ( $P=6,5 \times 10^{-58}$ , ANOVA).

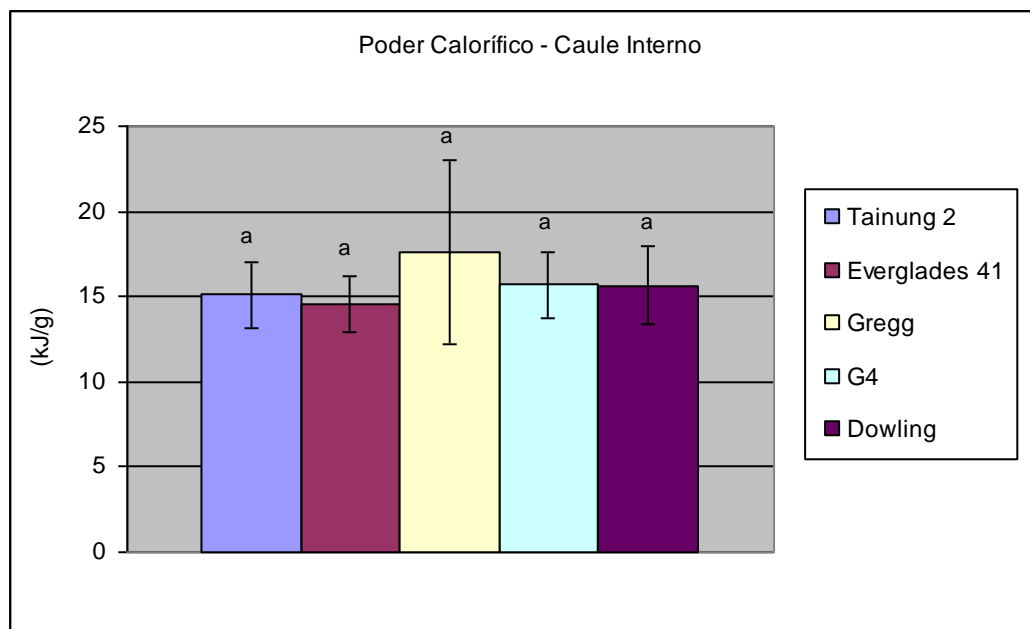


**Figura 4.27:** Teor de Fibra (%) do caule externo no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

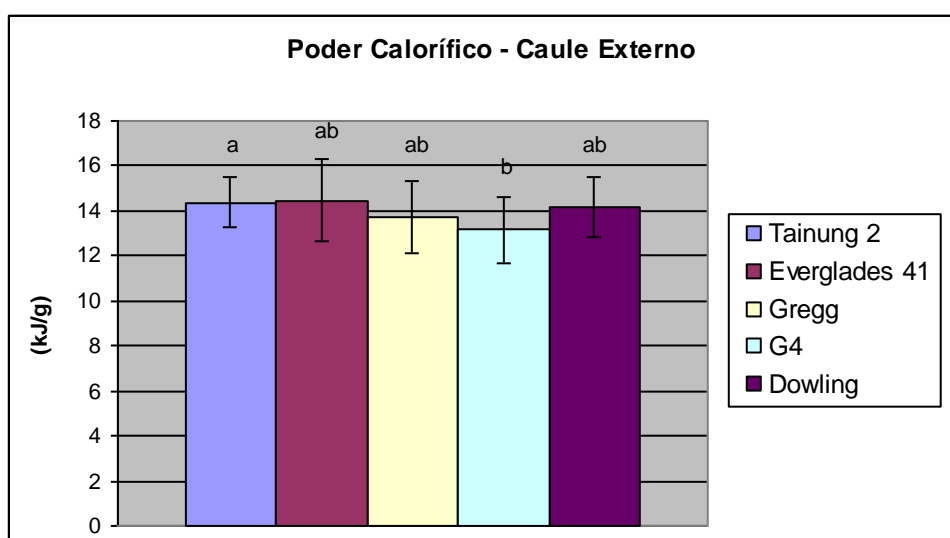
Em termos da interpretação estatística dos resultados relativos ao poder calorífico dos caules interno e externo, não se observaram variações significativas entre variedades (**Figuras 4.28 e 4.29**,  $P_{\text{caule interno}}= 0,15$ ,  $P_{\text{caule externo}} = 0,22$ , ANOVA). Não se observaram também variações significativas no poder calorífico dos caules internos e externos devido à contaminação dos solos com metais pesados ( $P_{\text{caule interno}}=0,074$ ,  $P_{\text{caule externo}} =0,12$ , ANOVA). Verificou-se, igualmente, que os caules internos apresentaram um poder calorífico significativamente superior ao observado nos caules externos ( $P =0,00014$ , ANOVA).

Globalmente pode afirmar-se que os valores de fibra e de poder calorífico são semelhantes aos referidos na literatura e aos obtidos no âmbito do projecto Biokenaf (Fernando *et al.*,

2007). Como a contaminação dos solos com metais não influenciou os teores de fibra e o poder calorífico, o kenaf obtido pode ainda ser valorizado economicamente, o que torna a sua produção em solos contaminados com metais pesados potencialmente interessante.



**Figura 4.28:** Poder calorífico (kg/g) do caule interno no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).



**Figura 4.29:** Poder calorífico (kg/g) do caule externo no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

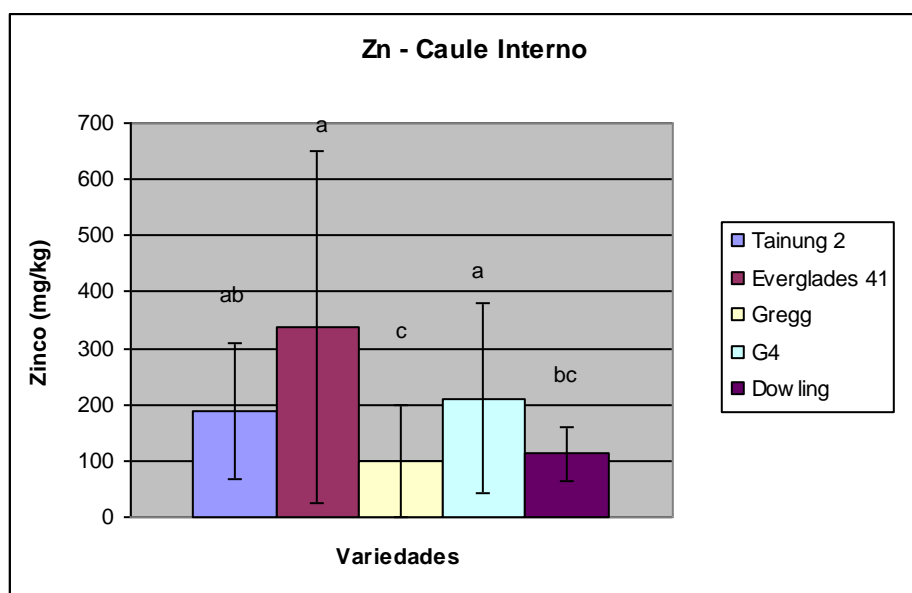
#### 4.4.4.3. Teor de Zinco

O teor de zinco de cada variedade foi analisado nas várias partes que constituem a planta, caule interno, caule externo, folhas e raízes. O **Quadro 5.11** apresenta os resultados obtidos relativos ao teor de zinco das plantas de kenaf, no fim do estudo experimental.

**Quadro 4.11:** Teor de zinco (mg/kg, ms) das plantas de kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

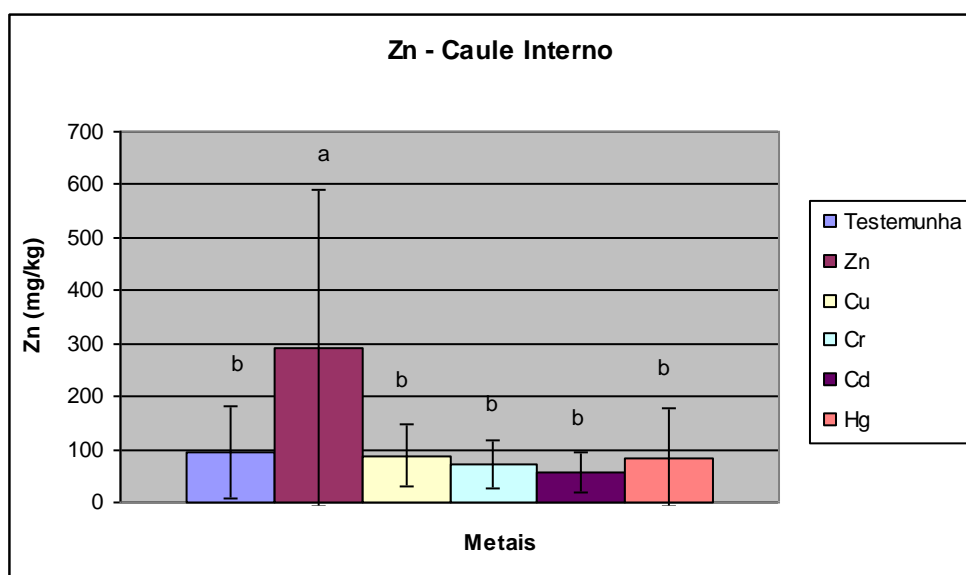
		Testemunha	Zn	Cu	Cr	Cd	Hg
<b>Tainung 2</b>	Caule interno	174±17	431±54	116±26	166±24	117±26	94±10
	Caule externo	163±60	496±82	195±56	128±88	135±42	136±19
	Folhas	181±111	397±65	121±124	56,5±7,9	116±116	39,0±6,2
	Raízes	0,58±0,20	5,36±0,83	0,60±0,15	0,38±0,04	0,41±0,13	0,20±0,03
<b>Everglades 41</b>	Caule interno	298±85	978±93	214±75	112±46	135±18	278±156
	Caule externo	339±220	1105±109	395±187	452±154	208±69	251±98
	Folhas	383±305	893±292	175±117	181±42	280±106	191±32
	Raízes	3,3±2,3	6,0±3,7	1,8±0,5	2,3±0,5	4,4±4,0	2,5±0,9
<b>Gregg</b>	Caule interno	75±24	304±75	76±36	67±18	39±12	37±11
	Caule externo	124±32	546±14	88±16	103±9	77±8	79±24
	Folhas	116±34	238±6	68±11	87±30	75±20	93±27
	Raízes	0,56±0,05	4,5±1,5	0,53±0,04	0,55±0,18	0,59±0,04	0,49±0,11
<b>G4</b>	Caule interno	129±42	533±203	182±79	175±10	121±29	126±32
	Caule externo	260±98	752±91	230±107	205±37	256±69	152±2
	Folhas	256±110	586±211	253±39	189±51	225±63	221±86
	Raízes	0,46±0,13	6,5±3,5	0,56±0,11	0,59±0,03	0,46±0,38	0,88±0,00
<b>Dowling</b>	Caule interno	99±14	210±16	94±12	100±18	81±15	81±7
	Caule externo	108±7	412±56	131±20	123±11	106±8	122±35
	Folhas	131±2	288±46	143±3	127±25	122±24	99±2
	Raízes	0,62±0,03	5,3±1,9	0,62±0,08	0,89±0,14	0,67±0,26	0,62±0,03

Em termos da quantidade de zinco presente nos caules internos das plantas, no final do ensaio, verificou-se a existência de diferenças significativas entre variedades ( $P=0,00097$ , ANOVA). A **Figura 4.30** ilustra as diferenças existentes entre os resultados obtidos na determinação da quantidade de zinco (mg/kg) dos caules internos para as variedades em estudo. A variedade Everglades 41 é a que acumula mais zinco. As variedades Gregg e Dowling são as que menos acumulam zinco no caule interno.



**Figura 4.30:** Teor de zinco (mg/kg) dos caules internos no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

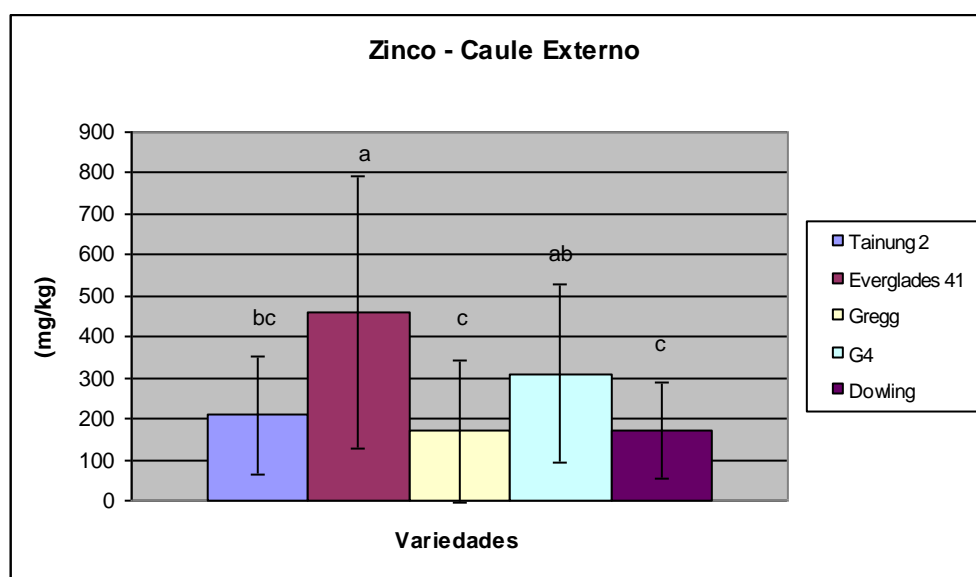
Em termos do teor de zinco nos caules internos, também se verificaram diferenças significativas entre os tratamentos com os diferentes metais ( $P=0,00073$ , ANOVA). A **Figura 4.31** evidencia esta diferença.



**Figura 4.31:** Teor de zinco (mg/kg) dos caules internos no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

Verifica-se, portanto, que nos vasos onde foi aplicado zinco, os caules internos de kenaf acumularam significativamente mais zinco do que os caules internos dos ensaios testemunha. Verifica-se, também, que a aplicação de Cu, Cr, Cd e Hg, ao solo, não afectou os teores de Zn dos caules internos (face aos resultados obtidos nos caules internos do ensaio testemunha).

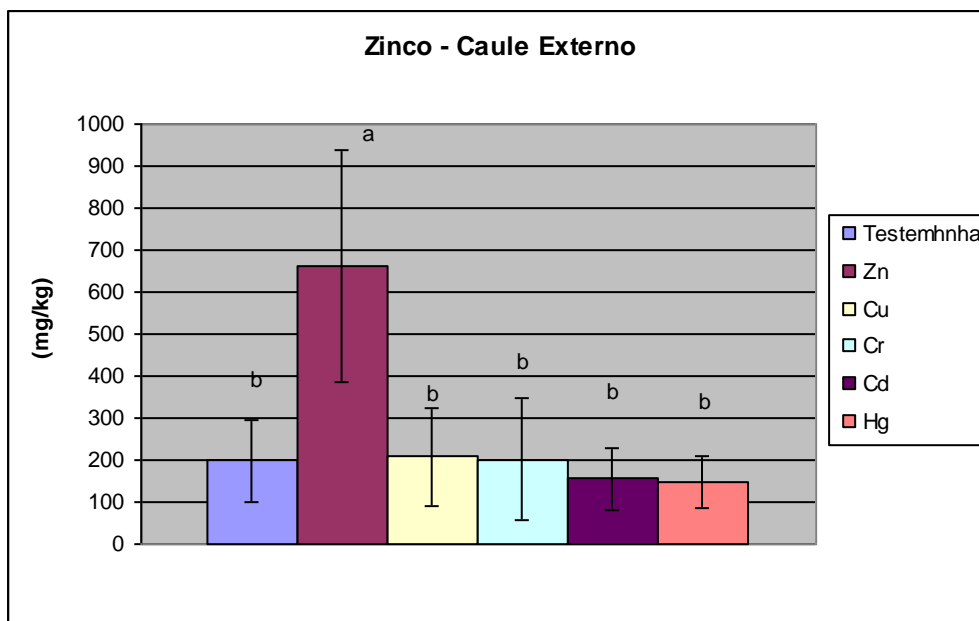
No que respeita à quantidade de zinco presente nos caules externos, verificaram-se diferenças significativas entre variedades (**Figura 4.32**,  $P=0,00026$ , ANOVA).



**Figura 4.32:** Teor de zinco (mg/kg) dos caules externos no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

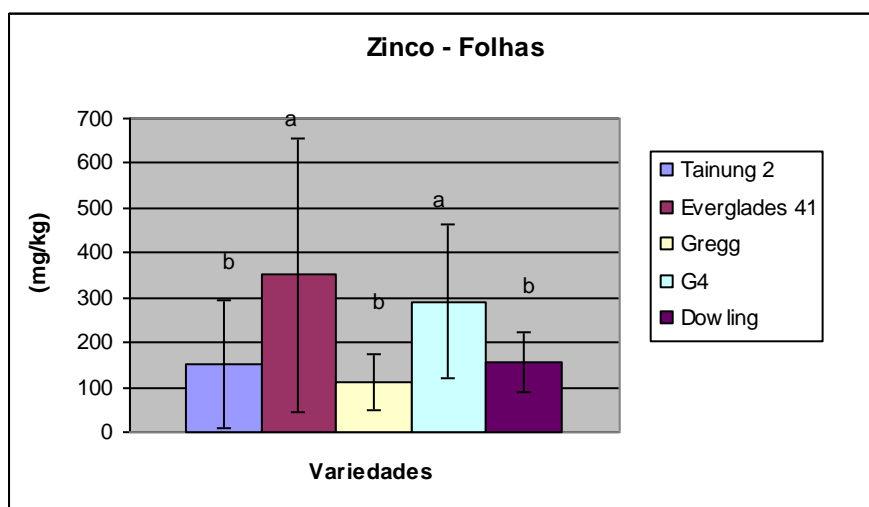
Tal como observado nos caules internos, a Everglades 41 correspondeu à variedade que mais zinco bioacumulou e Gregg e Dowling corresponderam às variedades que menos bioacumularam zinco.

Para o parâmetro zinco, a variação devida à contaminação dos solos também é estatisticamente significativa ( $P=6,9 \times 10^{-5}$ , ANOVA). Nos vasos contaminados com zinco os caules externos bioacumularam uma concentração de zinco significativamente superior à observada nos caules dos ensaios testemunha. Verifica-se, também, que a aplicação de Cu, Cr, Cd e Hg, ao solo, não afectou os teores de Zn dos caules externos (face aos resultados obtidos nos caules internos do ensaio testemunha). A **Figura 4.33** ilustra este resultado.

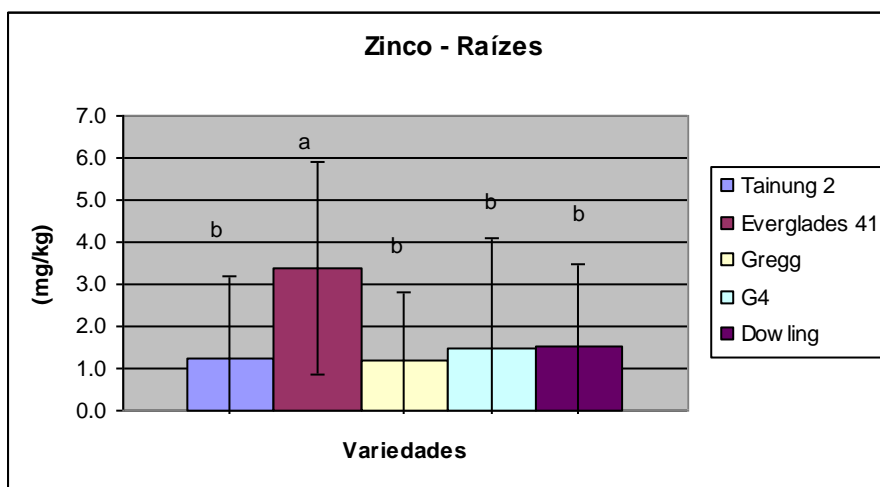


**Figura 4.33:** Teor de zinco (mg/kg) dos caules externos no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

No que respeita à quantidade de zinco presente nas folhas e nas raízes, verificaram-se diferenças significativas entre variedades (**Figura 4.34**,  $P_{\text{Folhas}}=0,00021$ , **Figura 4.35**,  $P_{\text{Raízes}}=0,016$ , ANOVA). Tal como observado nos caules, a Everglades 41 correspondeu à variedade que mais zinco bioacumulou nas raízes. Esta variedade também foi a que mais acumulou zinco nas folhas a par da variedade G4.

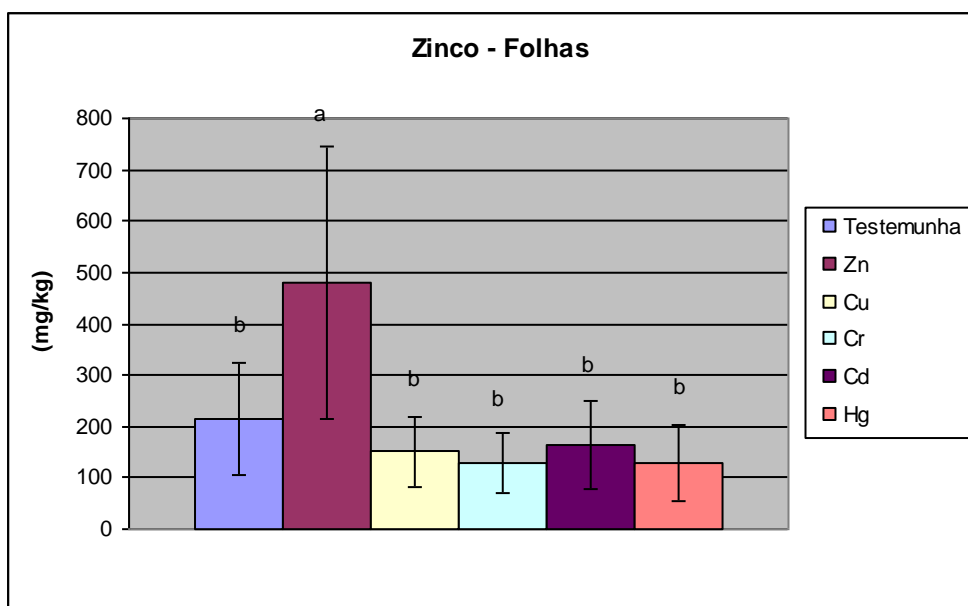


**Figura 4.34:** Teor de zinco (mg/kg) das folhas no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

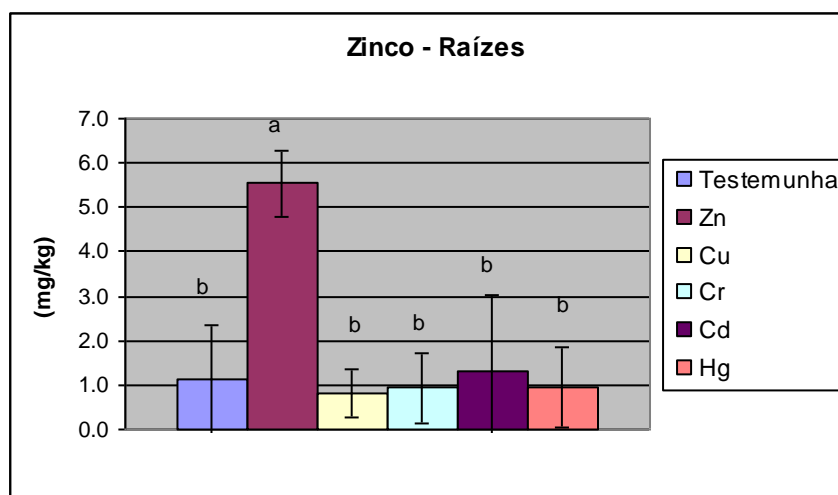


**Figura 4.35:** Teor de zinco (mg/kg) das raízes no final do ensaio para as variedades em estudo (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

Para o parâmetro zinco, a variação devida à contaminação dos solos também é estatisticamente significativa (**Figura 4.36**,  $P_{\text{Folhas}}=0,0020$ , **Figura 4.37**,  $P_{\text{Raízes}}=9,5 \times 10^{-7}$ , ANOVA).



**Figura 4.36:** Teor de zinco (mg/kg) das folhas no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).



**Figura 4.37:** Teor de zinco (mg/kg) das raízes no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

Nos vasos contaminados com zinco as folhas e as raízes bioacumularam uma concentração de zinco significativamente superior à observada nestas fracções nos ensaios testemunha. Verifica-se, também, que a aplicação de Cu, Cr, Cd e Hg, ao solo, não afectou os teores de Zn das folhas e raízes (face aos resultados obtidos nestas fracções no ensaio testemunha).

O caule externo é a fracção das plantas que apresenta maiores teores de zinco, seguindo-se as folhas e por fim, o caule interno. As raízes apresentam um teor de zinco significativamente inferior ao observado na parte aérea.

#### 4.4.4.4. Teor de Cobre

O teor de cobre de cada variedade foi analisado nas várias partes que constituem a planta, caule interno, caule externo, folhas e raízes. O **Quadro 4.12** apresenta os resultados obtidos relativos ao teor de cobre das plantas de kenaf, no fim do estudo experimental.

Verificaram-se variações significativas entre variedades em termos dos teores de cobre do caule interno, do caule externo e das folhas (respectivamente,  $P=0,011$ ,  $P=0,0048$ ,  $P=0,00054$ , ANOVA). A variedade Gregg é a que acumula mais cobre nos caules internos, a variedade Everglades 41, é a que acumula mais cobre nos caules externos e as variedades Tainung 2, Everglades 41 e G4, são as que acumulam mais cobre nas folhas. Em termos dos

teores de cobre nas raízes não foram observadas variações significativas entre variedades ( $P=0,55$ , ANOVA).

**Quadro 4.12:** Teor de Cobre (mg/kg, ms) nas plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

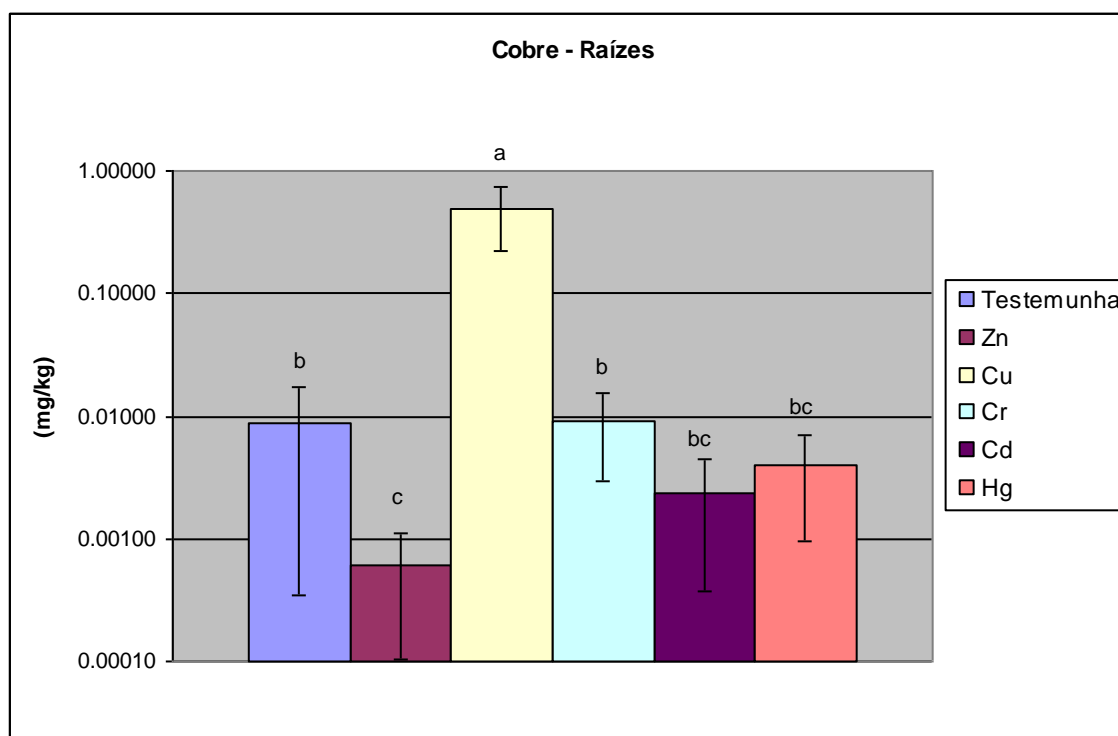
		Testemunha	Zn	Cu	Cr	Cd	Hg
<b>Tainung 2</b>	Caule interno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD.
	Caule externo	0,10±0,17	<LD	1,67±0,24	0,03±0,06	<LD	<LD
	Folhas	7,23±0,61	5,15±2,72	9,88±0,92	7,51±0,50	6,83±0,87	3,80±0,75
	Raízes	0,02±0,02	<LD	0,57±0,33	0,02±0,01	0,01±0,01	<LD
<b>Everglades 41</b>	Caule interno	<LD	<LD	1,02±1,76	<LD	<LD	<LD
	Caule externo	2,93±1,77	1,52±1,65	4,35±2,27	<LD	<LD	0,58±1,01
	Folhas	7,17±1,79	20,63±20,24	6,27±5,55	3,37±0,59	2,18±1,57	1,67±0,73
	Raízes	<LD	<LD	0,47±0,20	0,01±0,01	<LD	0,01±0,01
<b>Gregg</b>	Caule interno	3,56±4,61	3,31±4,32	<LD	<LD	0,52±0,90	1,69±2,92
	Caule externo	<LD	1,02±1,77	0,12±0,21	<LD	<LD	<LD
	Folhas	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Raízes	<LD	<LD	0,11±0,04	<LD	<LD	<LD
<b>G4</b>	Caule interno	0,27±0,47	<LD	0,53±0,66	<LD	1,63±2,83	0,76±1,32
	Caule externo	<LD	<LD	3,01±3,05	0,52±0,49	<LD	0,11±0,20
	Folhas	4,20±0,57	5,74±7,44	13,87±9,47	4,78±3,42	3,88±3,38	3,55±0,46
	Raízes	<LD	<LD	0,85±0,30	0,01±0,01	<LD	0,01±0,01
<b>Dowling</b>	Caule interno	<LD	<LD	0,16±0,27	<LD	<LD	<LD
	Caule externo	<LD	<LD	0,20±0,34	0,57±0,98	<LD	<LD
	Folhas	1,52±0,61	2,56±0,91	6,16±2,25	4,92±2,91	0,81±1,40	2,19±1,48
	Raízes	0,02±0,03	<LD	0,44±0,25	0,01±0,01	<LD	<LD

LD – Limite de detecção

Não se observaram variações nos teores de cobre dos caules internos, dos caules externos e das folhas devido à contaminação dos solos (respectivamente,  $P=0,87$ ,  $P=0,063$ ,  $P=0,40$ , ANOVA). Não se verifica, portanto, que a fracção aérea do kenaf acumule significativamente mais cobre do que a fracção aérea dos ensaios testemunha, devido à aplicação de cobre. A aplicação de Zn, Cr, Cd e Hg, também não afectou os teores de cobre da fracção aérea do kenaf (face aos resultados obtidos na fracção aérea do ensaio testemunha).

No entanto, em relação ao teor de cobre nas raízes, a variação devida à contaminação dos solos é estatisticamente significativa ( $P=5,2 \times 10^{-7}$ , ANOVA). Nos vasos contaminados com cobre as raízes bioacumularam uma concentração de cobre significativamente superior à observada nas raízes dos ensaios testemunha. A aplicação de Cr, Cd e Hg, ao solo, não afectou os teores de Cu das raízes (face aos resultados obtidos nas raízes do ensaio testemunha). No entanto, a aplicação de Zn ao solo, afectou os teores de Cu das raízes (face

aos resultados obtidos nas raízes do ensaio testemunha). Neste caso, a aplicação de Zn ao solo conduziu a uma diminuição da acumulação de Cu pelas raízes de kenaf. A **Figura 4.38** ilustra este resultado.



**Figura 4.38:** Teor de cobre (mg/kg) das raízes no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

As folhas são a fracção das plantas que apresenta maiores teores de cobre. Os caules apresentam teores inferiores aos das folhas e semelhantes entre si. As raízes apresentam um teor de cobre significativamente inferior ao observado na parte aérea.

#### 4.4.4.5. Teor de Crómio

O teor de crómio de cada variedade foi analisado nas várias partes que constituem a planta, caule interno, caule externo, folhas e raízes. O **Quadro 4.13** apresenta os resultados obtidos relativos ao teor de crómio das plantas de kenaf, no fim do estudo experimental.

Verificaram-se variações significativas entre variedades em termos dos teores de crómio do caule interno, do caule externo, das folhas e das raízes (respectivamente,  $P=2,0 \times 10^{-5}$ ,  $P=5,7 \times 10^{-8}$ ,  $P=0,0018$ ,  $P=0,00023$ , ANOVA). A variedade Everglades 41 é a que acumula mais

crómio nos caules internos e externos, a variedade G4, é a que acumula mais crómio nas folhas e a variedade Tainung 2, é a que acumula mais crómio nas raízes.

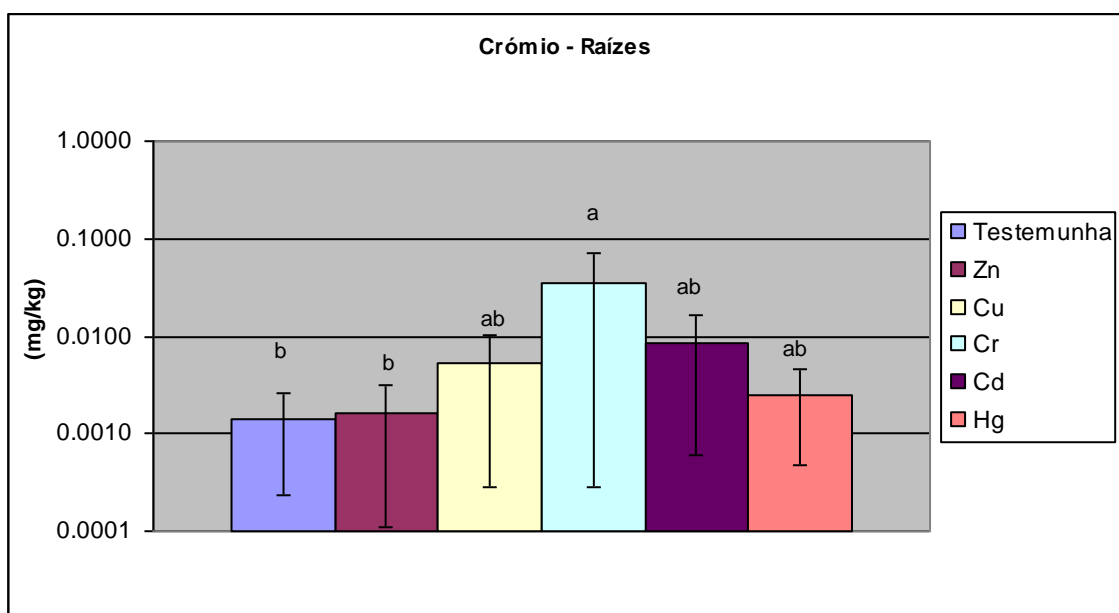
**Quadro 4.13:** Teor de Crómio (mg/kg, ms) nas plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

		Testemunha	Zn	Cu	Cr	Cd	Hg
<b>Tainung 2</b>	Caule interno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Caule externo	0,05±0,09	<LD	0,08±0,15	0,27±0,28	<LD	<LD
	Folhas	1,2±1,0	2,2±2,5	0,87±0,21	1,23±0,39	0,55±0,53	0,12±0,16
	Raízes	<LD	<LD	0,02±0,01	0,10±0,03	0,04±0,04	0,01±0,01
<b>Everglades 41</b>	Caule interno	0,24±0,42	0,87±0,59	0,25±0,07	0,74±0,89	0,11±0,11	0,33±0,22
	Caule externo	0,12±0,13	0,78±0,97	0,50±0,44	1,06±0,16	0,71±0,51	0,77±1,02
	Folhas	0,59±0,76	1,2±1,1	1,37±0,90	0,92±0,58	<LD	0,08±0,15
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>Gregg</b>	Caule interno	0,20±0,29	0,31±0,27	0,21±0,23	0,56±0,70	<LD	<LD
	Caule externo	<LD	0,36±0,62	0,16±0,28	0,29±0,45	<LD	0,03±0,06
	Folhas	1,47±0,06	1,0±1,2	0,15±0,13	0,52±0,90	<LD	<LD
	Raízes	<LD	<LD	<LD	0,03±0,01	<LD	<LD
<b>G4</b>	Caule interno	0,02±0,03	0,09±0,08	<LD	0,02±0,03	<LD	<LD
	Caule externo	0,09±0,16	0,16±0,28	<LD	0,14±0,20	<LD	0,15±0,25
	Folhas	0,08±0,10	<LD	<LD	0,40±0,55	11,7±3,1	11,5±4,3
	Raízes	<LD	<LD	<LD	0,02±0,01	<LD	<LD
<b>Dowling</b>	Caule interno	<LD	<LD	0,02±0,03	<LD	0,07±0,12	0,08±0,11
	Caule externo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Folhas	<LD	0,12±0,20	0,11±0,20	<LD	<LD	<LD
	Raízes	<LD	<LD	<LD	0,03±0,01	<LD	<LD

LD – Limite de detecção

Não se observaram variações nos teores de crómio dos caules internos, dos caules externos e das folhas devido à contaminação dos solos (respectivamente,  $P=0,50$ ,  $P=0,70$ ,  $P=0,81$ , ANOVA). Não se verifica, portanto, que a fracção aérea do kenaf acumule significativamente mais crómio do que a fracção aérea dos ensaios testemunha, devido à aplicação de crómio. A aplicação de Zn, Cu, Cd e Hg, também não afectou os teores de crómio da fracção aérea do kenaf (face aos resultados obtidos na fracção aérea do ensaio testemunha).

No entanto, em relação ao teor de crómio nas raízes, a variação devida à contaminação dos solos é estatisticamente significativa ( $P=0,028$ , ANOVA). Nos vasos contaminados com crómio as raízes bioacumularam uma concentração de crómio significativamente superior à observada nas raízes dos ensaios testemunha. A aplicação de Zn, Cu, Cd e Hg, ao solo, não afectou os teores de Cr das raízes (face aos resultados obtidos nas raízes do ensaio testemunha). A **Figura 4.39** ilustra este resultado.



**Figura 4.39:** Teor de crómio (mg/kg) das raízes no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

As folhas são a fracção das plantas que apresenta maiores teores de crómio. Os caules apresentam teores inferiores aos das folhas e semelhantes entre si. As raízes apresentam um teor de crómio significativamente inferior ao observado na parte aérea.

#### 4.4.4.6. Teor de Cádmio

O teor de cádmio de cada variedade foi analisado nas várias partes que constituem a planta, caule interno, caule externo, folhas e raízes. O **Quadro 4.14** apresenta os resultados obtidos relativos ao teor de cádmio das plantas de kenaf, no fim do estudo experimental.

Em qualquer das fracções das plantas não foram observadas variações significativas entre variedades, em termos dos teores de cádmio ( $P_{\text{caule interno}}=0,20$ ,  $P_{\text{caule externo}}=0,59$ ,  $P_{\text{folhas}}=0,90$ ,  $P_{\text{raízes}}=0,97$ , ANOVA).

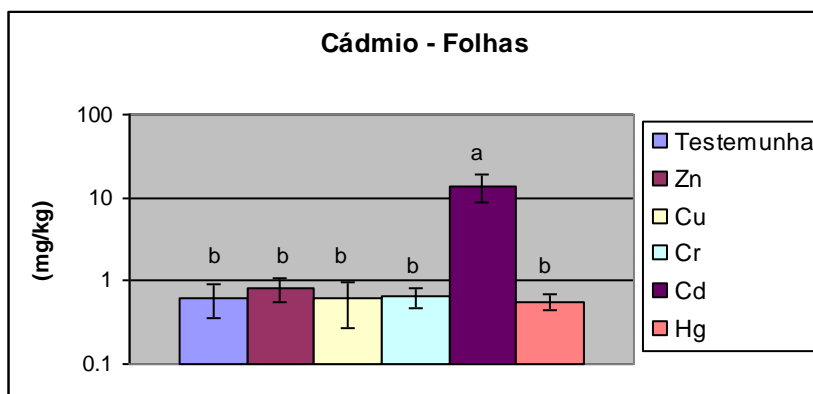
No entanto, em relação ao teor de cádmio no kenaf, a variação devida à contaminação dos solos é estatisticamente significativa para todas as fracções da planta ( $P_{\text{caule interno}}=5,6 \times 10^{-6}$ ,  $P_{\text{caule externo}}=1,1 \times 10^{-8}$ ,  $P_{\text{folhas}}=2,3 \times 10^{-10}$ ,  $P_{\text{raízes}}=7,7 \times 10^{-19}$ , ANOVA). Nos vasos contaminados com cádmio todas as fracções da planta bioacumularam uma concentração de

cádmio significativamente superior à observada nas plantas dos ensaios testemunha. Isto mostra que o cádmio é um elemento muito facilmente mobilizável da parte radicular para a parte aérea da planta. A aplicação de Zn, Cu, Cr e Hg, ao solo, não afectou os teores de Cd das plantas (face aos resultados obtidos nas plantas do ensaio testemunha). A **Figura 4.40** ilustra este resultado para as folhas do kenaf.

**Quadro 4.14:** Teor de Cádmio (mg/kg, ms) nas plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

		Testemunha	Zn	Cu	Cr	Cd	Hg
<b>Tainung 2</b>	Caule interno	0,02±0,03	<LD	0,07±0,12	<LD	0,58±0,16	<LD
	Caule externo	0,31±0,03	0,11±0,06	0,15±0,05	0,31±0,15	5,16±0,33	0,09±0,08
	Folhas	0,91±0,14	1,20±0,36	0,78±0,11	0,86±0,24	18,1±1,9	0,43±0,04
	Raízes	0,01±0,00	<LD	0,01±0,00	0,01±0,00	0,09±0,01	<LD
<b>Everglades 41</b>	Caule interno	0,02±0,03	0,19±0,13	0,20±0,09	0,27±0,07	1,42±0,81	0,18±0,03
	Caule externo	0,34±0,30	0,41±0,14	0,38±0,07	0,38±0,23	2,7±1,6	0,34±0,26
	Folhas	0,63±0,03	0,84±0,78	1,97±0,38	0,67±0,15	11,6±3,6	0,62±0,06
	Raízes	<LD	<LD	0,01±0,00	<LD	0,07±0,02	<LD
<b>Gregg</b>	Caule interno	0,03±0,02	0,02±0,04	<LD	0,06±0,06	0,88±0,78	0,10±0,10
	Caule externo	0,26±0,10	0,37±0,12	0,38±0,21	0,33±0,10	3,0±2,9	0,09±0,10
	Folhas	0,63±0,03	0,79±0,04	0,82±0,59	0,66±0,33	8,8±4,3	0,74±0,13
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	0,09±0,08	<LD
<b>G4</b>	Caule interno	0,07±0,08	<LD	0,64±0,30	0,22±0,03	2,6±1,4	0,19±0,16
	Caule externo	0,23±0,23	0,07±0,11	0,09±0,11	0,30±0,03	3,41±0,26	0,02±0,03
	Folhas	0,36±0,37	0,52±0,12	0,09±0,07	0,36±0,23	20,1±0,0	0,50±0,28
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	0,07±0,04	<LD
<b>Dowling</b>	Caule interno	0,05±0,09	0,10±0,13	0,31±0,11	0,02±0,03	1,99±0,74	0,13±0,04
	Caule externo	0,19±0,18	0,23±0,20	0,25±0,22	0,39±0,55	6,92±0,89	0,21±0,07
	Folhas	0,34±0,07	0,66±0,15	0,44±0,17	0,65±0,18	10,8±2,2	0,54±0,17
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	0,07±0,00	<LD

LD – Limite de detecção



**Figura 4.40:** Teor de cádmio (mg/kg) das folhas no final do ensaio entre os tratamentos com os diferentes metais e o tratamento testemunha (colunas com letras diferentes indicam médias significativamente diferentes).

As folhas são a fracção das plantas que apresenta maiores teores de cádmio. Os caules apresentam teores inferiores aos das folhas, bioacumulando os caules externos mais cádmio do que os caules internos. As raízes apresentam um teor de cádmio significativamente inferior ao observado na parte aérea.

#### 4.4.4.7. Teor de Mercúrio

O teor de mercúrio de cada variedade foi analisado nas várias partes que constituem a planta, caule interno, caule externo, folhas e raízes. O **Quadro 4.15** apresenta os resultados obtidos relativos ao teor de mercúrio das plantas de kenaf, no fim do estudo experimental.

**Quadro 4.15:** Teor de Mercúrio (mg/kg, ms) nas plantas de Kenaf, no final do ensaio, para as diferentes variedades em estudo e para os diferentes tratamentos (diferentes metais e testemunha).

		Testemunha	Zn	Cu	Cr	Cd	Hg
<b>Tainung 2</b>	Caule interno	0,05±0,05	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Caule externo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Folhas	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,20±0,09
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>Everglades 41</b>	Caule interno	<LD	0,24±0,03	<LD	<LD	<LD	0,03±0,06
	Caule externo	<LD	0,15±0,13	<LD	<LD	<LD	0,02±0,03
	Folhas	0,23±0,08	<LD	<LD	0,15±0,26	<LD	0,07±0,00
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>Gregg</b>	Caule interno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Caule externo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Folhas	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,13±0,12
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>G4</b>	Caule interno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,07±0,03
	Caule externo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,15±0,09
	Folhas	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,09±0,03
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>Dowling</b>	Caule interno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,47±0,07
	Caule externo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,08±0,04
	Folhas	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,06±0,01
	Raízes	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD

LD – Limite de detecção

Em qualquer das fracções das plantas não foram observadas variações significativas entre variedades, em termos dos teores de mercúrio ( $P_{\text{caule interno}}=0,19$ ,  $P_{\text{caule externo}}=0,19$ ,  $P_{\text{folhas}}=0,097$ ,  $P_{\text{raízes}}=0,35$ , ANOVA).

Não se observaram variações nos teores de mercúrio dos caules internos e dos caules externos devido à contaminação dos solos (respectivamente,  $P=0,33$ ,  $P=0,20$ , ANOVA). Não se verifica, portanto, que os caules do kenaf acumulem significativamente mais mercúrio do que os caules dos ensaios testemunha, devido à aplicação de mercúrio. A aplicação de Zn, Cu, Cd e Cr, também não afectou os teores de mercúrio dos caules do kenaf (face aos resultados obtidos nos caules do ensaio testemunha).

No entanto, em relação ao teor de mercúrio nas folhas e nas raízes, a variação devida à contaminação dos solos é estatisticamente significativa (respectivamente,  $P=0,031$ ,  $P=4,9 \times 10^{-6}$ , ANOVA). Nos vasos contaminados com mercúrio, as folhas bioacumularam uma concentração de mercúrio superior à observada nas folhas dos ensaios testemunha, embora essa diferença não seja estatisticamente significativa. Nos vasos contaminados com mercúrio, as raízes bioacumularam uma concentração de mercúrio significativamente superior à observada nas raízes dos ensaios testemunha. A aplicação de Zn, Cu, Cd e Cr, ao solo, não afectou os teores de Hg das folhas e das raízes (face aos resultados obtidos nas folhas e nas raízes do ensaio testemunha).

As folhas são a fracção das plantas que apresenta maiores teores de mercúrio. Os caules apresentam teores inferiores aos das folhas, bioacumulando os caules internos mais mercúrio do que os caules externos. As raízes apresentam um teor de mercúrio significativamente inferior ao observado na parte aérea.

#### **4.4.4.8. Teores de azoto, fósforo, cálcio, magnésio, potássio, sódio, ferro, manganésio, níquel e chumbo**

Os teores de azoto, fósforo, cálcio, magnésio, potássio, sódio, ferro, manganésio, níquel e chumbo das plantas foi analisado nas várias partes que constituem a planta, caule interno, caule externo, folhas e raízes. O **Quadro 4.16** apresenta esses resultados obtidos no fim do estudo experimental. Estes resultados representam os valores médios obtidos nas diversas variedades em estudo e nos diversos tratamentos efectuados com os metais pesados e nos ensaios testemunha.

**Quadro 4.16:** Teores de Azoto, de Fósforo, Cálcio, Magnésio, Potássio, Sódio, Ferro, Manganésio, Níquel e Chumbo das plantas de Kenaf, no final do ensaio.

	Caule interno	Caule externo	Folhas	Raízes
Azoto (% , ms)	0,55±0,26	0,89±0,32	2,1±1,1	0,61±0,15
Fósforo (mg/kg, ms)	66±29	99±21	102±18	78±19
Ca (% , ms)	0,56±0,28	1,00±0,42	1,57±0,73	92±55*
Mg (% , ms)	0,25±0,11	0,39±0,12	0,42±0,14	31±16*
K (% , ms)	3,0±2,0	4,9±3,6	3,2±1,9	128±71*
Na (% , ms)	0,54±0,72	0,46±0,45	0,41±0,43	112±82*
Fe (mg/kg, ms)	39±61	66±66	194±111	2,4±2,2
Mn (mg/kg, ms)	17±8	36±15	220±91	0,29±0,17
Ni (mg/kg, ms)	0,20±0,53	0,36±1,2	0,45±1,4	0,007±0,014
Pb (mg/kg, ms)	0,05±0,36	0,011±0,077	< LD	< LD

\* - em mg/kg, ms; LD – Limite de detecção

De uma forma geral pode afirmar-se que a contaminação dos solos com Zn, Cu, Cr, Cd e Hg não influenciou os teores de N, P, Ca, Mg, K, Na, Fe, Mn, Ni e Pb nas diversas fracções das plantas de kenaf. Entre variedades observaram-se variações significativas em termos dos teores de N, P, Ca, Mg, K, Na, Fe, Mn, Ni e Pb, o que apenas reflecte as características genéticas próprias de cada uma das variedades. Em relação à maioria dos elementos estudados, verifica-se que são as folhas que maior acumulação apresentam. As raízes são a fracção da planta que menor acumulação apresenta. Entre os dois caules, são os caules externos que apresentam, para a maioria dos elementos estudados, uma maior acumulação.

#### 4.4.5. Capacidade fitoextractora de metais

Verificou-se, no ponto 5.4.3, que as variedades mais promissoras em termos de produtividade eram a Tainung 2, para solos contaminados com Cu, Cr e Cd, a variedade Dowling para solos contaminados com Zn e a variedade Everglades 41 para solos contaminados com Hg. Mas em termos de quantidade de metal fitoextraído?

O **Quadro 4.17** apresenta os resultados da quantidade de metal extraído por cada variedade, pela parte aérea, no final do estudo experimental, para cada tratamento.

**Quadro 4.17:** Quantidade de metal extraído por cada variedade, pela parte aérea, no final do estudo experimental, para cada tratamento (em mg/m<sup>2</sup>).

	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>Cr</b>	<b>Cd</b>	<b>Hg</b>
<b>Tainung 2</b>	137	1,65	0,155	3,40	0,022
<b>Everglades 41</b>	225	1,23	0,510	2,15	0,027
<b>Gregg</b>	119	0,02	0,191	1,88	0,020
<b>G4</b>	134	1,24	0,068	2,22	0,062
<b>Dowling</b>	131	0,34	0,000	2,34	0,138

De acordo com estes resultados, a variedade Tainung 2 é a mais eficaz na fitoextração de iões Cu e Cd do solo, a variedade Everglades 41, a mais eficiente na remoção de iões Zn e Cr do solo e a variedade Dowling a mais eficiente na remoção de iões Hg do solo.

## 5. CONCLUSÕES

O kenaf revelou uma elevada tolerância à contaminação dos solos com cobre, crómio, cádmio e mercúrio, mas uma baixa tolerância à contaminação com zinco. Este facto significa que o kenaf poderá crescer em campos contaminados com cobre, crómio, cádmio e mercúrio sem que se verifique uma redução em termos da sua produtividade e, conseqüentemente, no seu valor económico. O kenaf também poderá crescer em campos contaminados com zinco, mas apenas se o propósito do seu crescimento for a remediação dos solos, uma vez que em termos económicos poderá não ser viável devido à redução das suas produtividades. Num plano comercial, a variedade que apresentou melhores características em termos de produtividade, para ser utilizada na remediação de metais pesados é a Tainung 2, sobretudo em solos contaminados com Cu, Cr e Cd. A variedade Dowling foi a variedade mais produtiva em solos contaminados com Zn e a variedade Everglades 41 foi a variedade mais produtiva em solos contaminados com Hg.

De um modo geral, o kenaf tem a capacidade de remover e acumular metais pesados provindos de solos contaminados, tendo-se verificado que quando a contaminação é devida a cobre, crómio e mercúrio, a maior porção destes metais fica retida nas raízes. Quando a contaminação é devida a zinco ou cádmio, os metais acumulam-se não só na fracção radicular mas também na fracção aérea. Este facto não influencia a potencialidade da valorização da biomassa obtida nos campos contaminados, para energia ou para fibra. Com efeito, não se verificaram variações no poder calorífico da biomassa ou do teor em fibra devido à aplicação dos metais estudados no solo, o que constitui um incremento ao seu valor económico e justifica a sua utilização no tratamento de solos contaminados com teores de contaminação semelhantes aos ensaiados neste estudo. A variedade Tainung 2 foi a mais eficaz na fitoextração de iões Cu e Cd do solo, a variedade Everglades 41, a mais eficiente na remoção de iões Zn e Cr do solo e a variedade Dowling a mais eficiente na remoção de iões Hg do solo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamson, W.C., White, A., Higgins, J.J. (1972) A variation in leaf development and dry matter yield among kenaf varieties and introductions. *Crop Science*, **12**, 341-343.
- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A. e Dauvillier, P. (2000) *Análisis nutricional de los alimentos*. Tradução espanhola. Editorial Acribia, S.A., Saragoça, Espanha, 292 p.
- Alexopoulou, E. (2003) *Literature review, Biokenaf Project*, Athens, Greece, 25 p.
- Alexopoulou, E., Cosentino, S.L., Danalatos, N., Veccheit, M., Venturi, G., Fernando, A.L., Tenorio, J.L., Gosse, G., Lips, S., van Berg, D., Cook, S. (2007) Final Results from the Biokenaf Network. In: Maniatis, K, Grimm, H.P., Helm, P., Grassi, A. (eds) *Proceedings of the 15<sup>th</sup> European Biomass Conference & Exhibition, From Research to Market Development - 7-11 Maio 2007*, ICC, Berlim, Alemanha, ETA-Renewable Energies and WIP-Renewable Energies, OD 1.5-p Presentation (ISBN 978-88-89407-59-X and ISBN 3-936338-21-3).
- Anderson, T.A., Guthrie, E.A. e Walton, B.T. (1993) Bioremediation. *Environmental Science Technology*, **27** (13), 2630-2636.
- AOAC (1990) *Official Methods of Analysis. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs*. Volume I, 15<sup>th</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, EUA, 1213 p.
- APHA, AWWA e WPCF (1985) *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 16<sup>th</sup> Ed. American Public Health Association, American Water Works Association e Water Pollution Control Federation, Washington D.C., EUA, 1268 p.
- Ardente, F., Beccali, M., Cellura, M., Mistretta, M. (2008) Building energy performance: A LCA case study of kenaf-fibres insulation board. *Energy and Buildings*, **40**, 1-10.
- Arduini, A., Masoni, A., Mariotti, M., Ercoli, L. (2004) Low cadmium application increase *Miscanthus* growth and cadmium translocation. *Environmental and Experimental Botany*, **52**, 89-100.
- Baize, D. (2000) *Guide des analyses en pedologie*. 2<sup>a</sup> Edição, revista e aumentada. INRA editions, Paris, França, 257 p.
- Belocchni, A., Quaranta, F., Desiderio, E. (1998) Yield and adaptability of kenaf varieties (*Hibiscus cannabinus* L.) for paper pulping in Central Italy. *Sustainable Agriculture for Food, Energy and Industry*, James & James (Science Publishers) Ltd, pp 1039-1049.
- Borazjani, A., Diehl, S. (1994). Kenaf core as an enhancer of bioremediation. In: Goforth, C. E., Fuller, M. J. (Eds.), *A summary of kenaf production and product development research, 1989-1993*. Mississippi agriculture and forestry experiment station bulletin 1011. Mississippi state university, 26-27.
- Browning, B.L., (1967) *Methods of Wood Chemistry*, **Vol. I** , Interscience, New York.

- Burcham, T.N., Jones, J.M., Columbus, E.P., Zappi, M.E. (1999). Kenaf Medium Bioreactor Treatment System (KMBTS). *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Annual Conference of the American Kenaf Society*, 1-15.
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S. e Baker, A.J.M., (1997) Phytoremediation of soil metals. *Current Opinions in Biotechnology*, **8**, 279-284.
- Chow, P., Bajwa, D.S., Lu, W., Youngquist, J.A., Stark, N.M., Li, Q., English, B., Cook, C.G. (1998) Injection-molded composites from kenaf and recycled plastic. *Proceedings of the 1<sup>st</sup> Annual Conference of the American Kenaf Society*, 38-42.
- Chow, P., Bowers, T., Bajwa, D.S., Youngquist, J.A, Muehl, J.H., Krzysik, A.M., Cook, C.G. (1999) Mechanical holding power of melt-blend boards made from recycled plastic. *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Annual Conference of the American Kenaf Society*, 31-36.
- Choi, H., Cloud, R.M. (1992) Natural sorbents in oil spill cleanup. *Environmental Science and Technology*, **26**, 772 – 776.
- Cook, C.G., Scott, A.W. (1995) Registration of “SF459” kenaf, *Crop Science*, **35**, 1712.
- Cook, J. (1960) *Handbook of textile fibers*, Merrow Publishers, Watford, Reino Unido.
- Costa, J.V.B. (1999) *Caracterização e Constituição do Solo*. 6<sup>a</sup> Ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 527 p.
- Cunningham, S.D., Ow, D.W. (1996) Promises and Prospects of Phytoremediation. *Plant Physiology*, **110**, 715-719.
- Debnath M., Verma H. N.,(2008) Effect of phytoprotein treatment on *Jatropha curcas* for wasteland reclamation. *African Journal of Biotechnology*, Vol. **7** (5), pp. 613-616.
- Decreto Lei nº 236/98 (1998) Normas, critérios e objetivos de qualidade com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos, *Diário da República* nº **176**, I Série-A, 1 de Agosto 1998, pp 3676-3722.
- Domingues, H.L.B.R.C. (1999) *Comportamento de metais pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) em Solos tratados com lamas residuais urbanas*. Dissertação de Doutoramento, FCT/UNL, Lisboa, 280 p.
- Dushenkov, V., Kumar, P.B.A.N., Motto, H. e Raskin, I. (1995) Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environmental Science Technology*, **29** (5), 1239-1245.
- Dyckhoff, C., Halliwell, L., Haynes, R. e Watts, S. (1996) Sampling. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 31-66.
- El Bassam, N. (1998) *Energy plant species*. James & James (Science Publishers) Ltd, Londres, Reino Unido, 321 pp.
- FAO (2003) Commodities and Trade Technical Paper 1 - Medium term prospects for agricultural commodities. *Projections to the year 2010*, Roma, Itália.
- Fernando, A. (2008) *Comunicação pessoal*.

- Fernando, A., Duarte, M.P., Morais, J., Catroga, A., Serras, G., Lobato, N., Mendes, B., Oliveira, J.F.S. (2007) *Final report of FCT/UNL to the Biokenaf project*, FCT/UNL, Lisbon, Portugal, 44 p.
- Fernando, A., Duarte, P., Morais, J., Catroga, A., Serras, G., Lobato N., Mendes, B., Oliveira, J. F. S. (2007a) Characterization of Kenaf potential in Portugal as an industrial and energy feedstock – the effect of different varieties, sowing dates, plant populations and different harvest dates, results from three experimental years. In: Maniatis, K, Grimm, H.P., Helm, P., Grassi, A. (eds) *Proceedings of the 15<sup>th</sup> European Biomass Conference & Exhibition, From Research to Market Development - 7-11 Maio 2007*, ICC, Berlim, Alemanha, ETA-Renewable Energies and WIP-Renewable Energies, pp 701-705 (ISBN 978-88-89407-59-X and ISBN 3-936338-21-3).
- Fernando, A., Duarte, P., Morais, J., Catroga, A., Serras, G., Lobato N., Mendes, B., Oliveira, J. F. S. (2007b) Characterization of Kenaf potential in Portugal as an industrial and energy feedstock – the effect of irrigation and nitrogen fertilization, results from four experimental years. In: Maniatis, K, Grimm, H.P., Helm, P., Grassi, A. (eds) *Proceedings of the 15<sup>th</sup> European Biomass Conference & Exhibition, From Research to Market Development - 7-11 Maio 2007*, ICC, Berlim, Alemanha, ETA-Renewable Energies and WIP-Renewable Energies, pp 772-776 (ISBN 978-88-89407-59-X and ISBN 3-936338-21-3).
- Fernando, A., Fernandes, J.P.A. e Oliveira, J.F.S. (2001) Comparative evaluation of European methods for sampling and sample preparation of soils – the Portuguese contribution. *Sci. Total Environ.*, **264**, 181-186.
- Fernando, A.L.A.C. (2005) *Fitorremediação por Miscanthus x giganteus de solos contaminados com metais pesados*, dissertação de Doutoramento, FCT/UNL, Lisboa, 502 p.
- Fernando, A.L., Oliveira, J.F.S. (2004) Fitorremediação de solos contaminados com metais pesados – Mecanismos, vantagens e limitações, *Biologia Vegetal e Agro-Industrial*, **1**, 103-114.
- Fitter, A.H. e Hay, R.K.M. (1989) *Environmental Physiology of Plants*. 2ª edição. Academic Press, Londres, Reino Unido. 423 p.
- Fried, R. (1999) Kafus Environmental Industries: producing Forestry Products without trees. *Corporate Environmental Strategy*, **6**, 4, 378-386.
- Fuwape, J.A. (1993) Paper from kenaf fibre. *Bioresource Technology*, **43**, 113-115.
- Gardner, W. (1998) *Phytoremediation*. <http://www.rr.ualberta.ca/courses/rehr575/phytomain.htm>.
- Goldsbrough, P. (2000) Metal tolerance in plants: the role of phytochelatins and metallothioneins. *Phytoremediation of contaminated soil and water*, Eds N. Terry e G. Bañuelos, Lewis Publishers, Boca Raton, EUA, pp 221-233.

- Grandall, B. S. (1994) Performance of kenaf varieties under varying climatic conditions. In: *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Kenaf Conference*, Palmbeach, Florida, 1, 202-206.
- Haigh, M e Dyckhoff, C. (1996) Soils. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 261-303.
- Hovermale, C.; Louis, D. S. (1999). Grazing kenaf in South Mississippi. *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Annual Conference of the America Kenaf Society*, 50-57.
- Huang, J.W., Chen, J., Berti, W.R. e Cunningham, S.D. (1997) Phytoremediation of Lead-contaminated Soils: Role of Synthetic Chelates in Lead Phytoextraction. *Environmental Science Technology*, **31** (3), 800-805.
- Hurse, L., Bledsoe R. E.. (1990) Kenaf Grown as a Forage Crop in Northern Texas. In: *Kenaf Research, Development and Commercialization*. Proc. from the Association for the Advancement of Industrial Crops. Annual Conference, Peoria, Illinois, pp. 13.
- Ikeda, T., Sakai, D., Kiuchi, Y., Inoue, Y. (1999) Phyto-remediation of eutrophic water by kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) and their utilizations. *J Adv Sci*, **11**, 117-118.
- Inagaki, H., Yamanda, C., Naakano, F. (1999). Dyeing of cloth with the kenaf flower. *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Annual Conference of the American Kenaf Society*, 65-71.
- ISO 5666-1 (1983) *Water quality – Determination of total mercury by flameless atomic absorption spectrometry – Part 1: Method after digestion with permanganate-peroxodisulfate*.
- ISO 5667-3 (1985) *Water quality – Sampling - Part 3: Guidance on the preservation and handling of samples*.
- ISO 5961 (1994) *Water quality – Determination of cadmium by atomic absorption spectrometry*.
- ISO 7980 (1986) *Water quality – Determination of calcium and magnesium – Atomic absorption spectrometric method*.
- ISO 8288 (1986) *Water quality – Determination of cobalt, nickel, copper, zinc, cadmium and lead – Flame atomic absorption spectrometric methods*.
- ISO 9174 (1990) *Water quality – Determination of total chromium – Atomic absorption spectrometric methods*.
- ISO 9964 (1993) *Water quality – Determination of sodium and potassium*.
- ISO 11466 (1995) *Soil Quality – Extraction of trace metals soluble in aqua regia*.
- Jenkins, P., Southern, T., Truesdale, V., e Jeary, A. (1996) Waters. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 305-350.
- Kemble, L. J., Krishnan, P., Henning, K. J., Tilmon, H. D. (2002) Development and Evaluation of Kenaf Harvesting Technology, *Biosystems Engineering*, **81** (1), 49-56.

- Kugler, D.E. (1988) *Kenaf newsprint: realizing commercialization of a new crop after four decades of research and development, a report on the kenaf demonstration project*. USDA-CSRS, Washington, D.C., 13 p.
- Kumar G.P., Yadav S.K., Thawale P.R., Singh S.K., Juwarkar A.A. (2008) Growth of *Jatropha curcas* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and *Azotobacter* – A greenhouse study. *Bioresource Technology*, **99**, 2078–2082.
- Kumar, P.B.A.N., Dushenkov, V., Motto, H. e Raskin, I. (1995) Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science Technology*, **29** (5), 1232-1238.
- Lee, S. A., Eiteman, M. A. (2001) Ground kenaf core as a filtration aid. *Industrial crops and products*, **13**, 155-161.
- Lewandowski, I., Clifton-Brown, J.C, Scurlockc, J.M.O., Huismand, W. (2000) *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop. *Biomass and Bioenergy*, **19**, 209-227.
- Lips, S. (2007) *Final report of A & F*, Biokenaf Project, 52 p.
- Lips, S.J.J., de Heredia, G.M.I, Op den Kamp, R.G.M., van Dam, J.E.G. (2009) Water absorption characteristics of kenaf core to use as animal bedding material, *Industrial crops and products*, **29**, 73–79.
- Liu, Y. (2005) *Diallel and stability analysis of Kenaf (Hibiscus cannabinus L.) in South Africa*. Dissertação de Mestrado, Bloemfontein, África do Sul, 104 p.
- Losure, N., Hudson, J. (1999) Kenaf bast fiber/PVC composites. *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Annual Conference of the American Kenaf Society*, 20-30.
- MEE (1997) *Guideline for use at contaminated sites in Ontario*. Appendix 2 - Table A: Surface soil and groundwater remediation criteria for three land uses (agricultural, residential/parkland and industrial/commercial) in a potable groundwater situation. Ministry of Environment and Energy, Ontario, Canadá, Fevereiro de 1997.
- Mishra, S., Singh, V., Srivastava, S., Srivastava, R., Srivastava, M.M., Dass, S., Satsang, G.P. e Prakash, S. (1995) Studies on uptake of trivalent and hexavalent chromium by maize (*Zea Mays*). *Food Chemical Toxicology*, **33** (5), 393-397.
- Mohamed, A., Bhardwaj, H., Hamama, A. E Webber, C. (1995). Chemical composition of kenaf (*Hibiscus cannabinus L.*) seed oil. *Ind. Crops and Products*, **4**, 157-165.
- Moreno, A. (2003) *Comunicação Pessoal*.
- NP 84 (1965) *Solos. Determinação do teor em água*. 2 p.
- NP 3046 (1990) *Aubos. Determinação do potássio solúvel em ácido clorídrico. Preparação da solução para análise*. 3 p.
- NP 3389 (1986) *Aubos. Determinação do fósforo solúvel nos ácidos minerais. Preparação da solução para análise*. 4 p.
- NP 3646 (1987) *Aubos. Determinação do teor de azoto total. Método volumétrico*. 9 p.

- NP EN 12048 (1998) *Aubos sólidos e correctivos alcalinizantes. Determinação do teor em água. Método gravimétrico por secagem a (105±2)°C (ISO 8190:1992)*. 9 p.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. e Dean, L.A. (1954) *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. United States Department of Agriculture (USDA) Circular 939. U.S. Government Printing Office, Washington D.C., EUA.
- Perry, R.C., Jones, D.E., Bhangoo, M.S. (1993) A preliminary study on kenaf as a feed for livestock. *Proceedings of the 5<sup>th</sup> Annual International Kenaf Association Conference*, Março, 3-5, Fresno (CA), EUA, 45-48.
- Phillips, W. A., Rao, A., Dao, T. (1990) Nutritive Value of Immature Whole Plant Kenaf and Mature Kenaf Tops for Growing Ruminants. In: *Kenaf Research, Development and Commercialization*. Proc. from the Association for the Advancement of Industrial Crops. Annual Conference, Peoria, Illinois, pp. 17-22.
- Portaria 176/96 (1996) Valores-limite da concentração dos metais pesados nas lamas destinadas à agricultura e nos solos receptores e valores-limite das quantidades de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos receptores, *Diário da República* nº **230**, II Série, 3 de Outubro 1996, pp 13789-13790.
- Portaria 177/96 (1996) Regras sobre a análise das lamas destinadas à agricultura e dos solos receptores, *Diário da República* nº **230**, II Série, 3 de Outubro de 1996, pp 13790.
- Rossi, G., Figliolia, A., Socciarelli, S., Pennelli, B., (2002), Capability of *Brassica napus* to Accumulate Cadmium, Zinc and Copper from Soil, *Acta Biotechnol.* **22**, 1-2, 133—140.
- Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J. e Raskin, I. (1995) Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian Mustard. *Plant Physiology*, **109**, 1427-1433.
- Sameshima, K., Cheng, Z., Mazumder, B.B., Sameshima, I., Ohtani, Y. (1999). Development of kenaf activities in Kochi, Japan. *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Annual Conference of the American Kenaf Society*, 72-84.
- Santos, J.Q. (1983) *Fertilizantes, Fundamentos e Aspectos Práticos da sua Aplicação*. Coleção Euroagro, Publicações Europa-América, Lda, 246 p.
- Schat, H., Llugany, M. e Bernhard, R. (2000) Metal-specific patterns of tolerance, uptake, and transport of heavy metals in hyperaccumulating and nonhyperaccumulating metallophytes *Phytoremediation of contaminated soil and water*, Eds N. Terry e G. Bañuelos, Lewis Publishers, Boca Raton, EUA, pp 171-188.
- Schnoor, J.L., Licht, L.A., McCutcheon, S.C., Wolfe, N.L. e Carreira, L.H. (1995) Phytoremediation of Organic and Nutrient Contaminants. *Environmental Science Technology*, **29** (7), 318 A-323 A
- Seca, A.M.L. (1999) *Kenaf (Hibiscus cannabinus): extracção e caracterização estrutural de constituintes alifáticos, fenólicos simples e macromoleculares*, Dissertação de Doutoramento, Universidade de Aveiro, 346 p.

- Sellers, T., Miller, G.D., Fullers, M.J., Broder, J.G., Loper, R. R. (1995) Lignocellulosic based composites made from core and annual agricultural crop. *20<sup>th</sup> IVFRO World Congress, #S5.05-01. Lignocellulosic-based composites*. Tampere, Finland, August 6-12.
- Seth, C. S., Chaturvedi, P. K., Misra, V. (2008) - The role of phytochelatins and antioxidants in tolerance to Cd accumulation in *Brassica juncea* L., *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **71**, 76–85.
- Shanker, K., Mishra, S., Srivastava, S., Srivastava, R., Dass, S., Prakash, S. e Srivastava, M.M. (1996) Effect of selenite and selenate on plant uptake of cadmium by maize (*Zea mays*). *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, **56**, 419-424.
- Sheng, X., Xia J., Jiang, C., He, L., Qian, M. (2008) Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environmental Pollution*, **156**, 1164–1170.
- Suspiro, M.F. (1992) O Kenaf, *Vida Rural*; nº 8, pp 8-10.
- Tomé, F. V., Rodríguez, P. B., Lozano, J.C. (2008) Elimination of natural uranium and <sup>226</sup>Ra from contaminated waters by rhizofiltration using *Helianthus annuus* L.. *Science of The Total Environment*, **3093**, 351 – 357.
- USDA (1988) Kenaf paper – a forest saving alternative. *Agricultural research*, **36**, 6-8.
- van der Lelie, D., Corbisier, P., Diels, L., Gilis, A., Lodewyckx, C., Mergeay, M., Taghavi, S., Spelmans, N. e Vangronsveld, J. (2000) The role of bacteria in the phytoremediation of heavy metals. *Phytoremediation of contaminated soil and water*, Eds N. Terry e G. Bañuelos, Lewis Publishers, Boca Raton, EUA, pp 265-281.
- Van den Berg, D. (2007) *Final report of BTG*, Biokenaf Project, 22 p.
- Vandecasteele, C., Block, C.B. (1993) *Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley & Sons, Chichester, Reino Unido, 330 p.
- Vanek, T., Soudek, P., Tykva, R., Vankova, R. (2006) Accumulation of radioiodine from aqueous solution by hydroponically cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Environmental and Experimental Botany*, **57**, 220–225.
- Van Soest, P. J., Wine, R. H. (1967) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **50**, 50-55.
- Vivas, M.J.C., Augusto, I.G. (1994) O Kenaf (*Hibiscus cannabinus*): Cultura alternativa?, *Melhoramento*, 33 (2), 629-636.
- Watanabe, F.S., Olsen, S.R. (1965) Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO<sub>3</sub> extracts from the soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **29**, 677-78.
- Watanabe, M.E. (1997) Phytoremediation on the Brink of Commercialization. *Environmental Science Technology*, **31** (4), 182 A-186 A

- Watts, S. e Halliwell, L. (1996) Appendix 3 - Detailed field and chemical methods for soil. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 475-505.
- Webber, C.L., Bhardwaj, H.L., Bledsoe, V.K. (2002) Kenaf production: fiber, feed and seed. In: Janick J., Whipkey, A. (eds), *Trends in New Crops and New Uses*, ASHS Press, Alexandria, VA, EUA, pp. 327–339.
- Webber, C. L., Bledsoe, V. K. (2002) Kenaf yield components and plant composition. In: Janick, J., Whipkey, A. (eds), *Trends in New Crops and New Uses*, ASHS Press, Alexandria, VA, EUA, pp 348-357.
- Webber, C. L., Bledsoe, V. K., Bledsoe, R.E. (2002a) Kenaf harvesting and processing. In: Janick, J., Whipkey, A. (eds), *Trends in New Crops and New Uses*, ASHS Press, Alexandria, VA, EUA, pp 340-347.
- Williams, J. B., Burcham, T. N. e Columbus, E. P. (1998). Evaluation of kenaf core as a desiccant. *Proceedings of the 1<sup>st</sup> Annual Conference of the American Kenaf Society*, pp.160.
- Wood, I.M. (1975). KENAF a possible multi-purpose crop for the Ord River Irrigation Area. *Journal of Agriculture Western Australia*, **16** (1) 14-18.
- Wood, I.M. e Jong, S. (1997) Plant fibre crops. In: Hype, K. (ed), *The New Rural Industries. A handbook for Farmers and Investors*. Rural Industries Research & Development Corporation, Australian Government, Austrália, pp. 453-463.

[1] <http://www.itis.usda.gov/servlet/singleRpt/> consultado em Julho de 2007

[2] <http://btgs1.ct.utwente.nl/eeci/archive/biobase/> consultado em Julho de 2007

[3] Bioregen Life Project, University of Teesside, <http://www.bioregen.eu/> consultado em Janeiro de 2009

[4] <http://www.ars.usda.gov/main/main.htm>, consultado em Janeiro de 2009

[5] <http://www.crrel.usace.army.mil/>, consultado em Janeiro de 2009

## ANEXO I

**Quadro AI.1** – Limites de sensibilidade do espectrofotômetro de absorção atômica Unicam Solaar 939.

Elementos	Chama (mg/l)	Atomização electotérmica (pg)	Geração de hidretos (µg/l)
Al	0,34	-	-
As	-	-	0,32
Ca	0,015	-	-
Cd	0,032	0,48	-
Co	0,081	-	-
Cr	0,05	1,3	-
Cu	0,041	-	-
Fe	0,060	-	-
Hg	-	-	1,2
K	0,012	-	-
Mg	0,003	-	-
Mn	0,029	-	-
Na	0,013	-	-
Ni	0,063	5,1	-
Pb	0,10	2,0	-
Sn	0,43	-	-
Zn	0,013	-	-