Investigar os níveis de contaminação do solo em plantas e pólen

Afonso Vieira de Sousa
Mestrado em Ciências e Tecnologia do Ambiente
Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do território
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
2025

Investigar os níveis de contaminação do solo em plantas e pólen

Afonso Vieira de Sousa

Dissertação realizada no âmbito do Mestrado em Ciências e Tecnologia do Ambiente

Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do território

2025

Orientador
Helena Isabel da Costa Ribeiro, Professora Auxiliar, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Coorientador
Ilda da Conceição Abreu de Noronha, Professora Associada Aposentada, Instituto de Ciências da Terra

Coorientador
Joaquim Carlos Gomes Esteves da Silva, Professor Catedrático, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Agradecimentos

Gostaria de manifestar o meu profundo agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização deste trabalho e que sem elas não teria sido possível.

Em primeiro lugar, à professora Helena Ribeiro, a quem agradeço a oportunidade de realizar este trabalho e por todo o conhecimento e a ajuda prestada nas diferentes etapas que constituíram este estudo.

Aos professores Ilda Noronha e Joaquim Esteves, meus coorientadores, por toda a disponibilidade e ajuda.

A todos os trabalhadores e investigadores do laboratório de Palinologia, com especial apreço à Catarina, por toda a boa disposição, aconselhamento e ajuda durante este último ano.

À minha família, por todo o apoio e motivação ao longo da minha vida, por todos os concelhos e carinho nutrido por mim e, também por terem acreditado em mim e em tudo o que faço.

Aos meus amigos, especialmente ao Diogo Silva, que sempre me acompanharam neste percurso da minha vida, e por todos os momentos bem passados e a sincera amizade.

Resumo

O impacto da contaminação dos solos nas plantas, é um tema cuja informação ainda é insuficiente. Algumas evidências sugerem que a exposição a poluentes que se encontrem nos solos podem causar alterações em características vitais das plantas.

O objetivo do nosso estudo foi analisar a qualidade dos solos, particularmente a contaminação por elementos potencialmente tóxicos, e a sua possível influência na composição química das plantas e bioquímica do seu pólen, utilizando *Dactylis glomerata* como espécie alvo

Efetuou-se a amostragem de solos e análise de indicadores físico-químicos (humidade, matéria orgânica, pH, textura, condutividade elétrica, concentração de nitratos, nitritos e amónia, composição elementar) em 6 locais contrastantes de influência de fontes de poluição – tráfego, industrial e rural. Foi avaliada a qualidade do ar nos mesmos locais de amostragem, através da análise temporal das concentrações de poluentes registados em estações de referência da Rede de Monitorização da Qualidade do Ar Portuguesa. Foram recolhidas plantas completas de *Dactylis glomerata* e determinou-se a composição química das suas raízes, inflorescências e anteras por fluorescência de raio-x e análise do perfil polipeptídico.

Os resultados mostram que o teor de matéria orgânica foi mais elevado junto às raízes, o pH do solo variou entre 6 e 8 e a condutividade elétrica entre 16,7-2,7 mS/m. Foram detetados nitratos e amónia, mas não nitritos. A composição química mostrou que os elementos em maiores concentrações são nutrientes para as plantas (Cu, S, CA, K e Fe). As concentrações de elementos potencialmente tóxicos são reduzidas.

A presença de metais pesados nos solos foi superior quando comparada com os diferentes órgãos de *Dactylis* glomerata, mas as raízes encontram-se muito mais enriquecidas que as flores e anteras. No pólen, observam-se diferenças entre os locais de amostragem a nível da concentração de proteínas solúveis e análise do perfil polipeptídico revelou bandas com diferente intensidade de coloração. As bandas mais proeminentes apresentam um peso molecular semelhante aos alergénios principais do pólen de *Dactylis* glomerata (Dac g 1 ≈ 37 kDa, Dac g 4 ≈ 60 kDa e Dac g 5 ≈ 28 kDa).

Os dados da qualidade do ar mostram que os poluentes analisados (PM_{10}, NO_2, O_3, NO_x e NO) encontram-se dentro dos parâmetros limite legislados. Deste modo, pode-se inferir que as diferenças obtidas a nível das plantas de *Dactylis glomerata*, incluindo o pólen, poderão não ser condicionadas pela qualidade do ar do local onde se desenvolvem.

Palavras-chave: Metais pesados, contaminação, solos urbanos, *Dactylis* glomerata, pólen

Abstract

The impact of soil contamination on plants, and especially on pollen, is a topic for which there is still insufficient information. Some evidence suggests that exposure to pollutants found in soils can cause changes in vital characteristics of plants.

The aim of our study was to analyze soil quality, particularly contamination by potential toxic elements and its possible influence on the chemical composition of plants and the biochemistry of their pollen, using Dactylis glomerata as the target species.

Soil sampling and analysis of physicochemical indicators (moisture, organic matter, pH, texture, electrical conductivity, concentration of nitrates, nitrites and ammonia, elemental composition) were carried out in 6 contrasting locations influenced by pollution sources – traffic, industrial and rural. Air quality was assessed at the same sampling sites, through temporal analysis of pollutant concentrations recorded at reference stations of the Portuguese Air Quality Monitoring Network. Complete plants of Dactylis glomerata were collected and the chemical composition of their roots, inflorescences and anthers was determined by X-ray fluorescence and polypeptide profile analysis.

The results show that the organic matter content was higher near the roots, the soil pH varied between 6 and 8 and the electrical conductivity between 16.7-2.7 mS/m. Nitrates and ammonia were detected, but not nitrites. The chemical composition showed that the elements in higher concentrations are nutrients for the plants (Cu, S, Ca, K and Fe). The concentrations of potentially toxic elements are low.

The presence of heavy metals in the soils was higher when compared to the different organs of Dactylis glomerata, but the roots were much more enriched than the flowers and anthers. In the pollen, differences were observed between the sampling sites in terms of the concentration of soluble proteins and analysis of the polypeptide profile revealed bands with different intensity of coloration. The most prominent bands have a molecular weight similar to the major allergens in Dactylis glomerata pollen (Dac g 1 ≈ 37 kDa, Dac g 4 ≈ 60 kDa and Dac g 5 ≈ 28 kDa).
The air quality data show that the pollutants analysed (PM10, NO2, O3, NOx and NO) are within the legal limit parameters. Therefore, it can be inferred that the differences obtained at the level of Dactylis glomerata plants, including pollen, may not be conditioned by the air quality of the place where they grow.

Keywords: heavy metals, contamination, urban soils, *Dactylis* glomerata, pollen

Índice

Lista de Tabelas vi

Lista de Gráficos vii

Lista de Figuras viii

Lista de Abreviaturas e Acrónimos ix

1. Introdução 1

1.1 Motivação 1

1.2 Objetivos 2

1.3 Estruturação da Tese 3

2. Estado de Arte 4

2.1. Solo e uso de solos urbanos 4

2.2. Contaminantes e fontes de poluição 5

2.3 Plantas 8

2.4 Pólen 10

3. Material e Métodos 15

3.1. Locais de estudo 15

3.2. Amostragem dos solos 16

3.3. Pré-Processamento 18

3.4 Análises físico-químicas do solo 19

3.4.1 Humidade residual 19

3.4.2 Determinação da matéria orgânica 19

3.4.3 Avaliação da textura 20

3.4.4 Determinação da condutividade elétrica 21

3.4.5 Determinação do pH 22

3.4.6 Determinação da composição elementar 23

3.4.7 Determinação dos nitratos, nitritos e amónia 23

3.5 Avaliação da *Dactylis glomerata* 24

3.6 Amostragem de pólen 26

3.6.1 Extração do conteúdo proteico 26
3.6.2 Estudo do perfil proteico polínico por SDS-PAGE 27
4. Resultados 28
4.1 Qualidade do solo 28
4.1.1 Humidade residual 28
4.1.2 Teor de matéria orgânica 29
4.1.3 Textura 30
4.1.4 Condutividade elétrica 31
4.1.5 pH do solo 32
4.1.6 Composição elementar do solo 32
4.1.7 Concentração de nitratos, nitritos e amónia 38
4.2 Análise da composição elementar das plantas 39
4.3 Análise do pólen de *Dactylis glomerata* 41
4.4 Avaliação da qualidade do ar 43
5. Discussão 47
6. Conclusão 52
7. Referências Bibliográficas 53

Lista de Tabelas

Tabela 1: Alergénios presentes no pólen das *Pooideae*, subfamília das Poaceae, a que as *Dactylis glomerata* pertencem …….. 12

Tabela 2: Data da realização da amostragem de solos para os locais em estudo …… 17

Tabela 3: Data de realização da amostragem de solos das raízes em cada local …... 17

Tabela 4: Datas da amostragem das *Dactylis glomerata* para cada local …….. 25

Tabela 5: Concentração de nitratos, nitritos e amónia para as amostras de solo dos diversos locais de amostragem ……..……. 39

Tabela 6: Quantificação do conteúdo proteico solúvel do pólen de *Dactylis glomerata* recolhido nos diferentes locais de amostragem ……...41

Tabela 7: Médias dos diferentes poluentes para cada local …….…… 44

Tabela 8: Legislação existente para cada um dos poluentes em análise ……..…… 45

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Grupos de alergénicos das gramíneas segundo a frequência e a potência (adaptado de (Hrabina, Peltre, Van Ree, & Moingeon, 2008)) 13

Gráfico 2: Valores médios da humidade do solo TFSA nos locais de amostragem 28

Gráfico 3: Teor de matéria orgânica nos diferentes locais de amostragem para A) solo total e B) solo na rizosfera da *Dactylis glomerata* 29

Gráfico 4: Condutividade elétrica para os diferentes locais de amostragem para A) solo total e B) solo na rizosfera da *Dactylis glomerata* 31

Gráfico 5: Valores de pH em H_2O e pH em KCl determinados para os 6 locais de amostragem para A) solo total e B) solo na rizosfera da *Dactylis glomerata* 32

Gráfico 6: Concentrações dos elementos químicos em análise presentes nas amostras de solo dos diferentes locais na fração TFSA < 2 mm e na fração < 63 µm. Os elementos Al, Si, P, Cl, S, Ca e Ni medidos em % e os restantes Fe, K, Cr, Mn, Cu, Zn, Hg e Pb em ppm 33

Gráfico 7: Concentrações dos elementos químicos em análise presentes nas amostras de solo da rizosfera de *Dactylis glomerata* nos diferentes locais. Os elementos P, S, Cl e Ca medidos em % e os restantes K, Fe, Mn, Zn e Pb em ppm 37

Gráfico 8: Concentrações dos elementos químicos nos três órgãos da *Dactylis glomerata* em análise (raízes, flores e anteras) em ppb 40

Gráfico 9: Concentrações em µg/m^3 das medianas dos diferentes poluentes (PM_{10}, NO_2, O_3, NO_x e NO) medidos nas diferentes estações de medição da qualidade do ar: Sobreiras, Campanhã, Mindelo e Meco-Perafita, nos anos 2018,2019,2022 e 2023 ... 43

Lista de Figuras

Figura 1: Espigas de *Dactylis glomerata* em diferentes estágios de formação. A) maturação B) deiscência C) senescência ……10

Figura 2: Localização dos locais de amostragem. A) Vairão; B) Pasteleira (pontos à esquerda), Biologia e Planetário (pontos à direita); C) Antas; D) Meco …….. 15

Figura 3: Etapas de pré-processamento: secagem, crivagem, quartilhamento e armazenamento …….. 18

Figura 4: Etapas para a determinação da humidade residual do solo …… 19

Figura 5: Etapas para a determinação do teor de matéria orgânica das amostras de solo …… 20

Figura 6: Etapas para a determinação da textura do solo ……..… 20

Figura 7: Etapas para a medição da condutividade elétrica das amostras de solo ….. 21

Figura 8: Etapas para a determinação do pH nas amostras de solo e solo presente na raizosfera …….. 22

Figura 9: Determinação da composição elementar das amostras de solo …….. 23

Figura 10: Triângulo textural do solo para amostras dos diversos locais em análise ... 30

Figura 11: Resultados do gel SDS-PAGE, corado com a solução azul de Coomassie, para as proteínas solúveis dos extratos de pólen de *Dactylis* glomerata para os diferentes locais em análise com o peso molecular das bandas expressas em kDa (BIO – Biologia; PLA – Planetário; ANT – Antas; PAS – Pasteleira; MEC – Meco; VAI – Vairão) …. 42

Lista de Abreviaturas e Acrónimos

EPT'S	ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS
MPS	METAIS PESADOS
IGE	IMUNOGLOBULINA E
DL	DECRETO-LEI
DE	DIRETIVA EUROPEIA
MO	MATÉRIA ORGÂNICA
TFSA	TERRA FINA SECA AO AR
PH	POTENCIAL DE HIDROGÉNIO
PPM	PARTES POR MILHÃO
PPB	PARTES POR BILIÃO
XRF	X-RAY FLUORESCENCE (FLURESCÊNCIA DE RAIO-X)
TRIS	TRIS(HIDROXIMETIL)AMINOMETANO
PBS	SOLUÇÃO TAMPÃO DE FOSFATO
SDS-PAGE	ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA NA PRESENÇA DE DODECIL SULFATO DE SÓDIO

1. Introdução

1.1 Motivação

Esta dissertação denominada “Investigate soil contamination levels on plants and pollen” foi desenvolvida no âmbito do Mestrado em Ciências e Tecnologia do Ambiente do departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do Território (DGAOT) da Faculdade de Ciências do Porto.

Os solos são a camada superficial da crusta terrestre composta por minerais e matéria orgânica solta e dispersa. Esta fina camada desempenha um papel vital e crucial para a vida no planeta, pois atua como suporte para todos os seres vivos, as plantas e os animais. No entanto, os solos podem estar sujeitos por processos biológicos, físicos e químicos, que afetam as suas propriedades e composição (FAO U. Nations, 2019; van Es, 2017). Estes processos podem ter origem natural ou e resultar de atividades antropogénicas (Soltani-Gerdefaramarzi, Ghasemi et al., 2021).

Entre os fatores naturais, destacam-se a composição mineralógica e litologia da rocha em que o solo se desenvolve. Mas, a proximidade de depósitos minerais pode também influenciar a concentração de elementos e metais pesados nos solos. Por outro lado, os solos urbanos poder sofrer diversos problemas associados a fatores antropogénicos, tal como deposição atmosférica proveniente de diversas fontes como a industrialização o tráfego automóvel, práticas agrícolas entre muitos outras atividades antropogénicas (UNEP., 2021; Werkenthin, Kluge et al., 2014). As atividades humanas originam alterações no solo, provocando fenómenos como erosão, compactação e contaminação, com consequências nas diversas propriedades físicas, biológicas e químicas dos solos (Cachada, 2007).

A contaminação dos solos é um processo que pode constituir um risco muito elevado para a saúde humana e de todos os seres-vivos, pois a degradação dos solos por contaminação, tem como consequência, a redução da fertilidade do suporte de vida dos seus utilizadores (UNEP, 2021).

Os Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT’s) também denominados de metais pesados são um grupo de elementos químicos com propriedades metálicas e que estão presentes naturalmente na crusta terrestre em rochas e sedimentos. Mas, a presença dos mesmos pode ser originária de diferentes vias causadas por atividades humanas, tais como o uso de fertilizantes, processos de atividade industrial, e a gestão e utilização de resíduos (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2021; Silva, 2013; UNEP, 2021).

Os principais metais pesados presentes em solos urbanos incluem o chumbo, cádmio, arsênio, cobre e zinco, existindo também inúmeros outros metais pesados em menores proporções como o mercúrio e o cobalto (Huang et al., 2020; UNEP, 2021). A acumulação de EPT's em zonas urbanas nos solos está relacionada com os gases que são emitidos pelos automóveis e por processos industriais (Podlasek, Vaverková et al., 2024; Silva, 2013).

Na atualidade, embora as cidades ocupem menos de 2% da superfície terrestre, os seus habitantes, consomem cerca de 75% dos recursos naturais disponíveis. Essas áreas urbanas têm vindo a aumentar exponencialmente através do êxodo de populações, das zonas rurais para as cidades, sendo estimado que em 2050, 70% da população mundial residirá em cidades (Salbitano, Borelli et al., 2016). Em Portugal, em 2009, a população residente em zonas urbanas correspondia a 60% da população total, número que as Nações Unidas, preveem que ultrapassar os 80% em 2050 (U. Nations, 2009).

Esta expansão urbanística e desenvolvimento das zonas indústrias e agrícolas têm acarretado diversos problemas ambientais e ecossistémicos no mundo tais como: a contaminação do ar, dos corpos de água e águas subterrâneas e do solo, e consequentemente, causando impactos muito nefastos nas redes tróficas e na teia alimentar.

A acumulação de EPT's em solos urbanos acarreta riscos para a saúde humana associados à exposição através de diversas vias: ingestão, inalação e contacto com a pele, sendo as crianças particularmente vulneráveis devido ao seu comportamento e ao sistema imunitário menos.

1.2 Objetivos

Com este trabalho pretendeu-se analisar a qualidade dos solos urbanos da Área Metropolitana do Porto, particularmente a possível contaminação por elementos potencialmente tóxicos, e a sua possível influência na composição química das plantas e na alergenicidade do pólen, utilizando a *Dactylis glomerata* como espécie-alvo. Esta espécie foi selecionada por ser cosmopolita de crescimento espontâneo e uma das principais produtoras de pólen alergénico a nível mundial.

Os objetivos específicos foram efetuados:

- Amostragem de solos e análise de indicadores físico-químicos em locais contrastantes de influência de fontes de poluição – Tráfego, Industrial e Rural;

- Resumo das condições de qualidade do ar, através da análise temporal das concentrações de poluentes do ar registados em estações de referência da Rede de Monitorização da Qualidade do Ar Portuguesa, sob a jurisdição da Agência Portuguesa do Ambiente (APA);
- Recolha de plantas de *Dactylis glomerata* nos diferentes locais de amostragem e determinação da sua composição química para verificar a influência das características do solo e qualidade do ar na sua constituição;
- Avaliação bioquímica do conteúdo proteico do pólen de *Dactylis glomerata*, para avaliação da influência da qualidade do solo e/ou qualidade do ar na sua alergenicidade.

1.3 Estruturação da Tese

Este documento encontra-se dividido em sete capítulos da seguinte forma:

- Capítulo 1: Introdução – apresenta-se a motivação para o estudo efetuado em que se aponta a contaminação dos solos por elementos potencialmente tóxicos como um severo problema existente na atualidade. Para além disso, apresentam-se os principais objetivos desta dissertação, bem como a sua estrutura.
- Capítulo 2: Estado de Arte – é apresentada a pesquisa bibliográfica sobre os principais temas abordados neste estudo, o solo e o seu uso, os contaminantes e fontes de poluição, as plantas e o pólen.
- Capítulo 3: Material e métodos – é descrita a metodologia realizada para as diversas análises referentes às propriedades físico-químicas dos solos, à determinação da componente elementar inorgânica para as plantas e à análise do pólen através da extração de proteínas e do estudo do perfil proteico por SDS-PAGE.
- Capítulo 4: Resultados – Neste capítulo são apresentados diversos gráficos e figuras remetentes à análise dos solos, das *Dactylis glomerata* e do pólen, bem como da qualidade do ar.
- Capítulo 5: Discussão – interpretação dos resultados e comparação com literatura bibliográfica.
- Capítulo 6: Conclusão – apresentam-se descritas as principais conclusões obtidas após as diversas análises realizadas.
- Capítulo 7: Referências Bibliográficas – encontram-se detalhados todos os documentos consultados para a escrita desta dissertação.

2. Estado de Arte

2.1. Solo e uso de solos urbanos

Os solos são um recurso indispensável e não renovável que produz bens vitais para os ecossistemas e para a existência de vida humana. Cerca 95% da produção alimentar mundial depende diretamente da qualidade dos solos. Por sua vez, os solos também desempenham a função de serem a interface entre a hidrosfera, litosfera, a atmosfera e a biosfera (Cachada, 2007).

Dado que a sua disponibilidade é limitada, ou seja, é necessário que exista a consciencialização para uma boa gestão da utilização deste recurso, visto que, uma má utilização acarreta impactos muito severos, nomeadamente na qualidade ambiental, nas alterações climáticas, na qualidade e saúde humana e nos ecossistemas (EEA, 2020).

As áreas urbanas, onde se concentram a maioria do consumo de recursos e de emissões químicas, representam as zonas mais problemáticas, e um desafio significativo para a conservação dos solos (Cachada, 2007). Muitos fatores associados a essas libertações de produtos químicos estão relacionados com o crescimento das zonas urbanas em que diversas fontes, tais como: a população, o tráfego, as infraestruturas, prédios e indústrias. Essas atividades acarretam riscos e originam uma acumulação excessiva de poluentes em solos urbanos. A utilização desregrada dos solos conduz a alterações, frequentemente, catastróficas e irreversíveis para as paisagens, os ecossistemas e para o ambiente (EEA, 2020).

Segundo as projeções do Banco Mundial, até 2025, a quantidade de resíduos urbanos no nosso planeta irá aumentar em cerca de 70%, quando comparada com a existente em 2012 (Hoornweg, 2012). Este crescimento acentuado de resíduos tem duas causas principais, o exponencial crescimento demográfico que surge interligado ao aumento das zonas urbanizadas (Hoornweg, 2012). Estas previsões mostram uma necessidade urgente de começar a implementar medidas e estratégias, tendo em vista uma gestão sustentável dos resíduos e, assim, pudermos continuar a preservar da qualidade dos solos.

Um dos locais do globo em que os solos estão mais sobre utilizados é o continente europeu, estimando-se uma utilização de cerca de 80% (EEA, 2020). Alguns fatores que propiciam a intensificação do crescente do uso dos solos são o aumento da procura de espaço para construção de habitações e de vias de circulação de meios de transporte

(EEA, 2020). Assim, as diferentes infraestruturas que são necessárias, tais como: os asfaltos nas estradas e o uso de cimento para a construção de edifícios, são grandes condicionantes, pois diminuem a capacidade de os solos conseguirem deixar a água infiltrar, e causam a sua degradação (Goncharov, Soktoev et al., 2024).

2.2. Contaminantes e fontes de poluição

Os metais pesados são elementos químicos com densidade muito superior à densidade da água, e muitos deles também são caracterizados por terem massa atómica superior a 50 (Chamani et al., 2023). Estes elementos são muito persistentes nos solos, pois não são possíveis de degradar metais pesados nem através de processos biológicos nem de processos físicos, deste modo, os metais pesados quando presentes acarretam problemas de longa duração para a saúde humana e para o meio ambiente (Thakare et al., 2021; Weissmannová & Pavlovský, 2017; Yan et al., 2020). Os MPs encontram-se presentes cuja necessidade é essencial para a sobrevivência tais como: a água, os solos e o ar (Thakare et al., 2021).

A presença de metais pesados (MPs) nos solos em zonas urbanas pode advir de fontes naturais, através das rochas-mãe existentes no local, mas esses encontram-se com uma baixa disponibilidade para ocorrer uma absorção direta pelas células e tecidos das plantas (Derakhshan Nejad et al., 2018). Solos em zonas urbanas encontram-se contaminados por diversos metais pesados cujas fontes são muito diversificadas mas a maioria associada à atividade antrópica, como, o tráfego automóvel, as tintas (Derakhshan Nejad et al., 2018). Ao contrário, da contaminação através fontes naturais, os metais pesados associados a atividades de origem humana apresentam uma biodisponibilidade muito superior e a sua absorção pelas plantas é muito recorrente devido à facilidade do processo (Derakhshan Nejad et al., 2018).

Nos solos, os principais elementos potenciais tóxicos que se encontram presentes em maiores concentrações são o zinco, o mercúrio, o cádmio, o arsênio, o chumbo, o cobre (Weissmannová & Pavlovský, 2017). Por sua vez, outros metais embora se encontrem em reduzidas concentrações, o alumínio, bário, cobalto, manganês, selénio e prata, também contribuem para a contaminação, e, deste modo devem ser alvo de análise aquando da avaliação da qualidade dos solos (Priya, Muruganandam et al., 2023). A absorção destes elementos pelas plantas situadas nos solos e água contaminados, pode levar a uma transferência pela cadeia alimentar, o que a longo prazo poderá ser

um risco significativo para a saúde humana (Sun, et al., 2013; Thakare et al., 2021). Alguns destes metais são particularmente preocupantes, devido à toxidade que acarretam para as plantas e os impactos na saúde humana, uma vez que a produtividade agrícola pode se encontrar comprometida. Além disso, estes elementos têm a capacidade de se bioacumular e de biomagnificar ao longo dos níveis tróficos, acarretam riscos para os ecossistemas e para a saúde humana (Aladesanmi et al., 2019; Wang et al., 2018).

A presença metais pesados nos solos, são desencadeadas reações inúmeras químicas em que ocorre a absorção rápida dos mesmos, sendo que este processo decorre durante um espaço temporal diminuto, que tanto pode ser minutos como horas. Após esta fase inicial, ocorrem lentos processos de adsorção que podem prolongar-se durante dias ou até mesmos anos. Ao longo deste tempo, os metais pesados encontram-se a ser redistribuídos em diversas espécies químicas com características distintas em termos de biodisponibilidade, toxicidade e mobilidade (Thakare et al., 2021).

A origem contaminação dos solos pode advir um vasto tipo de vias, algumas delas são naturais e outras ocorrem através da atividade antropogénica (Mirsal, 2008). As concentrações naturais de elementos potencialmente tóxicos neste meio dependem da composição química, ou seja, do tipo e das propriedades químicas das rochas das quais os solos derivam (Mirsal, 2008). Os metais pesados são libertados para o meio ambiente através de diversas indústrias contaminantes e erupções vulcânicas, e geralmente, ocorre a deposição dos mesmos nos solos causando contaminação do meio e das linhas de água (Thakare et al., 2021). A acumulação de metais pesados é especialmente denotada em áreas em que estes elementos conseguem depositar-se e persistir tal como acontece em locais constituídos por uma predominância do setor da atividade industrial e também em áreas muito desenvolvidas (U. Nations, 2009).

A fração orgânica do solo afeta as condições biológicas, físicas e químicas existentes no mesmo. Em relação à parte química, esta fração do solo aumenta a capacidade de troca catiónica e a capacidade de retenção de água, sendo os valores muito superiores aos da fração areia e aos da fração argila. Diversos elementos perigosos entre os quais os metais pesados podem ser desintoxicados através da interação com a matéria orgânica do solo (Mirsal, 2008).

O zinco (Zn) é um metal brilhante e tem como uma característica importante ser um razoável condutor de condutividade elétrica (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2023). O zinco, também é um elemento abundante que é produzido principalmente em países desenvolvidos tais como, nos Estados Unidos da América, na Alemanha, no

Reino Unido, na Polónia e na Bélgica (Mirsal, 2008). A produção do mesmo é com o intuito da utilização na produção de baterias, em ligas metálicas (latão e bronze) e principalmente para aço galvanizado, devido a fornecer um revestimento resistente à corrosão (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2023; Mirsal, 2008), entre outros muitos usos (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2023; Mirsal, 2008). O zinco é um nutriente essencial na dieta do ser humano, mas caso ocorra uma exposição a níveis potencialmente tóxicos, geralmente, pelo consumo de água contaminada, podem causar diversos sintomas, entre os quais, náuseas e cólicas estomacais (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2023).

O mercúrio é um metal que, à temperatura ambiente, apresenta-se no estado líquido. (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2023). Deste modo, diferencia-se dos demais metais pesados pelo baixo ponto de fusão (Mirsal, 2008). A capacidade de persistência do mercúrio confere-lhe um elevado risco para a saúde humana e para o meio ambiente, tal como, o facto de este elemento ter um alto potencial de bioacumulação no meio ambiente (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2023). A entrada do mercúrio nos solos pode ocorrer através de matérias de rochas existentes no local, mas as atividades antropogénicas, sendo a principal a atividade mineira são a principal fonte de contaminação, tal como as chuvas ácidas (Mirsal, 2008).

A interação do mercúrio e outros metais pesados com o solo e os seres vivos depende de diversos fatores, tais como, os valores de pH e o potencial redutor das águas ambientais e as atividades microbianas, (Mirsal, 2008).

A exposição humana ao mercúrio ocorre, especialmente, pela ingestão de alimentos contaminados, sendo os principais os peixes, os crustáceos e os grãos ou também, através da inalação de componente de mercúrio voláteis podem advir da queima de combustíveis fósseis. Esta exposição prolongada ao mercúrio, principalmente ao metilmercúrio acarreta diversos problemas para a saúde humana, principalmente para o sistema nervoso, devido à alta neurotoxicidade do mesmo. (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2023; Ghizoni, 2017).

O chumbo foi um dos primeiros poluentes metálicos a ser introduzidos pelo ser humano no meio ambiente que data da construção de redes de esgotos durante o Império Romano. (Mirsal, 2008). A ingestão deste elemento pode ocorrer através do consumo de comida ou água, e pode acarretar diversos problemas à saúde humana, causando impactes no sistema nervoso, no sistema urinário e no sistema reprodutor (Mirsal, 2008). As mulheres, podem sofrer abortos, enquanto para os homens, os riscos de

contaminação com este elemento são a potencial redução da capacidade de produzir esperma, e, assim, a redução da fertilidade (Mirsal, 2008).

O cobre é um metal que tem uma grande utilização em diversas indústrias, geralmente, na produção de fios em indústrias elétricas, mas também, em ligas metálicas que são utilizadas na produção de inúmeros produtos, entre os quais, as moedas e as armas (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2023; Mirsal, 2008). A contaminação do meio ambiente por este elemento ocorre maioritariamente através da sua libertação para a atmosfera como poluentes particulados, como complexos orgânicos na água e como metais ou componentes inorgânicos. Estas diversas formas de cobre têm vindo a aumentar a poluição dos e degradação solos com este metal pesado e contribuindo para a potenciação de diversos riscos para a saúde humana, tais como: doenças no fígado e nos rins. (Mirsal, 2008).

2.3 Plantas

Os elementos potencialmente tóxicos (ETP's), particularmente os metais pesados (MPs) para além de serem causadores de diversos impactos na saúde humana, também causam muitos impactos nas plantas. Os metais pesados têm um papel fulcral no desenvolvimento das plantas, participando em reações metabólicas e porque alguns são micronutrientes das plantas (por exemplo: o ferro, o cobre, o zinco, o cobalto, entre outros (García-Mozo, 2017; Mirsal, 2008). Mas, quando as concentrações são muito elevadas, esses elementos consideram-se tóxicos e são prejudiciais para desenvolvimento das mesmas.

As plantas têm a capacidade de se desenvolver em solos contaminados por metais pesados, isto é um fenómeno que tem vindo a aumentar quer em áreas cultivadas quer em áreas áridas (Clemens & Ma, 2016). Estes metais aquando absorvidos pelas plantas e entram na cadeia alimentar e poderão se acumular em organismos de maiores dimensões (Angulo-Bejarano, Puente-Rivera et al., 2021). Caso os solos tenham concentrações baixas em alguns metais pesados, esses metais poderão estar presentes em maiores concentrações em organismos em posições mais elevadas na teia alimentar, este processo designa-se biomagnificação ou magnificação trófica (Prodić, Minić et al., 2024).

Se o nível de metais pesados na constituição dos solos estiver em níveis muito elevados, poderá ocorrer o processo de inibição do crescimento e o desenvolvimento

das plantas que nele se encontrem, pois, a inibição é consequência de uma perturbação ao nível de processos fisiológicos essenciais. Os principais problemas incluem a alteração dos mecanismos de absorção, diversos processos intracelulares, regulação dos genes, e as vias de sinalização (Lovynska et al., 2024).

A contaminação por metais pesados acarreta diversos riscos para as plantas, entre os quais, os mais relevantes são a redução da reprodutividade, a inibição da formação de sementes e potencialmente a redução da viabilidade do pólen (Jócsák, Knolmajer, et al., 2022; Shahzad et al., 2023).

Em alguns estudos é evidenciado que, caso, seja existam grandes doses de cobalto e cobre nas amostras de solo, o processo de germinação das sementes em algumas espécies de plantas é reduzido, mas se as concentrações forem baixas, o processo é inverso (Jayakumar et al., 2008; Sethy & Ghosh, 2013).

A interação com os minerais existentes nos solos desempenha um papel fulcral na influência que os metais pesados têm e na forma como estes afetam no metabolismo das plantas. Alguns elementos químicos, o cádmio e o chumbo interferem de forma negativa na absorção, transporte e uso de outros elementos, tais como, cálcio, magnésio, fósforo e o potássio, além de comprometerem o processo fisiológico de absorção de água pelas plantas (Lovynska et al., 2024).

A maioria das espécies da família Poaceae são plantas anuais ou bienais que apresentam hastes ocas (García-Mozo, 2017). Uma particularidade comum nas diferentes espécies é o crescimento de folhas jovens desde a base da planta como resposta evolutivo à predação destas plantas.

A espécie em estudo é a *Dactylis glomerata*, também conhecida como cocksfoot grass ou orchard grass. Esta gramínea pertencente à família Poaceae e é nativa da Europa, Ásia e Norte de África (Bretagnolle & Lumaret, 1995; Tormo-Molina et al., 2015; van Oort et al., 2001). A floração desta espécie ocorre entre os meses de abril e junho, que posteriormente foi introduzida em outras regiões do globo, tais como, na América do Norte, na Austrália e na Nova Zelândia, onde, em certas áreas se tornou uma espécie invasora nos ecossistemas.

A *Dactylis glomerata* é uma planta que apresenta uma panícula condensada e rígida, em forma de espiga, com ramos basais, mas sem espiguetas sobre uma área curta ou longa (Gajić et al., 2020). As espiguetas têm um número variável de flores em cachos compactos, entre 3 e 6. As flores tem a duração de 1 dia e a abertura é de cima para baixo (Tormo-Molina et al., 2015).



Figura 1: Espigas de *Dactylis glomerata* em diferentes estágios de formação.
A) maturação B) deiscência C) senescência

A espécie *Dactylis glomerata* é uma das mais importantes fontes de produção do pólen existente no ar em países de climas temperados (Irina, Sarac, Onisan et al., 2015; Tormo-Molina et al., 2015). A abertura das anteras, também denominada de deiscência ocorre durante as primeiras horas da manhã e é nesse período do dia que o vento atua como agente de polimerização do pólen e, consequentemente, ajuda à dispersão da espécie.

A acumulação de metais pesados nas plantas da espécie *Dactylis glomerata* (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) é maior em zonas urbanas, mas desenvolvidas do que a que ocorre em zonas rurais e, também, a acumulação é maior nas raízes do que no resto dos órgãos das plantas, diminuindo ao longo da estrutura da planta, caules, folhas e flores (Pietrelli, et al., 2022).

2.4 Pólen

A presença e a concentração de metais pesados têm um grande impacto nos ecossistemas. As variações nas concentrações quer de micro quer de macroelementos com origem em fontes de poluição, podem acarretar fortes impactos nos ecossistemas, nas plantas e na cadeia alimentar, e, consequentemente, serem um risco para a saúde humana. As concentrações necessárias destes elementos para as plantas e para os humanos variam de elemento para elemento, sendo alguns considerados oligoelementos, (como é o caso por exemplo: Co, Se, I entre outros) cujo papel é vital em pequenas concentrações para diversos processos em organismos (Mehri, 2020) e outros elementos tais como: (Ca, Mg, Na, P entre diversos outros) que as concentrações

tem de ser mais elevadas para processos vitais desde o sistema nervoso até à formação dos ossos (Lu et al., 2024) (Farag, Abib et al., 2023).

As concentrações de alguns destes contaminantes aumentam significativamente através da poluição de origem humana. A exposição prolongada a poluentes industriais pode originar um aumento na acumulação de certos metais pesados, como o chumbo e o mercúrio (Prodić et al., 2024).

Nas áreas urbanas vivem mais de metade da população mundial, e é nessas zonas, que as Poáceas se desenvolvem, existindo diversas espécies a crescer em diferentes locais e ecossistemas. Os sintomas que assolam muitos habitantes de zonas urbanas tais como, rinite alérgica, conjuntivite alérgica e asma entre as últimas semanas da primavera e as primeiras de verão, estão associados à floração de diversas espécies de gramíneas entre elas a *Dactylis glomerata*, cuja floração ocorre ente abril e julho (García-Mozo, 2017). Nos países considerados industrializados, pessoas que vivem em zonas urbanas têm uma maior propensão de apresentarem sintomas e doenças alérgicas respiratórias do que as pessoas que vivem em espaços rurais (Gennaro D'Amato et al., 2010).

A região mediterrânea possuí características climáticas que propiciam o impacto do pólen e um aumento alergenicidade para as pessoas que residem no sul da Europa habitam. Os invernos são geralmente amenos e os verões secos são um fator que favorece o crescimento de vegetação que raramente se desenvolve noutras áreas da europa e do globo (D'Amato, 1998). Esta vegetação típica da área mediterrânea é constituída por diversas espécies com elevado potencial de alergenicidade, como são os casos de uma grande diversidade de gramíneas, *Parietaria*, Cupressaceae, entre outras (D'Amato, 1998).

No que diz respeito às gramíneas, as concentrações de pólen presentes na atmosfera nesta região da europa permanecem reduzidas até meados de abril são reduzidas, uma vez que é a partir de meados desse mês que começa o processo de floração das diferentes espécies. Deste modo, aquando do início da floração, a quantidade de pólen na atmosfera aumenta significativamente, o que coincide com o aumento e a intensificação de diversos sintomas alérgicos em várias cidades do sul da europa, nomeadamente no norte de Itália e no sul de França (D'Amato, 1998).

As plantas da família Poaceae tem como característica, o pólen ser uma das principais causas de alergénicos à escala global. (García-Mozo, 2017). Os grãos de pólen são produzidos por meiose dentro das anteras nos micrósporos das células mãe (Navarro,

Sanchez-Navarro et al., 2019) e este é disperso por diversos agentes de dispersão, tais como, a água, o vento, os animais como insetos (abelhas entre outros). Para as gramíneas, tal como as *Dactylis*, o processo de polinização é realizado por apenas um agente que é o vento, que dispersa o pólen das poáceas por grandes áreas (García-Mozo, 2017).

Tabela 1: Alergénios presentes no pólen das *Pooideae*, subfamília das Poaceae, a que as *Dactylis glomerata* pertencem (adaptado de Grass pollen allergens ((Hrabina et al., 2008))

Alergénios	IgE reatividade entre os pacientes alérgicos a pólen de *Poaceae*	Descrição
Grupo 1 (31-35 kDa)	90-95%	Glicoproteínas ácidas
Grupo 2/3 (10-12 kDa)	40-60%	Proteínas não glicosiladas ácidas e básicas
Grupo 4 (50-60 kDa)	80%	Glicoproteínas básicas, com estruturas de α-helix e β-sheet
Grupo 5 (27-33 kDa)	65-85%	Duas isoformas não glicosiladas (a e b)
Grupo 6 (10-15 kDa)	60-70%	-
Grupo 7 (8-12 kDa)	10%	-
Grupo 10 (12 kDa)	< 5%	-
Grupo 11 (18 kDa)	45%	-
Grupo 12 (14 kDa)	15-30%	-
Grupo 13 (50-60 kDa)	50%	-

As *Dactylis glomerata* possuem diversos alergénios, sendo os principais pertencentes aos 5 primeiros grupos: Dac g 1 (Mourad, Mécheri et al., 1988), Dac g 2 (Guérin-Marchand et al., 1996; Roberts, Van Ree et al., 1992), Dac g 3 (Guérin-Marchand et al., 1996), Dac g 4 (Leduc-Brodard et al., 1996) e Dac g 5 (van Oort et al., 2001).

Os valores indicados ao lado de cada grupo representam a massa molecular dos grupos de alergénios. Os alergénicos do grupo 1 são glicoproteínas ácidas, com massa molecular entre 31 e 35 kDa. Já no grupo 2/3, os alergénios são proteínas não glicosiladas ácidas e básicas, respetivamente com massa molecular entre 10 e 12 kDa (Hrabina et al., 2008).

O grupo 4 compreende glicoproteínas básicas do pólen das gramíneas, com estruturas de α-helix e β-sheet com massa molecular de 50-60 kDa. Os alergénios do grupo 5 são constituídos por duas isoformas não glicosiladas (a e b) e a massa molecular é de 27-33 kDa.

Os alergénios podem ser divididos em principais ou secundários, com base em critérios como a frequência com que causam reações numa certa população, o papel biológico que desempenham e a composição e estrutura físico-química. Os alergénios para serem considerados como “major”, ou seja, principal, é necessário, que mais de 50% dos pacientes submetidos ao mesmo, tem uma reação alérgica ao mesmo (García-Mozo, 2017). Estes são os fatores para a consideração de um alergénico como principal: (1) A frequência em que eles são reconhecidos pela lgE,a capacidade de os alergénios serem identificados como agentes ofensivos pela lgE para a maioria dos indivíduos alergénicos; (2) quantidade presente dum alergénio: está se a referir a concentrações elevadas; (3) alergenicidade, corresponde à capacidade dos alergénios induzirem um níveis elevados de lgE na população alérgica, e, assim, consequentemente ao aparecimento e desenvolvimento de sintomas (Hrabina et al., 2008).

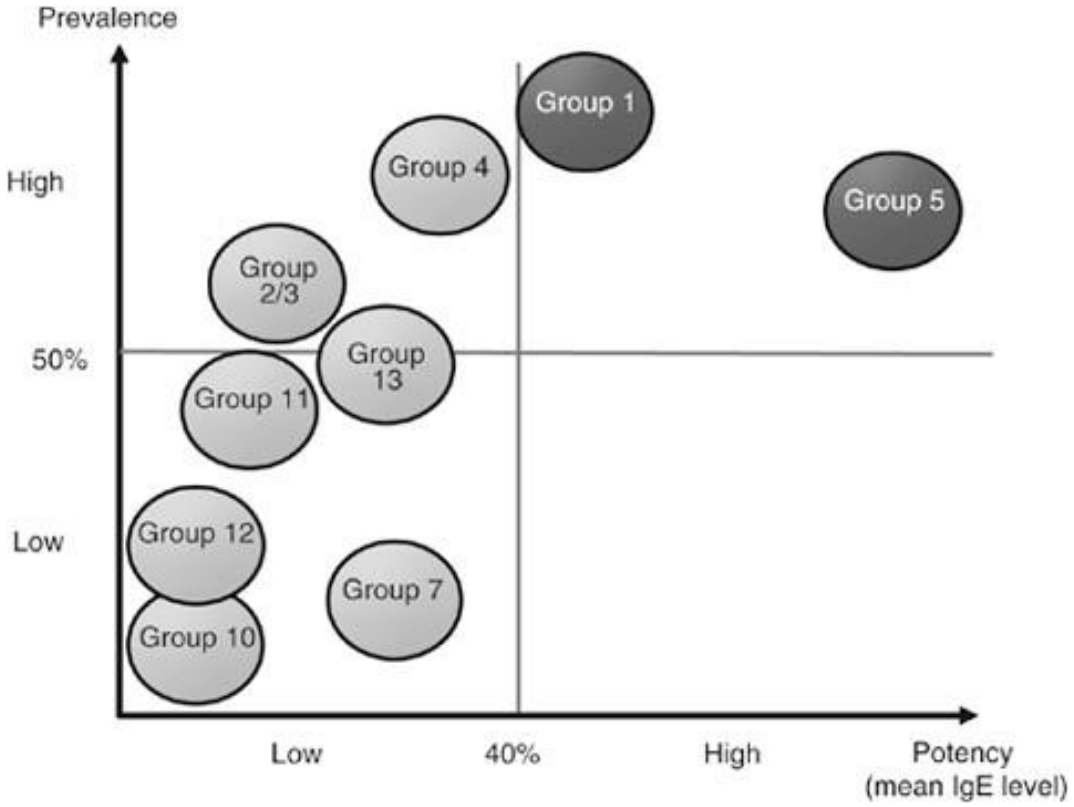


Gráfico 1: Grupos de alergénicos das gramíneas segundo a frequência e a potência (retirado de (Hrabina et al., 2008))

No Gráfico 1 podem ser observados os grupos de alergénicos das gramíneas tendo como base dois critérios. A frequência e a que se refere à prevalência IgEs específicas para certos alergénios, enquanto a potência consiste na quantidade de IgEs no soro dos pacientes (Hrabina et al., 2008).

Conforme ilustrado no Gráfico 1, os grupos 1 e 5 são considerados alergénios principais, sendo esta afirmação reforçada pela informação presente na Tabela 1, onde é possível observar que os alergénios do grupo 1, são reconhecidos por mais de 90% dos pacientes clínicos e os do grupo 5 cerca de 85%. Assim, os alergénios destes dois grupos juntos representam entre 80%/90% da alergenicidade do pólen das gramíneas (van Ree, van Leeuwen et al., 1998).

3. Material e Métodos

3.1. Locais de estudo

O presente estudo decorreu em 6 locais distintos localizados no distrito do Porto, quatro (Biologia, Planetário, Antas e Pasteleira) na cidade do Porto, um em Matosinhos (Meco) e um na vila de Vairão, no concelho de Vila do Conde.

O distrito do Porto situa-se na zona Norte litoral de Portugal. A cidade do Porto é delimitada a sul pelo rio Douro, que desagua no Oceano Atlântico na foz da cidade e os solos existentes são predominantemente urbanos. Em relação ao local inserido na cidade de Matosinhos, o meco, encontra-se numa zona em que os solos se classificam como solos de uso industrial. No caso, de Vairão, os solos são, maioritariamente, solos rurais e agrícolas.



Figura 2: Localização dos locais de amostragem. A) Vairão; B) Pasteleira (pontos à esquerda), Biologia e Planetário (pontos à direita); C) Antas; D) Meco
Legenda: ponto vermelho – local de amostragem; estrela – estação de medição Qualidade do ar

Os locais de amostragem encontram-se nas proximidades de estações de referência de medição da qualidade do ar, representadas na figura 2 com uma estrela amarela, pertencentes à Rede de Monitorização da Qualidade do Ar em Portugal, da Agência Portuguesa do Ambiente. Na imagem A da mesma figura é possível visualizar o local de amostragem Vairão (ponto vermelho no mapa) sendo que a estrela amarela mais próxima do litoral corresponde à estação do Mindelo.

Na imagem B é possível localizar 3 locais de amostragem, dois estão mais próximos, Biologia, que se encontra um pouco mais a norte do que o outro, Planetário. O terceiro local evidenciado é a Pasteleira que fica a oeste dos dois anteriormente referidos, mais próximo quer do litoral, quer da estação de medição da qualidade do ar de Sobreiras.

Na imagem C, apenas se localiza um local, as Antas. Este local de amostragem é próximo da entrada/saída da A20/IC23, um local com tráfego acentuado de automóveis e outros veículos motorizados. A estação de medição da qualidade do ar próxima deste local é a de Campanhã, localizada na mesma rua do local de amostragem, na Praça Velasquez.

Na imagem D, o único local de amostragem existente é o Meco. A zona onde este local se insere é consideravelmente menos urbanizada que as existentes nas imagens B e C, apresentando zonas verdes e campos agrícolas, mas existem também diversas empresas industriais e vias rodoviárias. A estação de medição da qualidade do ar, a estação do meco-perafita, é do tipo industrial.

O download dos dados referentes à qualidade do ar foi feito a partir do site https://qualar.apambiente.pt/ e corresponderam aos poluentes: PM_{10}, NO_2, O_3, NO_x e NO.

3.2. Amostragem dos solos

O processo de amostragem tem uma condicionante principal que determina quando essa etapa pode ser realizada, a pluviosidade. De modo que os solos amostrados não tenham um aumento de humidade, ou água, que promovem a troca catiónica de elementos químicos, como por exemplo os metais, a amostragem de solos só aconteceu num período de pelo menos 3 dias após ter ocorrido pluviosidade nos locais.

A recolha de amostras de solo foi realizada nas datas assinaladas na tabela 2, ocorrendo as amostragens de solo durante os meses de setembro, outubro e novembro, meses pertencentes ao outono.

Tabela 2: Data da realização da amostragem de solos para os locais em estudo

Local	Data de Amostragem
Biologia	23/09/2024
Planetário	23/09/2024
Antas	30/09/2024
Meco	30/10/2024
Pasteleira	04/11/2024
Vairão	18/11/2024

Amostragem foi do tipo sistemática, realizada em zigzag, com um espaçamento de 10 metros entre cada ponto e composta, logo a área de cada um dos locais condicionou o número de pontos necessários.

Foi realizada uma segunda amostragem de solos (tabela 3), que ocorreu aquando da amostragem das plantas. Os solos amostrados são os que ficam na rizosfera das plantas, ou seja, os que se encontram na zona em contacto com raízes quando retiramos as plantas. Para a realização desta amostragem também é necessário ter em conta a ocorrência de pluviosidade nos locais de amostragem.

Tabela 3: Data de realização da amostragem de solos das raízes em cada local

Local	Data de amostragem
Biologia	03/06/2025
Planetário	03/06/2025
Antas	30/04/2025
Meco	09/04/2025
Pasteleira	26/05/2025
Vairão	18/11/2024

3.3. Pré-Processamento

Após a amostragem, à chegada ao laboratório, as amostras foram colocadas em tabuleiros e deixadas a secar ao ar durante uma semana. Neste passo, é muito importante, ir remexendo o solo para que a percentagem de perda de água seja uniforme. A segunda etapa foi a obtenção de terra fina através de crivagem, em que todas as amostras passaram por um crivo de 2 mm, removendo assim os elementos grosseiros das amostras.

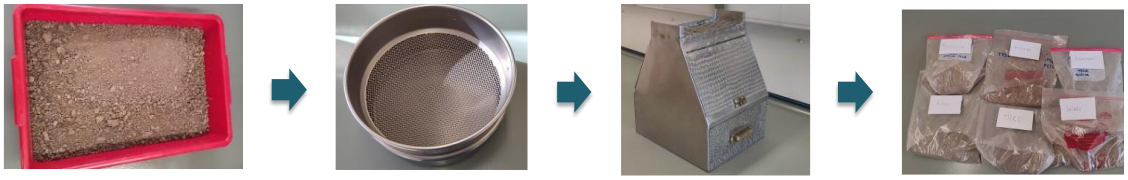


Figura 3: Etapas de pré-processamento: secagem, crivagem, quartilhamento e armazenamento

A terceira e última etapa do pré-processamento foi o quartilhamento, uma vez que as amostras de solo são de grandes dimensões face às que vão ser necessárias para determinar as propriedades do solo. Para isso, utilizou-se um quartilhador para dividir as amostras em duas réplicas, em que apenas utilizamos uma delas na análise

Em relação à amostragem dos solos das raízes, as etapas de pré-processamento corresponderam à secagem ao ar num tabuleiro, mas apenas por um período de 24 horas, pois o volume de solo amostrado foi muito menor. Após a primeira etapa, procedeu-se à crivagem dessas amostras.

3.4 Análises físico-químicas do solo

3.4.1 Humidade residual

Para determinar a humidade do solo, utilizamos gobelets que estiveram previamente na estufa a 105ºC durante 15 minutos e determinamos a sua massa. Posteriormente, com o auxílio duma balança, transferiu-se 10 gramas de solo dos tabuleiros para gobelets (figura 4).

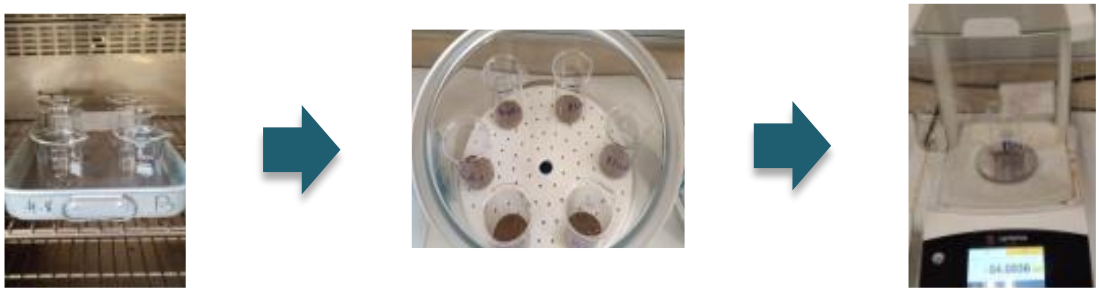


Figura 4: Etapas para a determinação da Humidade residual do solo

Diariamente, efetuou-se a pesagem dos gobelets até que os valores das massas sejam concordantes, isto é, durante aproximadamente 2/3 dias os valores medidos têm uma variação inferior a +/- 0,010 g.

3.4.2 Determinação da matéria orgânica

Foi determinado o teor de matéria orgânica do solo de cada local de amostragem e do solo recolhido da rizosfera das plantas amostradas nos mesmos locais, utilizando o método de perda ao rubro. Foi determinada a massa de cadinhos que estiveram previamente na estufa a 105ºC durante 15 minutos. Posteriormente foram transferidos para o seu interior 5 gramas de amostra de solo, ou 2 gramas no caso das amostras da rizosfera. Posteriormente, os cadinhos+solo foram colocamos na estufa a 105ºC para a perda total da água residual ainda presente.

Após alguns dias, retiram-se os cadinhos do interior da estufa, determinou-se a sua massa e foram colocados numa mufla programada de forma a atingir os 100ºC, de incrementos de 5ºC por minuto, e permanecer durante 15 minutos, seguido em incrementos de 5ºC por minuto até atingir os 550ºC e permanecer durante 180 minutos, a essa temperatura (figura 5).

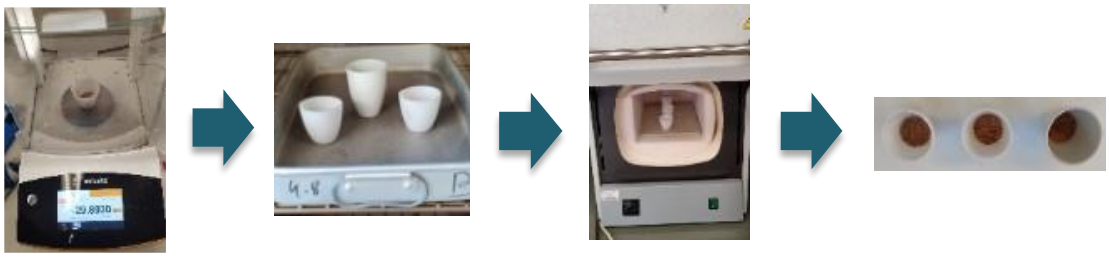


Figura 5: Etapas para a determinação do teor de matéria orgânica das amostras de solo.

Os cadinhos, após a temperatura dentro da mufla diminuir substancialmente, foram retirados e determinou-se a sua massa final. A diferença entre massa do solo antes e depois da ida à mufla corresponde ao teor de matéria orgânica nas amostras de solo e solo da rizosfera.

3.4.3 Avaliação da textura

A textura refere-se à forma como as partículas do solo se encontram organizadas e quais os tamanhos das mesmas. Existem três diferentes frações do solo, a fração argila, a fração silte e a fração areia. Um solo em que as percentagens dessas três frações é equivalente, ou com valores muito similares, é denominado de franco (Mirsal, 2008).

Para a determinação da textura do solo nas em cada local de amostragem, em primeiro momento, foram pesados para o interior de um frasco de 500 mL, 5 gramas da amostra TFSA, às quais, foram adicionadas 100 mL de NaOH 1M. Posteriormente, o frasco foi colocado a agitar durante 15 minutor num agitador mecânico.



Figura 6: Etapas para a determinação da textura do solo

Enquanto, o frasco se encontrava no agitador mecânico, colocou-se um funil num frasco de 1 L e um crivo de 63 µm por cima do mesmo. Terminada a agitação, o conteúdo do frasco foi passado através do crivo, lavando com água destilada o frasco e em seguida,

o crivo até perfazer 1 L (figura 6). O frasco foi fechado e agitado vigorosamente durante alguns segundos e, em seguida, o conteúdo foi transferido rapidamente para uma proveta de 1 L.

Para a determinação da massa da fração silte+argila em cada amostra, 10 cm abaixo do nível do líquido foram retirados 20,00 mL com o auxílio de uma pipeta volumétrica de 20 mL e uma pompete, e colocados num góbelet previamente pesado que foi colocado na estufa até a água evaporar.

Após 4 horas de repouso, repetiu-se à mesma metodologia para retirar 20,00 mL do conteúdo da proveta para outro gobelet e colocação do mesmo na estufa, de modo a determinar a massa do da fração argila.

3.4.4 Determinação da condutividade elétrica

A condutividade elétrica das amostras de solo em cada dos um diferentes locais foi determinada de acordo com a norma ISO 11265:1994, numa proporção de 1/5 (m/V), de solo e água destilada. Foram pesadas 20 gramas da amostra de TFSA para um frasco de 500 mL, e adicionados 100 mL de água destilada. Os frascos foram colocados num agitador mecânico em posição horizontal durante 30 minutos.

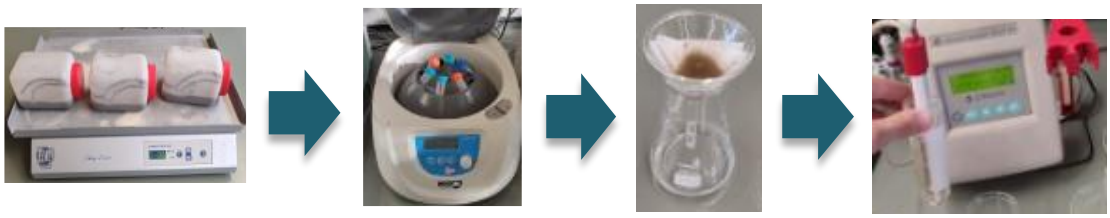


Figura 7: Etapas para a medição da condutividade elétrica das amostras de solo

Após terminada a agitação, a solução dos frascos foi transferida para 2 dois tubos de Falcon de 15 mL que foram colocados na centrifugadora a 4500 rpm durante 5 minutos. Após a centrifugação, realizou-se uma filtração das soluções para um matraz com o auxílio de um funil e papel de filtro (figura 7). Os filtrados, aproximadamente 25 mL foram colocados em tubos de Falcon de 50 mL e mediu-se os valores de condutividade elétrica utilizando um condutivímetro *Crison GLP* 31. Foram efetuadas 3 réplicas por amostra de solo e 3 medições por réplica.

Efetuou-se também um controlo que corresponde apenas ao filtrado da água destilada que é utilizada na preparação das soluções do solo.

3.4.5 Determinação do pH

O pH dos solos está relacionado com a troca iónica dos solos, com a componente orgânica nele presente e mineralogia. Mas, também está diretamente relacionado com a disponibilidade de matais que afetam a solubilidade e a capacidade de formar quelatos no solo (Mirsal, 2008).

O pH das amostras de solo dos diferentes locais foi determinado de acordo com a norma ISO 10390:2006, numa solução de água desionizada e numa solução cloreto de potássio numa proporção de 1/5 (V/V). Foram medidos numa proveta 10 mL de solo utilizando uma colher e transferidos para os frascos de 500 mL. Em seguida, adicionou-se 50 mL de H_2O ou 50 mL de KCl.

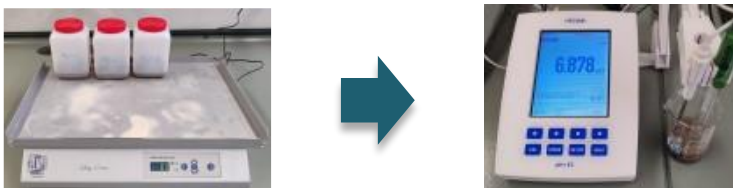


Figura 8: Etapas para a determinação do pH nas amostras de solo e solo presente na raizosfera

Os frascos foram colocados num agitador mecânico durante 60 minutos e deixados em repouso durante 1h e 30 minutos (figura 8). Em seguida, a solução foi transferida para gobelets e procedeu-se à medição do pH das amostras num medidor de pH da *Hanna Instruments* HI 2210. Foram efetuadas 3 réplicas por amostra de solo e 3 medições por réplica.

3.4.6 Determinação da composição elementar

A determinar a composição elementar do solo dos diferentes ocais de amostragem, particularmente de elementos potencialmente tóxicos (EPT's) e de metais pesados (MPs) foi efetuada na fração TFSA (dimensões inferiores 2 mm) e na fração inferior a 63 µm, obtida pela passagem da TFSA por um crivo. Numa proveta, mediu-se 20 mL de solo da fração TFSA e inferior a 63 µm e em seguida, com o auxílio de um almofariz de ágata, as amostras foram moídas e colocadas em sacos plásticos com a identificação do local e da fração correspondente (figura 9).

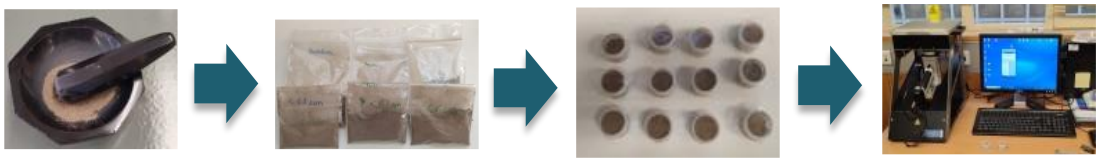


Figura 9: Determinação da composição elementar das amostras de solo

O conteúdo dos sacos foi colocado em caixas de plástico para medição utilizando um espetrofotómetro de raio X portátil (XRF). O XRF é uma técnica analítica que não é destrutiva das amostras ao contrário de outras frequentemente utilizadas tal como a digestão química, logo estas amostras podem ser reutilizadas para a determinação de outras propriedades do solo.

Foram efetuadas 3 réplicas por amostra de solo e 3 medições por réplica.

3.4.7 Determinação dos nitratos, nitritos e amónia

A presença de nitrato, nitrito e amónia e a relação entre eles é afetada por diversos fatores, entre os quais: o pH do solo, a temperatura, o ciclo biológico do nitrogénio, o meio microbiológico e geoquímico (López Pasquali, Fernández Hernando et al., 2007).

De forma determinar a destes compostos no solo em primeiro momento, é necessário efetuar a extração desses elementos da matriz do solo. Para isso, pesou-se 10 gramas das amostras de solo para o interior de um frasco de 500 mL e adicionou-se 100 mL de H_2O destilada. Em seguida, os frascos foram colocados num agitador mecânico durante 2 h a 160 rpm. Após a agitação, a fração líquida contida no interior dos frascos foi transferida para tubos de Falcon de 15 mL e centrifugada durante 5 minutos a 4500 rpm.

Foi determinada a concentração de nitratos, nitritos de gama baixa e amónia de gama média utilizando-se um fotómetro multiparâmetro da Hanna instruments.

Na determinação de nitratos, pipetou-se 6 mL da fração líquida no tubo Falcon para uma cuvette, introduziu-se no fotómetro e selecionando o método – nitrato no espetrofotómetro, calibrou-se o valor zero. Retirou-se a cuvette do aparelho e adicionou-se o reagente de nitrato (HI93728-0) e agitou-se durante 10 segundos vigorosamente, seguido de 50 segundos cuidadosamente para que o reagente esteja totalmente dissolvido. A cuvette foi inserida novamente no espetrofotómetro, incubada durante 4 minutos e 30 segundos, e de seguida efetuou-se a determinação da concentração de nitratos presentes na cuvette.

Na determinação de nitritos, pipetou-se 10 ml da fração líquida no tubo de Falcon para uma cuvette, introduziu-se no fotómetro e selecionando o método – nitrito gama baixa, no espetrofotómetro, calibrou-se o valor zero. Retirou-se a cuvette do espetrofotómetro e adicionou-se o reagente de nitrito de gama baixa (HI 93707-0) e agitou-se durante 15 segundos de forma cuidadosa. Posteriormente, a cuvette foi inserida novamente no espetrofotómetro, incubada durante 6 minutos, e de seguida efetuou-se a determinação da concentração de nitritos presentes na cuvette.

Para a determinação da amónia, é necessário, pipetou-se 10 mL da fração líquida no tubo de Falcon para a cuvette, introduziu-se no fotómetro o método – amónia gama média e, em seguida, calibrou-se o valor zero. Retirou-se cuvette do espetrofotómetro e adicionou-se os reagentes para a amónia (HI93715A-0 e HI93715B-0), adicionou-se 4 gotas do primeiro reagente e coloca-se e agitou-se de forma a misturar a amostra, em seguida adicionou-se 4 gotas do segundo reagente e agitou-novamente. A cuvette foi reinserida no espetrofotómetro, incubada durante 6 minutos, e de seguida a efetuou-se a determinação da concentração de amónia presente na cuvette.

3.5 Avaliação da *Dactylis glomerata*

A amostragem das plantas de *Dactylis glomerata* ocorreu durante os meses de floração da espécie, para que as plantas amostradas tenham inflorescências e para que seja possível realizar a recolha de pólen. Assim, as amostragens das plantas e de solo

presente nas raízes, que irá ser utilizado para medir algumas propriedades do mesmo, foram realizadas nos meses de abril, maio e junho.

Tabela 4: Datas da amostragem das *Dactylis glomerata* para cada local

Local	Data de Amostragem
Biologia	04/06/2025
Planetário	03/06/2025
Antas	30/04/2025
Meco	27/03/2025
Pasteleira	29/05/2025
Vairão	18/11/2024

De modo a determinar a composição elementar e a presença de EPT's com principal incidência nos MP's foram efetuadas análises em dois órgãos das *Dactylis glomerata*, cada um correspondendo a uma extremidade da planta (raízes e inflorescências), para que se possa comparar a possível translocação de elementos químicos através da planta. Os elementos potencialmente tóxicos analisados nas amostras de plantas foram o ferro, cobre, estrôncio, zinco e chumbo. O cobre, zinco e chumbo pertencem aos metais pesados.

Deste modo, após a recolha, as plantas foram transportadas para o laboratório, lavadas abundantemente com água destilada e efetuou-se a das raízes e das inflorescências. Estes órgãos foram colocados num tabuleiro dentro da hotte, para retirar o excesso de água existente. No dia seguinte, procedeu-se à sua pesagem, embrulho em papel de alumínio e colocados numa estufa a 70ºC para perda de água até uma massa constante.

Após a secagem, procedeu-se à trituração das raízes e inflorescências para posterior determinação da composição química. Para isso, as raízes e inflorescências foram colocadas em sacos de plástico e congeladas (-20ºC). A maceração constituiu na retirada dos sacos do congelador e em seguida martelar o material para reduzir a sua dimensão de modo a passar através de um crivo de 1 mm. O material foi armazenado em tubos de falcon de 50 mL até à análise.

Para a análise química, o material foi colocado em caixas de plástico e analisado utilizando um espetrofotómetro de raio X portátil (XRF). Quando possível forma efetuadas 3 réplicas por amostra de solo e sempre 3 medições por réplica.

3.6 Amostragem de pólen

As inflorescências da espécie *Dactylis glomerata* L. foram recolhidos no mesmo dia da recolha das plantas, durante os meses de abril junho, correspondente ao período de floração.

Em cada local de amostragem, foram cortadas várias inflorescências com anteras deiscentes visíveis e colocadas numa caixa de papel (60 cm x 40 cm) e transportadas para o laboratório.

A caixa foi colocada numa estufa durante 25ºC durante 24 h para permitir a total deiscência das anteras e libertação do pólen. Após este processo, procedeu-se à separação dom pólen do resto do material e para isso utilizou-se um conjunto de crivos que permitiu separar o pólen (<63 µm) das anteras (<150 µm) e estas das inflorescências (< 1 mm) num agitador mecânico.

Após esta agitação, recolheu-se o pólen retido na base dos crivos num ou vários tubos eppendorf de 2 mL, com o auxílio de um pincel e uma folha de papel, e ficou armazenado no congelador (-20º) até à realização dos estudos.

3.6.1 Extração do conteúdo proteico

A extração de proteínas solúveis do pólen foi efetuada em solução tampão PBS (0,8 g de NaCl, 0,02 g de KCl, 0,14 g de NA_2HPO_4 e 0,024 g de KH_2PO_4 que estiveram a agitar até ocorrer a dissolução total da mesma).

Num almofariz de porcelana foram adicionados areia de quartzo, 50 mg de pólen, 0,02 g de PVP e 1 mL de solução tampão de extração PBS (pH 7.4) de forma faseada, 500 µl antes, e 500 µl após a maceração da amostra de pólen. Transferiu-se este conteúdo para eppendorfs de 2 mL e, em seguida, realizou-se duas centrifugações sucessivas de 4500 rpm durante 20 minutos, a uma temperatura de 4º C. Os sobrenadantes foram filtrados para outro tubo de 2 mL, utilizando uma seringa e um filtro de 0,45 µm, sendo utilizado um filtro por amostra. Em seguida, efetuou-se a uma nova centrifugação nas mesmas condições anteriormente descritas.

Posteriormente, procedeu-se à quantificação do conteúdo proteico solúvel dos extratos de pólen pelo método de Bradford numa proporção de 1:9 mL. Este método tem como

base a utilização do corante de Coomassie, de modo a obter uma reação colorimétrica, de cor azul, com a proteína existente nos extratos de pólen das diversas amostras (Bradford, 1976).

3.6.2 Estudo do perfil proteico polínico por SDS-PAGE

Para fazer a análise do perfil proteico polínico, utilizou-se a técnica de SDS-PAGE, cujo objetivo é a separação das proteínas segundo o peso molecular das mesmas.

Em primeiro momento, é necessário, efetuar a preparação do sistema de suporte de géis, e também, a preparação do gel separador e do gel concentrador. Em seguida, o gel separador é pipetado para os géis, aos quais se adicionaram, logo de seguida, água desionizada, com o objetivo de reduzir o contacto dos géis com o O_2, e, assim, não inibir a polimerização. Os géis ficaram 20 minutos em repouso. Após esse período, retirou-se a água e foram também colocados, no suporte, pentes para permitir a criação de poços das amostras. Após a criação dos poços, o gel concentrador foi pipetado, de forma muito célere, pois este gel ao contrário do anterior, polimeriza com o contacto com o O_2.

No dia seguinte, preparou-se o suporte de eletroforese e colocou-se o tampão de eletroforese, e, em seguida, pipetou-se as concentrações pré-determinadas do marcador, da solução tampão e dos extratos de pólen de *Dactylis glomerata*. Depois, começou o processo da corrida do gel através da ligação do suporte à fonte de corrente. Aquando da finalização da migração os géis foram retirados cuidadosamente, tendo os mesmo sido revelados ao serem submetidos a incubação à temperatura ambiente, na obscuridade e em agitação, nas soluções de fixação (30 minutos), coloração (30 minutos) e descoloração (20 em 20 minutos).

4. Resultados

No nosso estudo foi efetuada uma caracterização da qualidade do solo de vários locais com distintos tipos de ocupação do solo (urbano e rural), localizados em zonas com diferente influência de fontes de poluição (tráfego, industrial e fundo), para avaliar a possível influência na composição química das plantas da espécie *Dactylis glomerata* e o conteúdo proteico solúvel do seu pólen

4.1 Qualidade do solo

Neste ponto foram avaliados alguns parâmetros físico-químicos, que nos permitiram obter informação sobre a variabilidade do solo nos diferentes locais de amostragem e correlacioná-la com os resultados obtidos na análise das plantas.

4.1.1 Humidade residual

No gráfico 2, estão representados os valores médios da percentagem de água retida na fração TFSA registada nos diferentes locais de amostragem

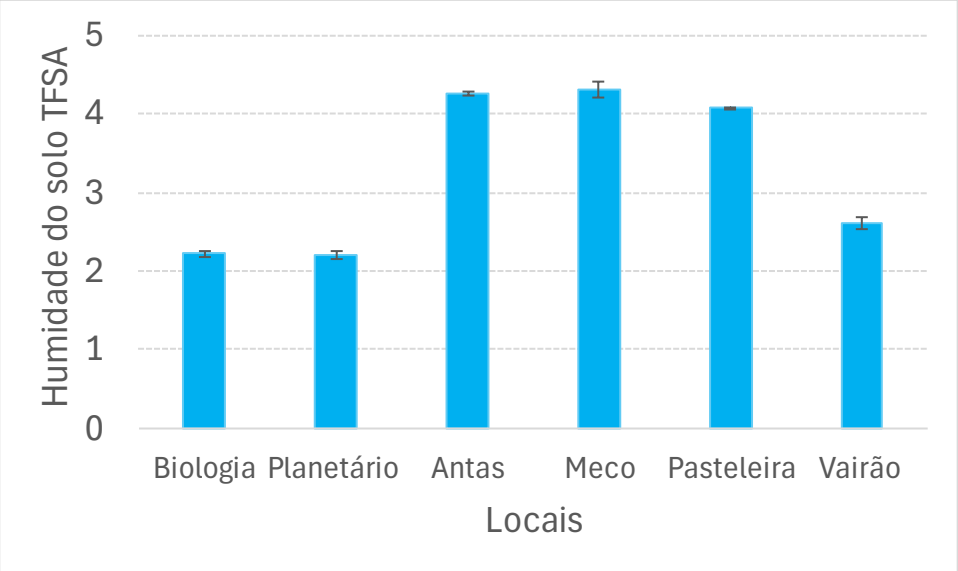


Gráfico 2: Valores médios em percentagem da humidade do solo TFSA nos locais de amostragem

Pode-se observar que os valores variam entre os 2% e os 4%, sendo os valores mais elevados observados nas Antas, Meco e Pasteleira (respetivamente 4,2;4,3; e 4,1%) e os menores na Biologia e Planetário (2,2 % para ambos os locais).

4.1.2 Teor de matéria orgânica

Pode-se verificar que o teor de matéria orgânica presente no solo da rizosfera foi muito superior ao observado no solo global nos diferentes locais de amostragem (gráfico 3).

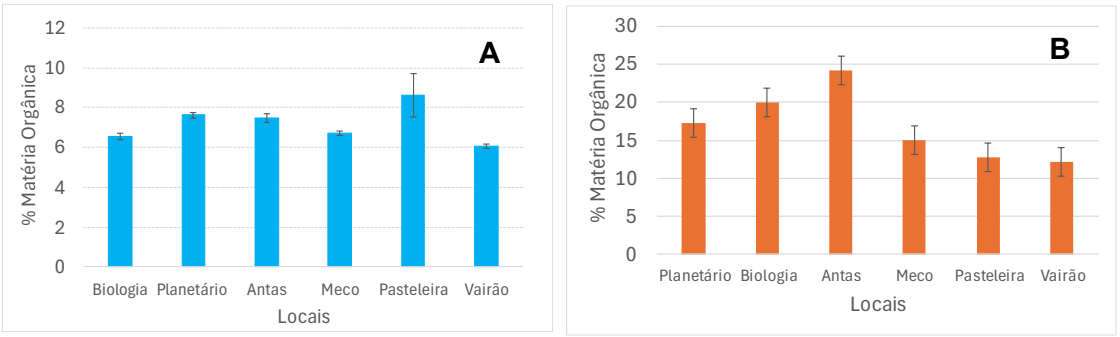


Gráfico 3: Teor de matéria orgânica nos diferentes locais de amostragem para A) os solo total e B) solo na rizosfera da *Dactylis glomerata*

Os valores médios da percentagem de matéria orgânica no solo para cada local de amostragem variam entre os 6%, em Vairão, e os 9%, na Pasteleira.

Ao contrário do esperado, a amostra de Vairão, localizado numa zona menos urbanizada que as restantes e com maior incidência de zonas verdes, apresentou um teor de matéria orgânica mais baixo. Era, deste modo, esperado que os valores fossem superiores em vairão do que nos outros, visto que, os solos urbanos tendem a ter menor percentagem de matéria orgânica como consequência da degradação e da impermeabilização a que se encontram sujeitos.

Em relação ao teor de matéria orgânica observado na rizosfera, Vairão como o local com menor percentagem (12,11%), estando de acordo com o encontrado para a totalidade do solo no mesmo local. No entanto, o local que apresentou um valor médio mais elevada de matéria orgânica foi as Antas (24,21%), mais de três vezes o valor observado no solo total.

4.1.3 Textura

Na figura 10 é apresentado, á direita, o triângulo textural do solo, em que através dos valores determinados para as diferentes frações do solo (argila, silte e areia), foi possível calcular e identificar a textura do solo existente em cada local de amostragem. Na parte esquerda da mesma figura, é possível evidenciar, a partir das cores que correspondem a cada uma das amostras, quais são os tipos de solo para cada local.

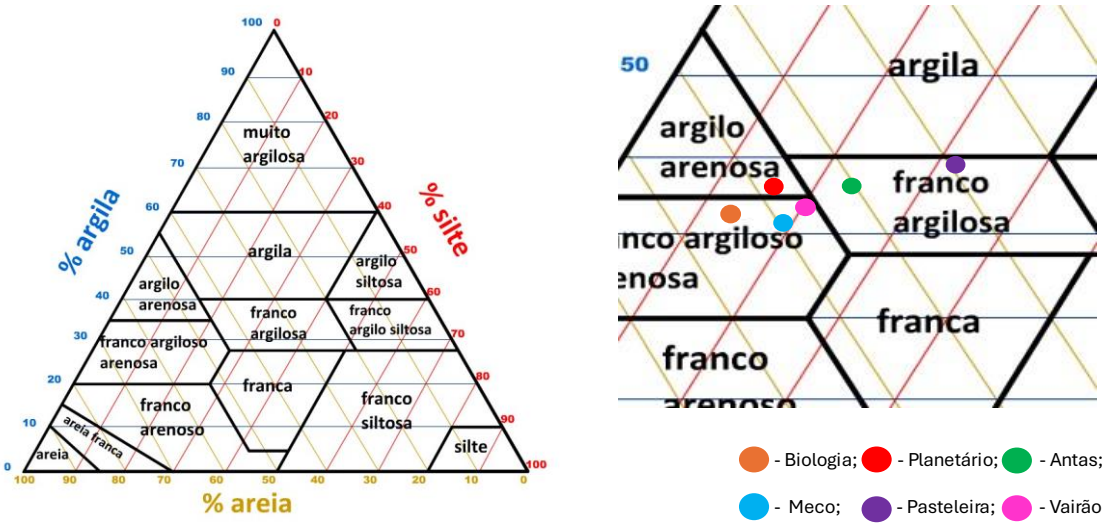


Figura 10: Triângulo textural do solo para amostras dos diversos locais em análise (figura adaptada de: https://docente.ifsc.edu.br/joao.quoos/textura_solo/textura.html)

Como é possível evidenciar através da visualização do triângulo de textura, na Biologia, Meco e Vairão, os solos amostrados têm a textura franco-argiloso-arenosa, e nas Antas e Pasteleira franco-argilosa. No Planetário, a textura do solo determinada foi argiloarenosa.

A diferença na textura encontrada entre os diferentes locais de amostragem, está principalmente relacionada com variações nas percentagens das frações areia e silte, mantendo-se as percentagens da fração argila entre 30 e 40.

4.1.4 Condutividade elétrica

Observou-se uma grande variabilidade nos valores de condutividade elétrica do sol entre os diferentes locais de amostragem (gráfico 4 A). O solo do local Biologia apresenta o maior valor (16,7 mS/m), muito superior aos dos outros locais. No Meco e Pasteleira registaram-se os valores mais baixos, 3,7 mS/m e 2,7 mS/m respetivamente. O valor de condutividade elétrica em Biologia indicia que na amostra de solo nesse local existe uma grande concentração iónica, podendo ser superior comparativamente com os outros.

Noa análise dos solos das rizosferas, a variabilidade de condutividade elétrica entre os locais já foi menor (gráfico 4 B). A Pasteleira e o Planetário apresentaram valores mais elevados (11,51 e 10,77 % respetivamente) enquanto os menores valores foram observados nas Antas e Biologia (6,2 e 5,8 % respetivamente). Em relação às amostras da rizosfera, os valores para os diversos locais em estudo foram superiores aos valores evidenciados a), menos para o local com uma média de condutividade elétrica superior para os solos, ou seja, a amostra de Biologia. A média da condutividade elétrica na rizosfera é de 6,5 mS/m, um valor inferior quando comparado com 16,7 mS/m correspondente à amostra de solo total.

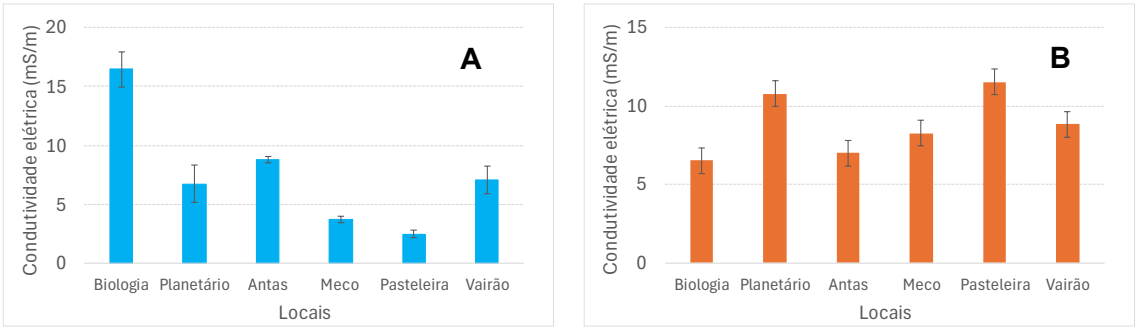


Gráfico 4: Condutividade elétrica para os diferentes locais de amostragem para A) solo total e B) solo da rizosfera da *Dactylis glomerata*

Os valores de condutividade elétrica obtidos para as amostras de solo na rizosfera foram ligeiramente superiores aos registados nos solos para o Planetário, Meco, Pasteleira e Vairão o que pode indicar a presença de uma maior concentração de iões como o Na^{+}, Ca^{2+}, Mg^{2+} e K^{+}, que são também iões importantes do complexo de troca catiónica do solo.

4.1.5 pH do solo

Os valores médios do pH determinado em H_2O para as amostras de solo variaram entre os 6,0 e os 6,50, com o solo recolhido em Biologia a apresentar valores médios mais elevados (7,85) (gráfico 5 A).

Em relação à média dos valores de pH dolo determinados em KCl, variaram entre os 5,00 e 6,00, não existindo um local com valores distintos dos outros. O diferencial entre esses valores e os valores determinados em H_2O variou entre 1,0 e 1,5, exceto para o caso do local de amostragem Biologia que foi mais elevado (2,7).

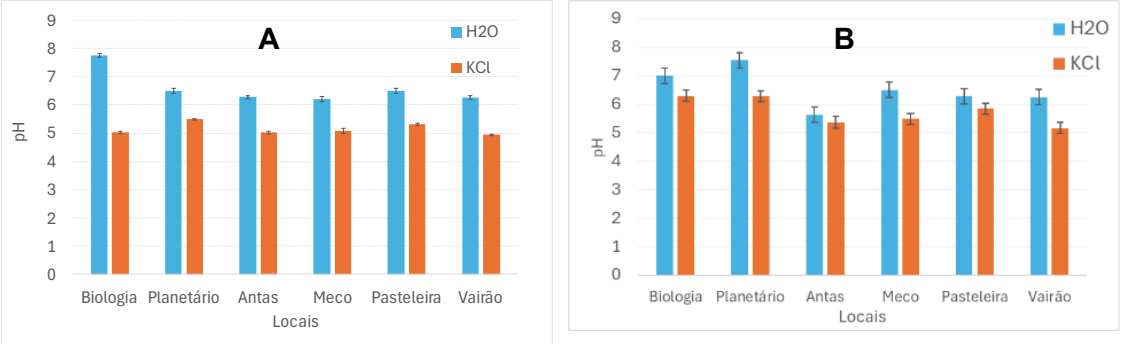
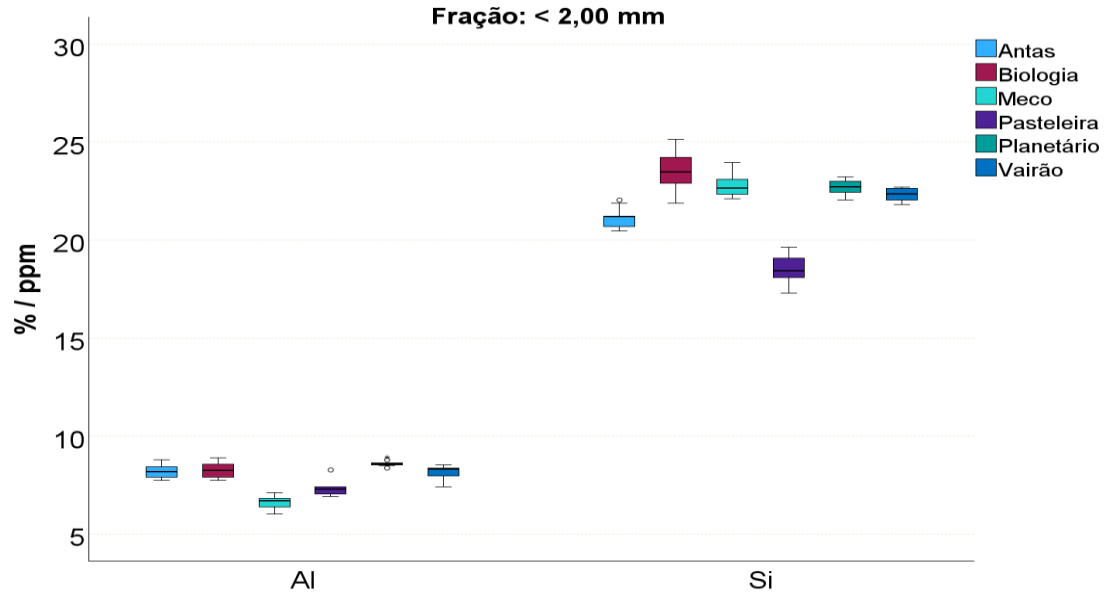


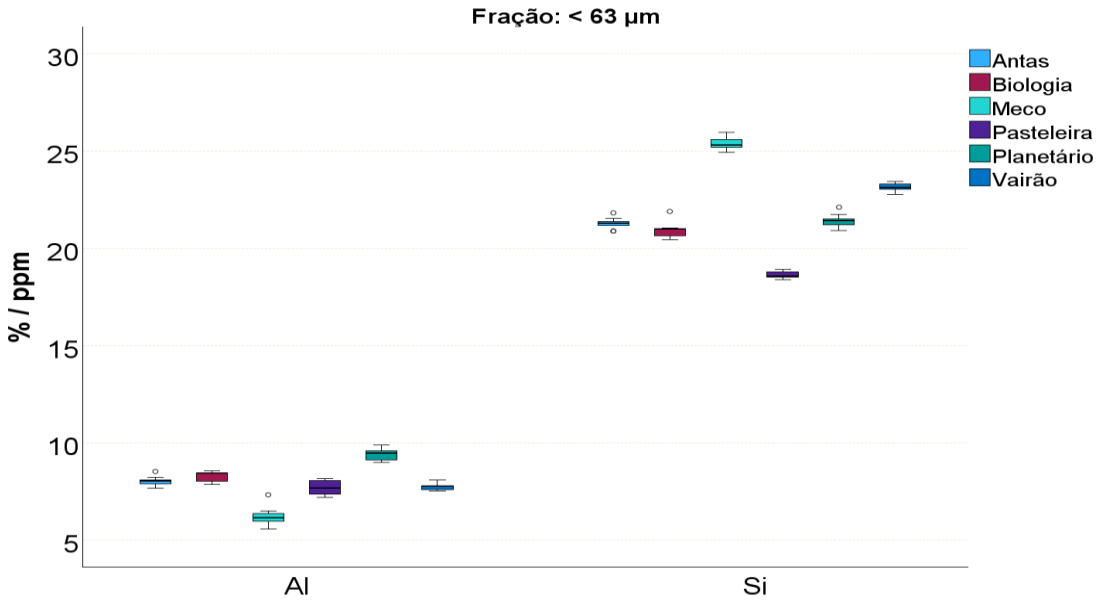
Gráfico 5: Valores de pH em H_2O e pH em KCl determinados para os 6 locais de amostragem para A) solo total e B) solo na rizosfera da *Dactylis glomerata*

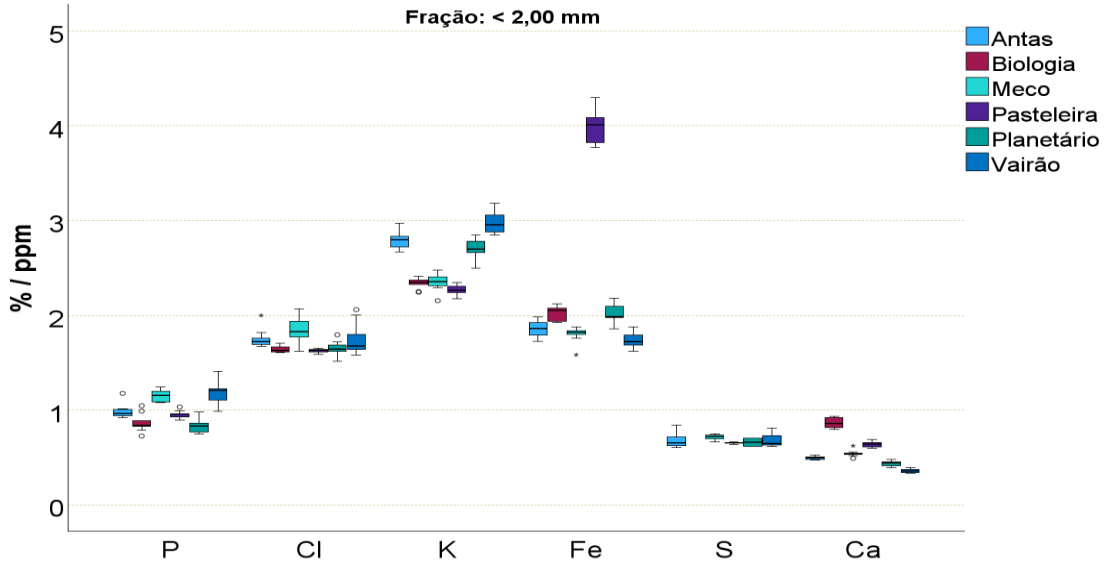
Na figura b) do gráfico 5, encontram-se evidenciadas as médias do pH para as amostras da rizosfera das plantas. Estas amostras apresentaram valores próximos aos determinados nas amostras de solo. Os valores de pH determinados em H_2O em Biologia e nas Antas diminuíram de 7,77 para 7,01 e de 6,28 para 5,63, respetivamente. O valor menor foi registado nas Antas (5,37). Em relação ao valor de pH determinado em KCl, foram maioritariamente superiores aos valores determinados para as amostras de solos.

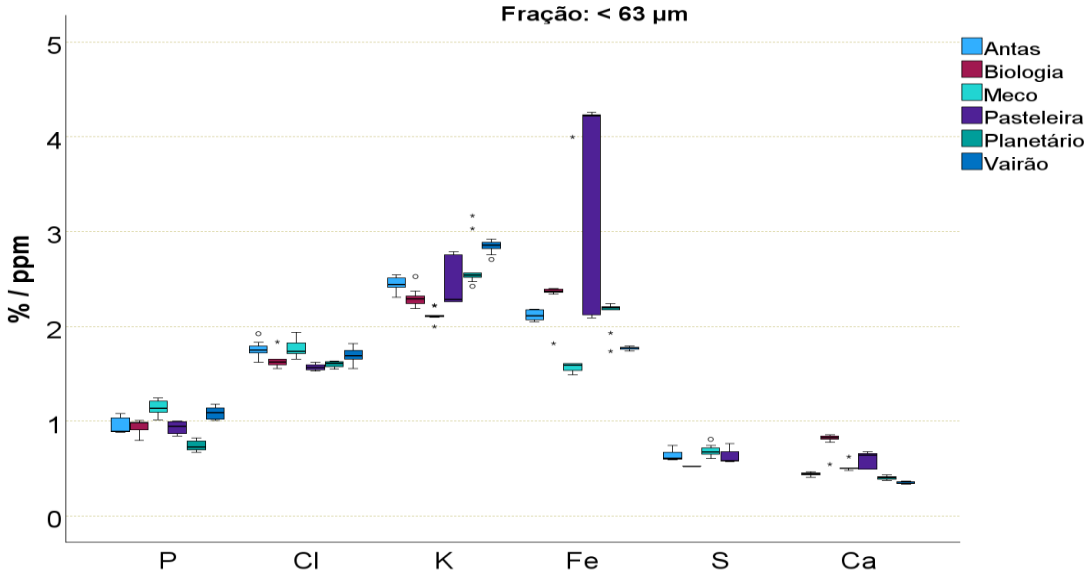
4.1.6 Composição elementar do solo

Na análise da componente elementar do solo, foram detetados vários elementos químicos que fazem parte da sua constituição. No entanto, para este estudo selecionaram-se apenas os que apresentavam em maior concentração (Al, Si, P, Cl, S, Ca e K) e os EPTs (Fe, Ni, Cr, Mn, Cu, Zn, Hg e Pb) registados em duas frações de solo: a fração TFSA < 2 mm e a fração < 63 µm.


Fração: < 2,00 mm
% / ppm
30
25
20
15
10
5
Al
Si
Antas
Biologia
Meco
Pasteleira
Planetário
Vairão


Fração: < 63 µm
% / ppm
30
25
20
15
10
5
Al
Si
Antas
Biologia
Meco
Pasteleira
Planetário
Vairão


Fração: < 2,00 mm
% / ppm
0
1
2
3
4
5
P
Cl
K
Fe
S
Ca
Antas
Biologia
Meco
Pasteleira
Planetário
Vairão


Fração: < 63 µm
% / ppm
0
1
2
3
4
5
P
Cl
K
Fe
S
Ca
Antas
Biologia
Meco
Pasteleira
Planetário
Vairão

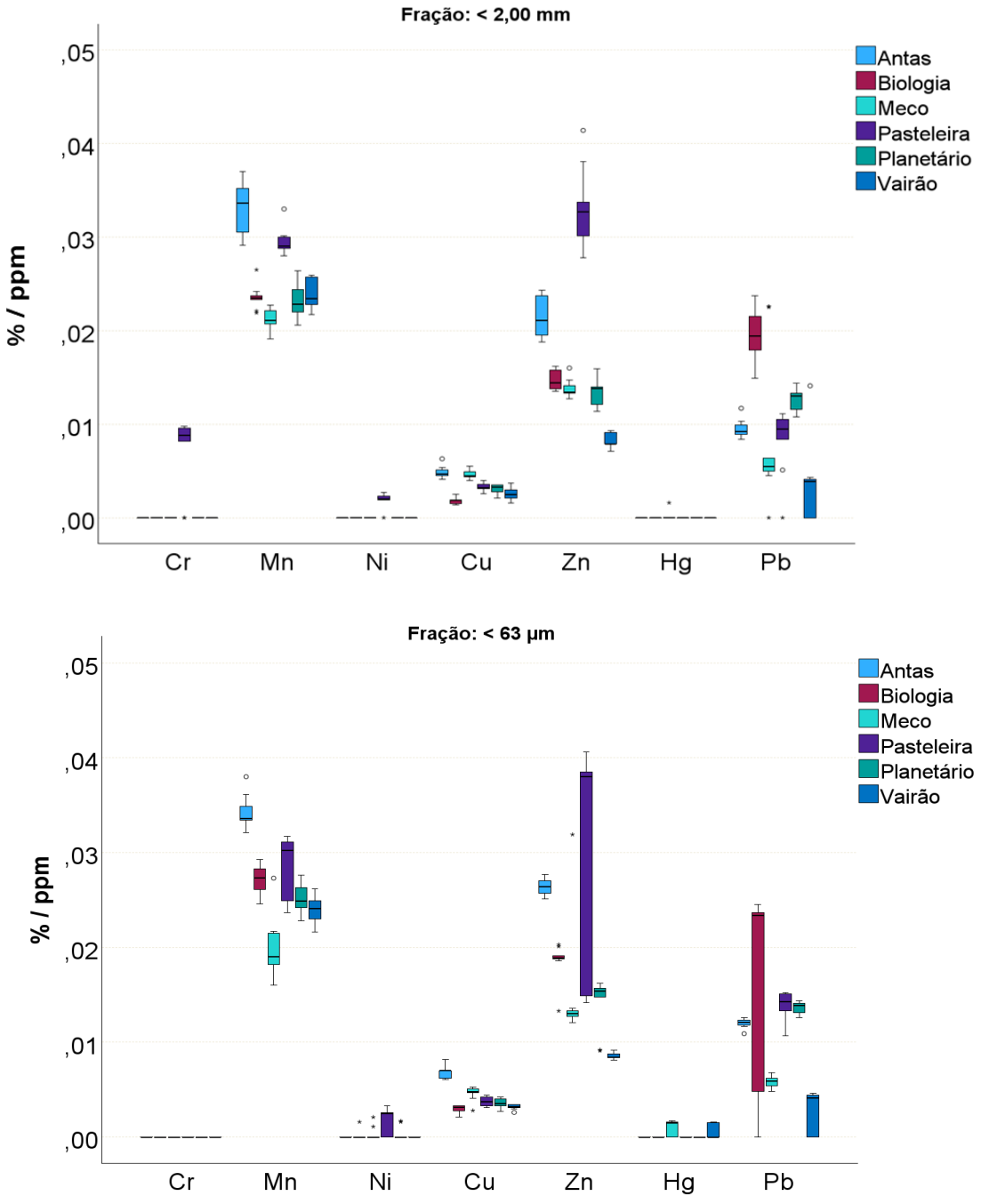


Gráfico 6: Concentrações dos elementos químicos em análise presentes nas amostras de solo dos diferentes locais na fração TFSA < 2 mm e na fração < 63 µm. Os elementos Al, Si, P, Cl, S, Ca e Ni medidos em % e os restantes Fe, K, Cr, Mn, Cu, Zn, Hg e Pb em ppm.

Como é possível evidenciar pelo gráfico 6, foram analisados alguns elementos químicos, grande parte deles são nutrientes para as plantas, tais como: o cobre, o enxofre, o cálcio, e o ferro. Mas, alguns destes nutrientes, quando em concentrações elevadas nos solos

podem ser considerados tóxicos (exemplo o Fe e o Cu). Outros elementos analisados são metais pesados, como o mercúrio, alumínio, crómio e o chumbo.

As concentrações dos diferentes elementos químicos nas amostras de solo para os diferentes locais, apresentam valores similares em ambas as frações (< 2 mm e < 63 µm).

Os elementos com maior concentração em todas as amostras foram o silício e o alumínio, sendo que as mesmas variaram entre 18-25 % e 6-9 %, respetivamente.

Alguns dos metais pesados mais prejudiciais para as plantas e para a saúde humana, tais como, o chumbo, o mercúrio e o zinco, encontram-se em concentrações muito reduzidas, inferiores a 0,05 ppm, sendo que em quase todos os locais não se deteta a presença de mercúrio, exceto na fração < 63 µm. nas amostras do meco e de vairão.

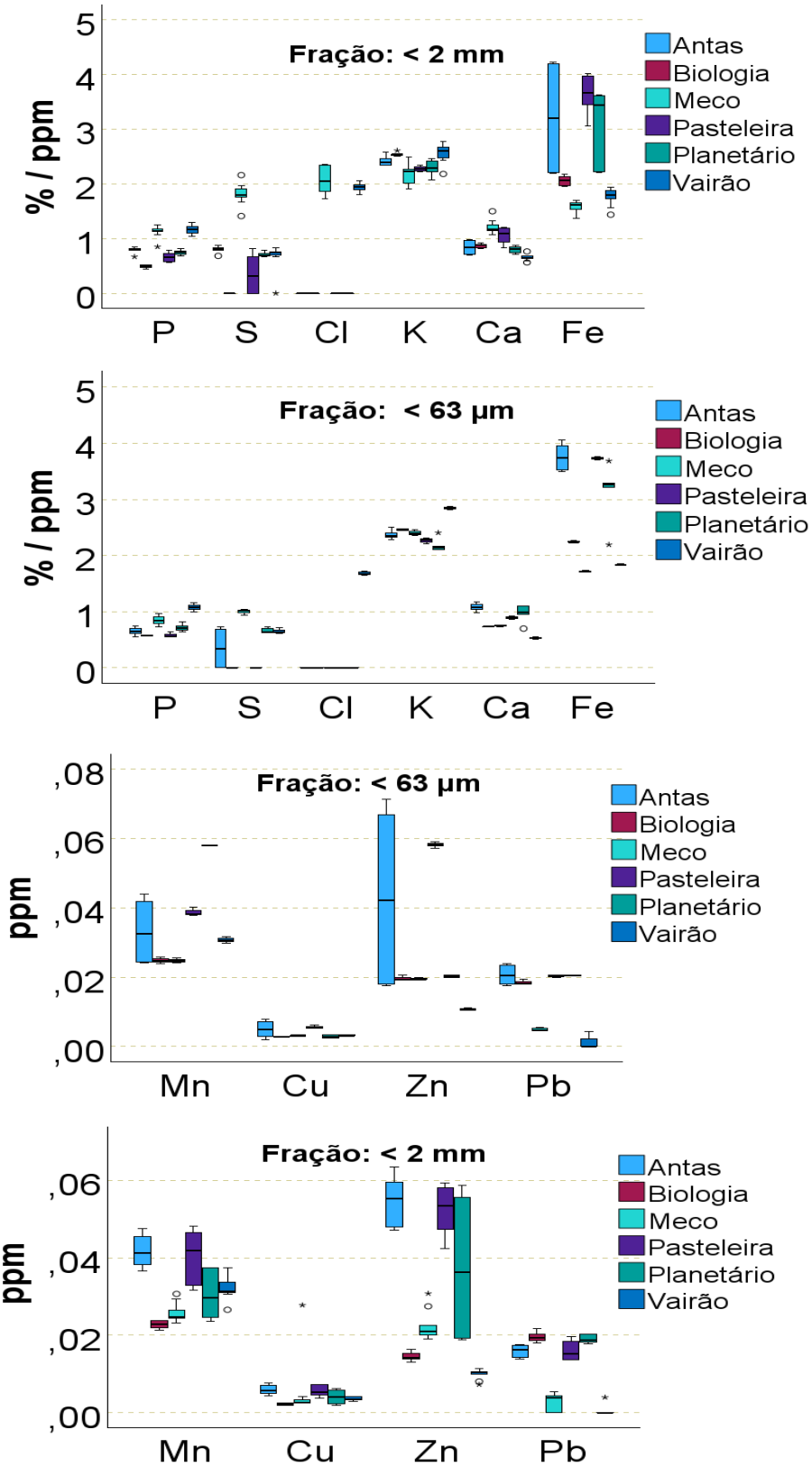


Gráfico 7: Concentrações dos elementos químicos em análise presentes nas amostras de solo da rizosfera de *Dactylis glomerata* nos diferentes locais. Os elementos P, S, Cl e Ca medidos em % e os restantes K, Fe, Mn, Zn e Pb em ppm.

Em relação às concentrações dos elementos químicos considerados como nutrientes para as plantas, alguns elementos mantiveram valores próximos dos obtidos para a amostra de solo total, tais como, o potássio, o fósforo e o cálcio, mas existem algumas exceções.

Na fração < 2 mm, para o local Meco, a concentração de enxofre duplicou face à do solo total, enquanto na fração < 63 µm, o valor foi concordante com a observada no gráfico 6. Por outro lado, não foi detetada a presença de cloro em ambas as frações, exceto para o Meco na fração < 2 mm.

Alguns dos elementos do grupo dos metais pesados que estão presentes nas amostras de solo total, não foram detetados na rizosfera (níquel e crómio). Os outros metais pesados detetados nunca excederam os 0,08 ppm.

Comparando os valore obtidos no solo total e na rizosfera foi possível observar que as concentrações dos metais pesados, na generalidade, não diferem muito, mas existem algumas exceções. Nas Antas e na Pasteleira, as concentrações de zinco na fração < 2 mm, passaram de 0,03 ppm na amostra de solo total para 0,06 ppm e 0,05 ppm na rizosfera, respetivamente.

O metal pesado em que ocorreu diferenças mais consideráveis entre o solo total e o solo presente na rizosfera foi o chumbo. Nas Antas, Pasteleira e Planetário, em ambas as frações do solo analisadas, as concentrações deste elemento duplicaram de 0,01 ppm para 0,02 ppm, mostrando a sua acumulação na zona das raízes.

4.1.7 Concentração de nitratos, nitritos e amónia

Existe uma grande variabilidade na determinação dos nitratos, entre 23,0 e 9,5 mg/L em Biologia e Vairão respetivamente (Tabela 5).

Os valores dos nitratos apresentam uma baixa variabilidade, em que o valor determinado como mais alto (0,047 mg/L) para a amostra do Meco e o mais baixo (0,033 mg/L) nas Antas (Tabela 5).

Em relação à amónia, os valores variaram entre 0,620 mg/L nas Antas e 0,275 mg/L no Meco (Tabela 5).

Tabela 5: Concentração de nitratos, nitritos e amónia para as amostras de solo dos diversos locais de amostragem

Local	Nitratos (mg/L) (n=9)	Nitritos (mg/L) (n=9)	Amónia (mg/L) (n=9)
	Valor médio ± x̄	Valor médio ± x̄	Valor médio ± x̄
Biologia	23,0 ± 0,71	0,037 ± 0,012	0,473 ± 0,080
Planetário	17,0 ± 2,86	0,043 ± 0,012	0,567 ± 0,133
Antas	17,8 ± 1,76	0,033 ± 0,006	0,620 ± 0,046
Meco	13,2 ± 4,24	0,047 ± 0,021	0,275 ± 0,064
Pasteleira	14,6 ± 3,89	0,040 ± 0,017	0,437 ± 0,135
Vairão	9,5 ± 1,27	0,030 ± 0,010	0,200 ± 0,057

Legenda: x̄ representa o desvio padrão

4.2 Análise da composição elementar das plantas

Na análise das plantas foram apenas considerados 3 dos 4 metais pesados presentes nas amostras de solo da rizosfera, pois não foi detetada a presença de manganês nas diversas partes da planta (raízes, flores e anteras), um metal alcalinoterroso, o estrôncio e também um nutriente, o ferro.

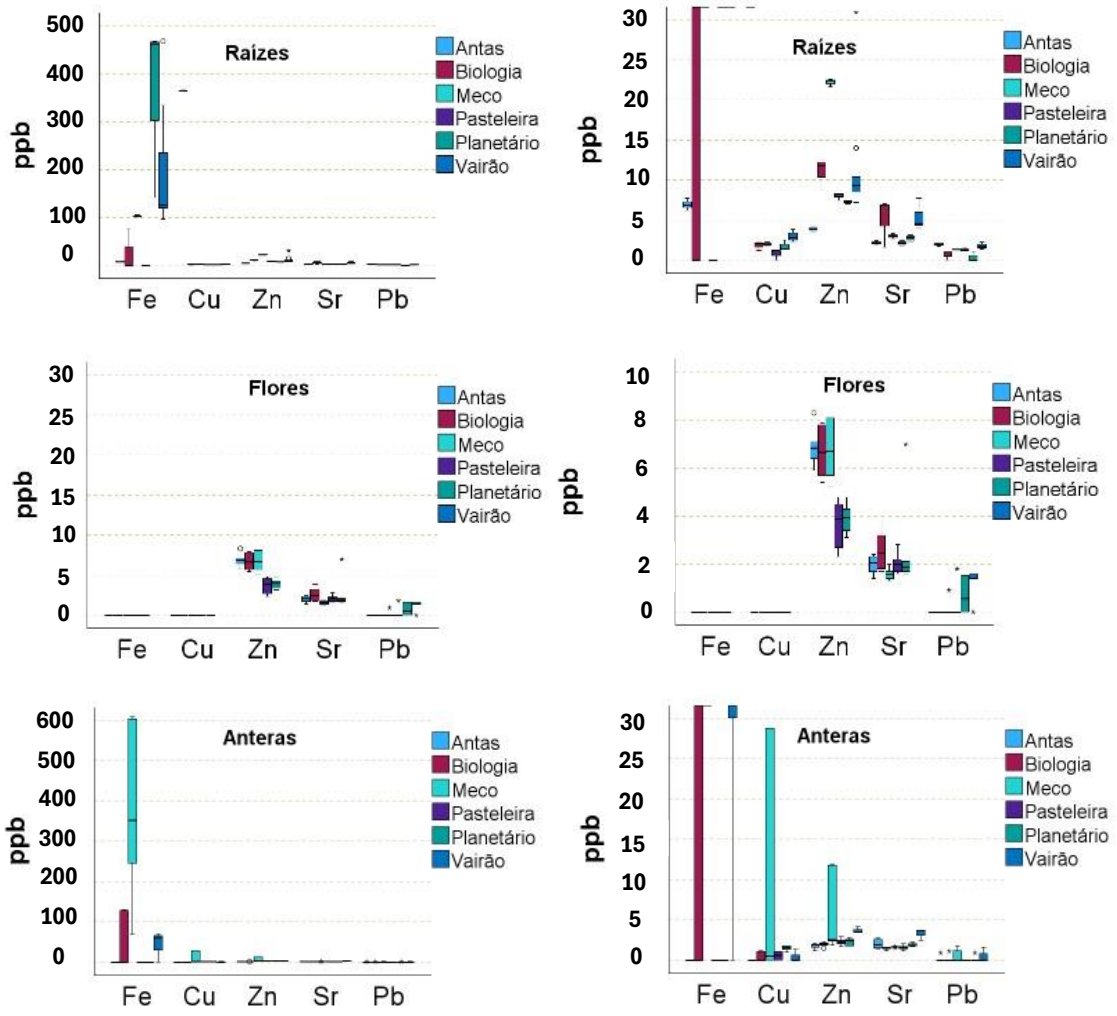


Gráfico 8: Concentrações dos elementos químicos nos três órgãos da *Dactylis glomerata* em análise (raízes, flores e anteras) em ppb.

A concentração dos elementos analisados foi superior nas raízes comparativamente com as flores e as anteras.

O ferro como é considerado um nutriente a sua concentração nas raízes foi elevada quando comparada com outros elementos que não são considerados nutrientes da planta (Sr e Pb). No entanto, os valores encontram-se abaixo do limite de deteção nas flores, não nas anteras, inclusive em Biologia de ferro nas anteras são superiores às detetadas nas raízes.

A concentração de cobre variou entre 2-5 ppb nas raízes, nas flores não foi detetado a sua presença e nas anteras as concentrações rondaram os 2 ppb (no entanto numa das réplicas obteve-se o valor de 25 ppb).

As concentrações de zinco detetadas nas raízes apresentam elevada variação entre locais, sendo o valor máximo 22,7 ppb registado no Meco, seguido das Antas com 12,1 ppb enquanto nos outros locais de amostragem, não chegou aos 10 ppb. Ao contrário, do verificado para o ferro e o cobre, foi detetada presença de zinco nas flores, sendo as concentrações superiores às determinadas para as anteras em todos os locais de amostragem.

O estrôncio é um metal alcalinoterroso que, geralmente, se encontra presente nos solos, e, caso, a sua concentração seja elevada pode afetar as plantas. As concentrações deste metal, nas raízes para os locais de amostragem variou entre os 4 e os 6 ppb, enquanto nas flores e anteras entre os 2-3 ppb, aproximadamente metade do verificado nas raízes.

Foi detetada a presença de chumbo nos três órgãos em análise, mas não em todas as amostras dos locais. Nas raízes, foi detetada a presença deste elemento em todos os locais apresentando valores que variaram entre 2,1 e 0,72 ppb. Já, nas flores só em dois locais a sua presença, Planetário e Vairão com 1,2 e 1,8 ppb, respetivamente. Por último, a presença de chumbo nas anteras foi detetada em dois locais, Meco e Planetário, apresentando valores de 1,4 e 1,2 ppb.

4.3 Análise do pólen de *Dactylis glomerata*

Foi determinado o conteúdo em proteínas solúveis do pólen recolhido da *Dactylis glomerata* assim como o perfil polipeptídico.

Tabela 6: Quantificação do conteúdo proteico solúvel do pólen de *Dactylis glomerata* recolhido nos diferentes locais de amostragem

	Concentração de proteína solúvel (mg/L)					
	Biologia	**Planetário**	**Antas**	**Pasteleira**	**Meco**	**Vairão**
	1756,7	1631,2	2232,3	1439,7	1155,6	2496,5
	1558,6	1604,8	2311,5	1525,5	1208,6	2456,9
	1717,1	1763,3	2443,6	1651,0	1241,5	2404,0
Média	**1677,5**	**1666,4**	**2329,2**	**1538,8**	**1201,8**	**2452,5**

Foi observado variações no conteúdo proteico solúvel do pólen nos diferentes locais de amostragem (tabela 6). O pólen recolhido nas Antas e em Vairão apresentou valores mais elevados (2329,2 mg/L e 2452,5 mg/L respetivamente), muito superiores aos registados para os outros locais de amostragem. O conteúdo proteico do pólen recolhido

das plantas na Biologia e Planetário foi muito próximo enquanto o menor valor registado foi obtido para o Meco.

Na figura 11 é possível observar o perfil proteico por eletroforese SDS-PAGE obtido para as amostras de pólen recolhidas em cada local. Após migração do gel, diversas bandas características, entre os 15 e os 130 kDa, que apresentaram um perfil semelhante entre os locais amostrados podem ser observadas. Estas bandas indiciam a presença de proteínas específicas, localizando-se as mais proeminentes no intervalo entre os 70 e 55 kDa e entre os 38 e 20 kDa.

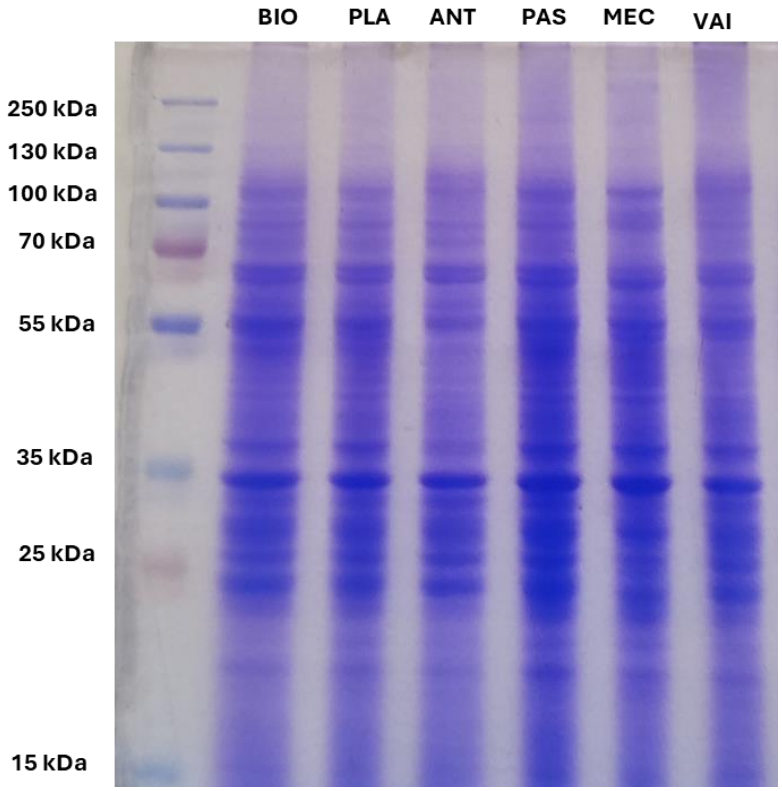


Figura 11: Resultados do gel SDS-PAGE, corado com a solução azul de Coomassie, para as proteínas solúveis dos extratos de pólen de *Dactylis* glomerata para os diferentes locais em análise com o peso molecular das bandas expressas em kDa (BIO – Biologia; PLA – Planetário; ANT – Antas; PAS – Pasteleira; MEC – Meco; VAI – Vairão).

Comparando os diferentes perfis, observa-se o pólen recolhido nas Antas e Vairão apresentou um perfil polipeptídico com menor intensidade de coloração das bandas em contraste com a Pasteleira e o Meco, onde se verificou a maior coloração. Estes resultados estão negativamente correlacionados com os valores totais de proteína solúvel quantificados

4.4 Avaliação da qualidade do ar

Os dados apresentados na figura 9, mostram a comparação entre a média total das concentrações de cinco poluentes: PM_{10}, NO_2, O_3, NO_x e NO, ao longo de 4 anos (2018, 2019, 2022 e 2023) nos diferentes locais de estudo.

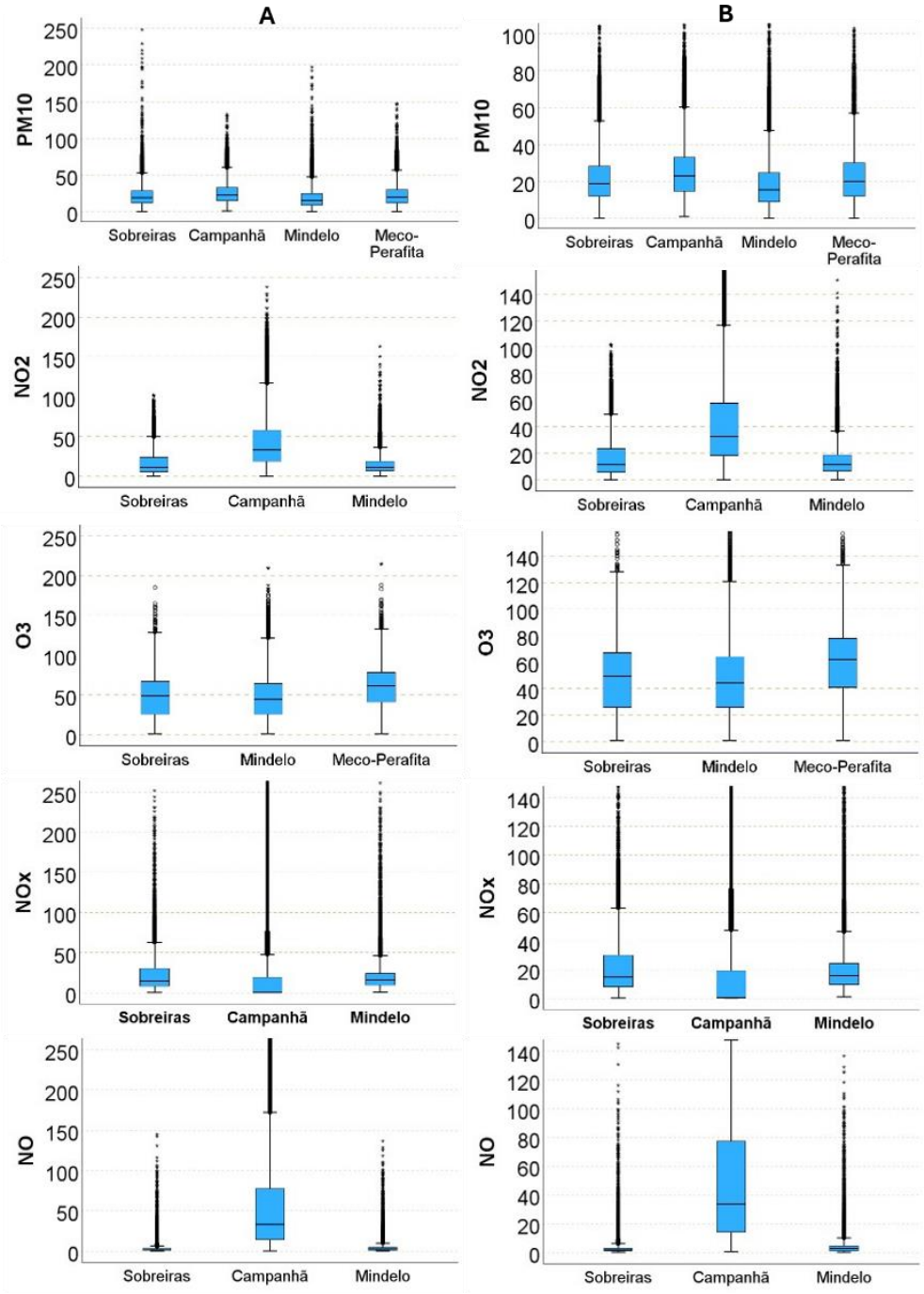


Gráfico 9: Concentrações em µg/m^3 das medianas dos diferentes poluentes (PM_{10}, NO_2, O_3, NO_x e NO) medidos nas diferentes estações de medição da qualidade do ar (Sobreiras, Campanhã, Mindelo e Meco-Perafita) nos anos (2018,2019,2022 e 2023).

Legenda: os gráficos em B são aproximações dos gráficos em A

As medianas para as PM_{10} analisadas nas quatro estações de medição mostram concentrações próximas de 20,00 µg/m^3, sendo o valor mais elevado, 23,74 µg/m^3 registado na estação de Campanhã e o valor mais baixo 18,43 µg/m^3 registado na estação do Mindelo.

O NO_2, só foi medido em três estações, pois a estação do Meco-Perafita não efetua a sua monitorização. As medianas nos diferentes locais apresentam maior variação do que as PM_{10}, pois na estação de Campanhã observou-se uma mediana muito superior ao das duas outras estações (36,97 µg/m^3).

O ozono também só foi medido em três estações, não havendo a existência de qualquer medição em Campanhã. Das três estações a que registou uma mediana mais elevada ao longo dos 4 anos foi a de Meco-Perafita em que os valores excedem os 60,00 µg/m^3.

A medição dos óxidos de azoto, foi realizada em todas as estações que também efetuaram para o dióxido de azoto. Foi possível observar que a mediana em Campanhã é muito próxima de 0 µg/m^3 e que nos outros dois locais (Sobreiras e Mindelo), o valor aproxima-se dos 20 µg/m^3.

Ao contrário, do que foi medido para os óxidos de azoto, o monóxido de azoto, que também foi analisado nas mesmas três estações, nas duas estações que apresentavam a mediana de valores próximos de 20 µg/m^3 para os NO_x registaram um valor muito próximo de 0 µg/m^3 enquanto na estação de Campanhã, o valor corresponde a 35,62 µg/m^3.

Tabela 7: Médias dos diferentes poluentes para cada local

Poluentes / Locais	**Médias (µg/m^3)**				
	PM_{10}	**NO_2**	**O_3**	**NO_X**	**NO**
Sobreiras	22,8	16,9	47,5	24,1	4,2
Campanhã	25,1	43,9	n.m	21,4	66,4
Mindelo	19,0	14,6	46,4	21,1	4,2
Meco-Perafita	22,3	n.m	59,4	n.m	n.m

Legenda: n.m – não existe medição

Na tabela 7, é possível observar as médias dos diferentes poluentes registadas nas estações de medição de qualidade do ar, próximas dos diferentes locais de amostragem dos solos, plantas e do pólen.

Para valores médios em todas as estações para as PM_{10}, não existe uma variação muito significativa de valores, sendo o valor mais alto registado em Campanhã, 25,1 µg/m^3, e o valor mais baixo na estação do Mindelo 19,0 µg/m^3.

Os valores médios de NO_2 só foram efetuados em 3 locais, sendo Campanhã, o local em que a mesma é mais elevada 43,9 µg/m^3, mais do dobro da registada em Sobreiras e no Mindelo, 16,9 e 14,6 µg/m^3, respetivamente.

Os valores para o ozono variam entre os 45 e os 60 µg/m^3, sendo que na estação do Meco-Perafita, uma estação industrial, os valores são os mais altos 59,4 µg/m^3.

Os óxidos de azoto e o monóxido de azoto, só foram medidos nas estações que mediram dióxido de azoto. Para os NO_x os valores médios foram nesses três locais entre 20 e 25 µg/m^3. Mas, para o NO, existiu uma grande diferença entre a medição realizada em Campanhã cujo valor foi de 66,4 µg/m^3 e a medição realizada quer em Sobreiras 4,2 µg/m^3 quer no Mindelo 4,2 µg/m^3.

Tabela 8: Legislação existente para cada um dos poluentes em análise

Poluente	**Concentração** (µg/m^3)	**Período**	**Natureza legal**	**Excedências por ano**
PM_{10}	50 / 45	24 horas	Valor limite	35 / 18
	40 / 20	1 ano		n.v
NO_2	200 / 200	1 hora	Valor limite	18 / 3
	40 / 20	1 ano		n.v
O_3	120 / 120	Máximo diário das médias de 8 horas	Valor alvo	25 dias em 3 anos
NO_x	30 (vegetação) / 30	1 ano	Valor crítico	n.v
NO	n.v	n.v	Valor limite	n.v

Legenda: n.v – não há valor

Para cada um dos poluentes na figura, exceto para o NO, existem na tabela dois valores, um primeiro, que é referente ao Decreto-Lei nº 102/2010 da República Portuguesa e um segundo, referente à Diretiva nº 2024/2881/CE, do Parlamento e do Conselho Europeu, de 23 de outubro de 2024, em que os valores nele descritos são iguais ou inferiores ao do anterior documento

Os valores limite, valores alvo e valores críticos acima referidos foram legislados no Decreto-Lei nº 102/2010, de 23 de setembro em que os mesmos são estabelecidos para diferentes poluentes atmosféricos, entre os quais, alguns dos que estão presentes na tabela 7 (DL nº102/2010, *Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro*, 2010). Este Decreto-Lei foi a transposição da Diretiva nº 2008/50/CE, do Parlamento Europeu e do

Conselho, de 21 de maio, e a Diretiva nº 2004/107/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho e no mesmo documento é estabelecido o regime da avaliação e gestão da qualidade do ar ambiente (DL nº102/2010, *Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro*, 2010).

Os óxidos de azoto correspondem a diversos compostos de azoto e oxigénio, tais como: o óxido nitroso, o monóxido de azoto, o dióxido de azoto (APA - Agência Portuguesa do Ambiente, 2021a). Em Portugal, o único poluente que pertence aos óxidos de azoto em que existe legislação em vigor é o dióxido de azoto cujo valor anual é 40 $\mu g/m^3$. Para os óxidos de azoto o valor estabelecido (30 $\mu g/m^3$) é expresso como um nível crítico anual para proteção ambiental (*Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro*, 2010; Tejo, 2014). Em relação ao monóxido de azoto (NO) não se encontra definido nenhum valor específico.

Em relação aos valores limite expressos na Diretiva nº 2024/2881/CE, estes são valores que tem como princípio a proteção da saúde humana e que são para serem atingidos até ao dia 1 de janeiro de 2030 (*Qualidade do ar ambiente e a um ar mais limpo na Europa*, 2024). Através da visualização da tabela os valores para os óxidos de azoto, NO_x, e para o ozono, O_3, não sofreram alterações quando comparado ao que se encontra legislado em Portugal.

Mas, para os casos dos poluentes: material particulado com dimensão inferior a 10 (μm) (PM_{10}) e Dióxido de azoto (NO_2) os valores limite na nova legislação são inferiores aos que se encontram na legislação em vigor pela República Portuguesa.

Na diretiva europeia mais recente, os valores limite legislados para as PM_{10} são inferiores quando comparados com os que se encontram em vigor na República Portuguesa. Os valores limite diários são de 45 $\mu g/m^3$, e os anuais são de 20 $\mu g/m^3$ que são inferiores aos 50 $\mu g/m^3$ e 40 $\mu g/m^3$, respetivamente, no DL nº 102/2010.

Os valores limite para o NO_2 também são inferiores na diretiva europeia mais recente, aquando comparados com o DL nº 102/2010. Os valores limite para 1 hora são os mesmos (200 $\mu g/m^3$) nos dois documentos, mas o valor limite anual é inferior no documento mais recente (Diretiva nº 2024/2881/CE), 20 $\mu g/m^3$, ou seja, metade do valor limite no outro documento, DL nº 102/2010, 40 $\mu g/m^3$.

As concentrações médias ao longo dos 4 anos para quase todos os poluentes são inferiores aos valores limite presentes na legislação portuguesa, mas como é possível evidenciar ao visualizar pela Gráfico 9, existem inúmeras excedências aos valores limite por hora ou diários.

5. Discussão

As áreas em estudo pertencem à mesma região espacial do nosso país, a Área Metropolitana do Porto. Apresentam diversas diferenças em parâmetros como o uso dos solos, o grau de urbanização e atividades económicas predominantes, o número de infraestruturas entre outros fatores que podem assim ter impacto nas propriedades dos solos.

Diversos estudos em áreas urbanas em países desenvolvidos reportam a contaminação dos solos por metais pesados nesses locais (Goncharov et al., 2024; Huang et al., 2020; Priya et al., 2023) que ultrapassam os limites de concentração legislados para esses elementos, podendo assim constituir um fator de preocupação e um risco para o meio ambiente e todos os seres vivos.

Em relação às análises de solo, quer do solo total quer da componente localizada na rizosfera da *Dactylis glomerata*, foi detetada a presença de diversos elementos químicos entre os quais MPs tais como o Mn, o Cu, o Zn e o Pb. Nos diferentes locais em análise, as concentrações de MPs nos solos foram reduzidas quando comparadas com outros estudos (Li, Lu et al., 2023; Liu, van der Heijden, Riedo et al., 2023; Sun et al., 2013).

Para além de ter sido detetada presença de MPs, também é necessário, ter em conta as propriedades físico-químicas dos solos (pH, teor de matéria orgânica, humidade, condutividade elétrica, nitratos, entre outros), que impactam o transporte, a biodisponibilidade e a mobilidade destes elementos ao longo dos solos e deste para as plantas (Cachada, 2007; Dutta, Patra et al., 2022; Goncharov et al., 2024; Mirsal, 2008).

Solos muito contaminados com metais pesados apresentam geralmente baixas percentagens de matéria orgânica, inferiores a 5%, afetando assim, a atividade microbiana (Baker al., 2011). No nosso estudo, nas amostras dos solos totais e nas rizosferas, a percentagem de matéria orgânica observada foi superior a 5% em todos os locais, o que evidencia que os solos não se encontram deficientes nesta componente, e assim, não promovem a imobilização de metais pesados na sua constituição, como o zinco e o chumbo (Baker et al., 2011; Kwiatkowska-Malina, 2018).

A condutividade elétrica é influenciada por diversos fatores tais como, temperatura, quantidade e uso de fertilizante (Othaman et al., 2020). É também influenciada pela humidade e pela textura dos solos (Hawkins et al., 2017). Solos com maior teor de humidade contêm iões que tem a capacidade de serem bons condutores de eletricidade,

ao contrário dos solos secos; solos com fração argila bem representada tendem a ter maior condutividade elétrica que solos com fração arenosa dominante, visto que a área de superfície e a porosidade da argila quando comparada com a da areia é superior (Al-Moadhen et al., 2024; Hawkins; et al., 2017).

A amostra de solo de Biologia, é a que apresenta uma menor fração de argila quando comparada com todos os outros locais, deste modo, a elevada condutividade elétrica não pode ser comprovada com a presença da fração argila. No nosso estudo, verificou-se que as diferenças verificadas na textura do solo estariam mais relacionadas com a variabilidade na fração argila e silte e menos na da argila. Assim, a variabilidade observada na condutividade elétrica entre os diferentes locais poderá estar relacionada a outros fatores, como por exemplo a percentagem de água ou a percentagem de matéria orgânica presentes no solo.

O pH é uma propriedade do solo que indica a acidez ou alcalinidade, e, influencia a mobilidade dos elementos potencialmente tóxicos, nos solos e a disponibilidade dos mesmos para serem absorvidos pelas plantas (Ullrich et al., 1999). No nosso estudo, os valores de acidez real das amostras de solos totais rizosfera, variou entre os 6 e os 8 e segundo outros estudos (Costa, 2015; Ribeiro, 2013), a retenção de metais pesados existe, mas é potenciada a valores de pH mais baixos, inferiores a 5. Solos com pH mais baixo também pode potenciar a biodisponibilidade dos metais pesados para as plantas. Deste modo, tendo em conta o pH das nossas amostras, não estarão presentes as condições favoráveis para a mobilidade dos metais pesados.

Um dos processos mais importantes e que determina a qualidade dos solos é a nitrificação. Este processo tem como principais vantagens a regulação e o equilíbrio das diferentes formas de nitrogénio mineral, NH_4^+ e NH_3.

A presença e as concentrações de diferentes constituintes do ciclo de azoto, como os nitratos, nitritos e amónia e a relação entre eles é afetada por diversos fatores, entre os quais: a temperatura e o pH do solo (López Pasquali et al., 2007). Em todos os locais de amostragem não foi detetada a presença de nitrito, facto que se pode dever à rápida conversão de nitritos em nitratos por bactérias nitrificantes e porque, em condições normais, o nitrito é apenas, um intermediário, na conversão entre a NH_4^+ e o NO_3^- (Samater et al., 1998). Assim podemos afirmar que a componente biológica do solo, particularmente a microbiológica interveniente no ciclo do azoto estará a funcionar.

Para um normal crescimento e desenvolvimento das plantas, é necessário a existência de inúmeros nutrientes essenciais, inclusive alguns nutrientes que fazem parte do grupo

de metais pesados (ex: Mn, Zn, Cu) que são considerados micronutrientes (Angulo-Bejarano et al., 2021).

Alguns elementos químicos, interferem com a presença e as concentrações de outros, tais como: o zinco e o chumbo que tem impactos na absorção, no transporte e no uso de outros elementos, tais como, cálcio, magnésio, fósforo e o potássio, bem como a absorção de água pelas plantas (Lovynska et al., 2024). Nas amostras das *Dactylis glomerata* analisadas neste estudo, a acumulação de metais pesados e de outros elementos foi superior nas raízes comparativamente com as flores e as anteras (Carabulea et al., 2024; Pietrelli et al., 2022).

Como referido por (Jiménez et al., 2018), 4 dos 5 elementos analisados no nosso estudo nas amostras da rizosfera e nos diferentes órgãos da planta, o zinco, o chumbo, o estrôncio e o cobre, seguem a tendência do estudo, concentração é maior na rizosfera do que nos órgãos da planta.

Por outro lado, no nosso estudo e tal como evidenciado em (Jiménez et al., 2018), nas amostras dos 6 locais, as raízes são o órgão da planta em que as concentrações dos diferentes elementos são mais elevadas.

O crómio, ao contrário dos outros metais acima referidos, apresenta uma maior acumulação nas flores.

No caso do cobre, não foi detetada a sua presença nas flores de *Dactylis* glomerata analisadas, mas estava em concentrações acima do limite de deteção nas anteras. Este elemento está descrito na literatura como apresentando baixo fator de transporte desde as raízes para os outros órgãos da planta (Pietrelli et al., 2022). Esta situação poderá também contribuir para a acumulação nas anteras, órgão que na altura da recolha das amostras das plantas está mais ativamente em desenvolvimento e funcionamento.

A presença de chumbo é muito baixa nos órgãos da planta quando comparada com a presença de outros elementos, como o zinco ou o ferro, tal como é evidenciado em diversos artigos (Baldi et al., 2021; Khan et al., 2015; Pietrelli et al., 2022).

A concentração de proteínas solúveis no pólen mostrou algumas diferenças entre os diversos locais em análise. Os dois locais onde se registou maior concentração foram Antas e em Vairão, que apresentam condições contrastantes em termos de qualidade do ar e concentração de poluentes. Para Vairão, a estação de referência utilizada foi a do Mindelo que registou na generalidade valores de concentração dos diferentes

poluentes muito inferiores às registadas na estação de monitorização de Campanhã, que foi utilizada como estação de referência para o local de amostragem, Antas.

No estudo do perfil polipeptídico presente no pólen, tal como concentração de proteína solúvel, foram observadas diferenças entre os locais de amostragem. Estas diferenças foram apenas registadas a nível de intensidade de coloração, possível indicador de maior concentração das respetivas bandas, não havendo alterações no perfil proteico. No entanto, os extratos de pólen que apresentavam maior concentração de proteína correspondem no SDS-PAGE aos locais com menor concentração das distintas bandas, o que não expectável.

O perfil polipeptídico, também mostrou que as bandas mais proeminentes apresentam um peso molecular semelhante aos alergénios principais do pólen das *Dactylis glomerata* e generalidade das espécies pertencentes às *Pooideae* (García-Mozo, 2017; Hrabina et al., 2008): Dac g 1 ≈ 37 kDa, Dac g 4 ≈ 60 kDa e Dac g 5 ≈ 28 kDa.

Na literatura são reportadas alterações nas plantas e no pólen como consequência da poluição atmosférica (Angulo-Bejarano et al., 2021; Galveias et al., 2021; Liu, van der Heijden et al., 2023; Prodić et al., 2024). Para verificar se a qualidade do ar poderia ter impacto nos resultados do nosso estudo, a concentração de diversos poluentes do ar nos diferentes locais de amostragem foi analisada a partir dos dados registados pelas estações de referência de monitorização da qualidade do armais próximas. Os resultados evidenciaram que salvo em pequenas exceções os valores de todos os poluentes encontram-se em conformidade com a Decreto-Lei em vigor em Portugal na atualidade (*Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro*, 2010). Deste modo, pode-se inferir que as diferenças obtidas no nosso estudo a nível de pólen e plantas de *Dactylis glomerata* poderão não estar condicionadas pela qualidade do ar do local onde se desenvolvem e consequentemente a concentração atmosférica de poluentes, ao contrário do que foi reportado. Deve-se ainda salientar que as concentrações de metais pesados presentes nos órgãos das *Dactylis glomerata* , não tem origem nessa potencial contaminação atmosférica através da deposição de PM_{10} ou $PM_{2,5}$ sobre a sua superfície, já que as plantas foram minuciosamente lavadas logo não haverá origem em poluição atmosférica.

A mediana dos valores para o poluente PM_{10}, ao longo de quatro anos registados nas quatro estações de medição da qualidade do ar próximas dos locais de amostragem, são inferiores aos valores limite anuais na legislação portuguesa em vigor (40 $\mu g/m^3$). Mas, quando os valores são comparados com a nova legislação europeia em que o

valor limite anual é metade do que se encontra em Portugal, ou seja, 20 μg/m^3, em duas estações, a de Campanhã e a do Meco-Perafita esse valor é excedido.

Em relação às médias para o mesmo poluente, é possível constatar que, tal como para as medianas, todas os locais apresentam contaminação inferior ao limite em vigor no nosso país, já em relação à nova diretiva europeia, apenas um dos locais, o Mindelo, se encontra em conformidade com esses valores.

Relativamente ao NO_2, a mediana nas três estações de medição foi inferior ao valor limite na legislação portuguesa (40 μg/m^3), mas em todos esses locais existem muitos valores acima desse valor limite, principalmente, em Campanhã. Por isso mesmo, quando a comparação é feita com a nova legislação europeia, em que tal como o caso das PM_{10}, passou para metade do se encontra em vigor, ou seja, 20 μg/m^3, o valor em Campanhã, é superior.

O caso do ozono, os valores legislados não são valores limites, na Diretiva Europeia 2024/2881, reportam-se a um valor alvo que é uma meta, que pretende ser atingida num espaço temporal que pode ser mais curto ou mais longo, neste caso, até 1 de janeiro de 2031. (DE 2024/2881, *Qualidade do ar ambiente e a um ar mais limpo na Europa*, 2024). E esses valores alvo, não estão relacionados ao espaço temporal de 1 ano, mas corresponde ao máximo diário das médias de 8 horas (*Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro*, 2010).

A mediana para o ozono nas estações Sobreiras, Mindelo, Meco-Perafita é consideravelmente inferior ao valor alvo, sendo que nos dois primeiros as medianas são inferiores a metade do valor alvo e no terceiro é ligeiramente superior a esse valor.

Os óxidos de azoto, em ambos os documentos em termos legais não se encontram legislados sob nenhum dos dois termos utilizados anteriormente, ou seja, não existem nem valores limite nem valores alvo para este poluente, mas existe um valor crítico, ou também denominado de níveis críticos para a proteção da vegetação e dos ecossistemas naturais, sendo esse nível de 30 μg/m^3. Em relação às medianas nas estações de monitorização de Sobreiras, Campanhã e Mindelo, os valores registados foram inferiores ao nível crítico, existindo tal como em todos os outros poluentes muitos dados superiores ao valor na legislação. Para as médias, tal como nas medianas, os valores efetuados nos três locais foram são inferiores ao presente na legislação.

O monóxido de carbono, que é o último poluente em análise, não tem nenhum valor indicativo na legislação.

6. Conclusão

Neste estudo, foram recolhidas amostras de solos, plantas e pólen, de modo, a ser investigado o impacto da contaminação do solo e do ar nas plantas e pólen.

Em relação às amostras de solo e do solo presente na rizosfera das plantas, o teor de matéria orgânica foi muito superior junto às raízes, os valores de pH próximos da gama neutra e a condutividade elétrica apresenta valores baixos. Nas amostras de solo foram detetados nitratos e amónia, mas não nitritos.

Relativamente à composição elementar, no solo e na rizosfera, os elementos analisados com maiores concentrações/percentagens são nutrientes para as plantas. Por outro lado, as concentrações de elementos potencialmente tóxicos são reduzidas, existindo alguns que se encontram abaixo do limite de deteção, como o crômio e o mercúrio.

No que diz respeito às plantas, a análise de metais pesados e alguns nutrientes, revelaram que nas raízes os teores destes elementos apresentam valores muito superiores aos registados para as flores e as anteras. As anteras registaram valores de alguns elementos como o ferro e o cobre superiores às flores.

Para pólen foram realizados dois tipos de análises, a determinação de concentração de proteínas solúveis e o estudo do perfil polipeptídico polínico. A concentração de proteína solúveis apresentou diferenças relevantes entre os diferentes locais de amostragem. Por sua vez, a análise do perfil polipeptídico, revelou que os dois locais de amostragem onde o pólen continha mais elevadas concentrações de proteínas, Vairão e Antas, foram onde as bandas apresentaram uma menor intensidade de coloração, sendo a Pasteleira o local onde a coloração foi maior.

Os dados recolhidos pelas estações de medição da qualidade do ar, mostra que os diferentes poluentes em análise (PM_{10}, NO_2, O_3, NO_x e NO) se encontram dentro dos parâmetros limite legislados, mas que num futuro próximo, é necessário, monitorização constante tendo em conta as novas diretrizes europeias.

A contaminação por metais pesados e passagem dos mesmos para as plantas foi baixas, não se tendo detetado a presença de uma vasta gama de elementos nos diferentes órgãos da planta.

7. Referências Bibliográficas

Al-Moadhen, M. M., Clarke, B. G., & Chen, X. (2024). Electrical conductivity of sand–clay mixtures. *Environmental Geotechnics, 11*(8), 615-628. doi:https://doi.org/10.1680/jenge.21.00048

Aladesanmi, O. T., Oroboade, J. G., Osisiogu, C. P., & Osewole, A. O. (2019). Bioaccumulation Factor of Selected Heavy Metals in Zea mays. *Journal of Health and Pollution, 9*(24), 191207. doi:https://doi.org/10.5696/2156-9614-9.24.191207

Angulo-Bejarano, P. I., Puente-Rivera, J., & Cruz-Ortega, R. (2021). Metal and Metalloid Toxicity in Plants: An Overview on Molecular Aspects. *Plants (Basel), 10*(4). doi:https://doi.org/10.3390/plants10040635

APA - Agência Portuguesa do Ambiente, I. P. (2021a). Óxidos de Azoto (NOx).

APA - Agência Portuguesa do Ambiente, I. P. (2021b). *Poluentes*.

APA - Agência Portuguesa do Ambiente, I. P. (2023). Metais Pesados.

Baker, L. R., White, P. M., & Pierzynski, G. M. (2011). Changes in microbial properties after manure, lime, and bentonite application to a heavy metal-contaminated mine waste. *Applied Soil Ecology, 48*(1), 1-10. doi:https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.02.007

Baldi, A., Cecchi, S., Grassi, C., Zanchi, C. A., Orlandini, S., & Napoli, M. (2021). Lead Bioaccumulation and Translocation in Herbaceous Plants Grown in Urban and Peri-Urban Soil and the Potential Human Health Risk. *Agronomy, 11*(12). doi:https://doi.org/10.3390/agronomy11122444

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analitycal Biochemistry, 72*, 248-254. doi:https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Bretagnolle, F., & Lumaret, R. (1995). Bilateral polyploidization inDactylis glomerata L. subsp.lusitanica: occurrence, morphological and genetic characteristics of first polyploids. *Euphytica, 84*(3), 197-207. doi:https://doi.org/10.1007/BF01681812

Cachada, A. (2007). *Geoquímica e Qualidade Ambiental de Solos Urbanos.* (Mestrado em Geoquímica). Universidade de Aveiro,

Carabulea, V., Vrinceanu, N., Oprea, B., Costea, M., Plopeanu, G., MotelicĂ, D.-M., & Fudulu, I. (2024). A STUDY REGARDING HEAVY METALS IN PERENNIAL GRASSES SPECIES HARVESTED FROM PERMANENT MEADOWS IN THE COPȘA MICĂ AREA, ROMANIA. *Annals of the University of Craiova - Agriculture Montanology Cadastre Series, 53*, 58-63. doi:https://doi.org/10.52846/aamc.v53i2.1520

Chamani, S., Mobasheri, L., Rostami, Z., Zare, I., Naghizadeh, A., & Mostafavi, E. (2023). Heavy metals in contact dermatitis: A review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 79*, 127240. doi:https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127240

Clemens, S., & Ma, J. F. (2016). Toxic Heavy Metal and Metalloid Accumulation in Crop Plants and Foods. *Annual Review of Plant Biology, 67*, 489-512. doi:https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-112301

Costa, H. T. D. (2015). *Concentração de metais pesados nos solos utilizados para agricultura urbana na cidade de Lisboa.* (Mestrado). Universidade de Lisboa,

D'Amato, G. (1998). Pollen allergy in the mediterranean area. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique, 38*(7, Supplement 1), S160-S162. doi:https://doi.org/10.1016/S0335-7457(98)80092-0

D'Amato, G., Cecchi, L., D'Amato, M., & Liccardi, G. (2010). Urban Air Pollution and Climate Change as Environmental Risk Factors of Respiratory Allergy: An

Update. *Journal of investigational allergology & clinical immunology : official organ of the International Association of Asthmology (INTERASMA) and Sociedad Latinoamericana de Alergia e Inmunología, 20*, 95-102; quiz following 102.

Decreto-Lei n.º 102/2010, de 23 de setembro. (2010).

Derakhshan Nejad, Z., Jung, M. C., & Kim, K.-H. (2018). Remediation of soils contaminated with heavy metals with an emphasis on immobilization technology. *Environmental Geochemistry and Health, 40*(3), 927-953. doi:https://doi.org/10.1007/s10653-017-9964-z

Dutta, A., Patra, A., Ghosh, S., & Rakshit, A. (2022). Urban Soil: A Review on Historical Perspective. In (pp. 3-10). Springer Singapore.

EEA. (2020). *Utilização dos solos*.

Farag, M. A., Abib, B., Qin, Z., Ze, X., & Ali, S. E. (2023). Dietary macrominerals: Updated review of their role and orchestration in human nutrition throughout the life cycle with sex differences. *Current Research in Food Science, 6*, 100450. doi:https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100450

Gajić, G., Djurdjević, L., Kostić, O., Jarić, S., Stevanović, B., Mitrović, M., & Pavlović, P. (2020). Phytoremediation Potential, Photosynthetic and Antioxidant Response to Arsenic-Induced Stress of Dactylis glomerata L. Sown on Fly Ash Deposits. *Plants (Basel), 9*(5). doi:https://doi.org/10.3390/plants9050657

Galveias, A., Arriegas, R., Mendes, S., Ribeiro, H., Abreu, I., Costa, A. R., & Antunes, C. M. (2021). Air pollutants NO2- and O3-induced Dactylis glomerata L. pollen oxidative defences and enhanced its allergenic potential. *Aerobiologia, 37*(1), 127-137. doi:https://doi.org/10.1007/s10453-020-09676-2

García-Mozo, H. (2017). Poaceae pollen as the leading aeroallergen worldwide: A review. *Allergy, 72*(12), 1849-1858. doi:https://doi.org/10.1111/all.13210

Ghizoni, H. (2017). Efeitos de ácidos graxos w-3 na neurotoxicidade induzida por metilmercúrio em camundongos. Repositório Institucional da UFSC.

Goncharov, G., Soktoev, B., Farkhutdinov, I., & Matveenko, I. (2024). Heavy metals in urban soil: Contamination levels, spatial distribution and human health risk assessment (the case of Ufa city, Russia). *Environmental Research, 257*, 119216. doi:https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119216

Guérin-Marchand, C., Sénéchal, H., Bouin, A. P., Leduc-Brodard, V., Taudou, G., Weyer, A., . . . David, B. (1996). Cloning, sequencing and immunological characterization of Dac g 3, a major allergen from Dactylis glomerata pollen. *Molecular Immunology, 33*(9), 797-806. doi:https://doi.org/10.1016/0161-5890(96)00015-6

Hawkins;, E., Fulton;, J., & Port, K. (2017). *Using Soil Electrical Conductivity (EC) to Delineate Field Variation*. Retrieved from Ohio, United states of America:

Hoornweg, D. B.-T., Perinaz. (2012). *What a waste: A global review of solid waste management*. Retrieved from Washington, DC: https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/17388

Hrabina, M., Peltre, G., Van Ree, R., & Moingeon, P. (2008). Grass pollen allergens. *Clinical & Experimental Allergy Reviews, 8*(1), 7-11. doi:https://doi.org/10.1111/j.1472-9733.2008.00126.x

Huang, L., Rad, S., Xu, L., Gui, L., Song, X., Li, Y., Wu, Z., Chen, Z. (2020). Heavy Metals Distribution, Sources, and Ecological Risk Assessment in Huixian Wetland, South China. *Water, 12*(2). doi:https://doi.org/10.3390/w12020431

Irina, P., Sarac, I., Onisan, E., Madosa, E., & Stroia, C. (2015). Morphological aspect for the grain pollen of Alopecurus pratensis and Dactylis glomerata.

Jayakumar, K., Jaleel, C. A., Municipality, A., Emirates, E., Emirates, A., & Arabia, S. (2008). *Impact of Cobalt on Germination and Seedling Growth of Eleusine coracana L. And Oryza sativa L. Under Hydroponic Culture*.

Jiménez, M. D., de Torre, R., Mola, I., Casado, M. A., & Balaguer, L. (2018). Local plant responses to global problems: Dactylis glomerata responses to different traffic

pollutants on roadsides. *Journal of Environmental Management, 212*, 440-449. doi:https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.049

Jócsák, I., Knolmajer, B., Szarvas, M., Rabnecz, G., & Pál-Fám, F. (2022). Literature Review on the Effects of Heavy Metal Stress and Alleviating Possibilities through Exogenously Applied Agents in Alfalfa (Medicago sativa L.). *Plants, 11*(16), 2161. Retrieved from https://www.mdpi.com/2223-7747/11/16/2161

Khan, A., Khan, S., Khan, M. A., Qamar, Z., & Waqas, M. (2015). The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. *Environmental Science and Pollution Research, 22*(18), 13772-13799. doi:https://doi.org/10.1007/s11356-015-4881-0

Kwiatkowska-Malina, J. (2018). Functions of organic matter in polluted soils: The effect of organic amendments on phytoavailability of heavy metals. *Applied Soil Ecology, 123*, 542-545. doi:https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.06.021

Leduc-Brodard, V., Inacio, F., Jaquinod, M., Forest, E., David, B., & Peltre, G. (1996). Characterization of Dac g 4, a major basic allergen from Dactylis glomerata pollen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology, 98*(6 Pt 1), 1065-1072. doi:https://doi.org/10.1016/s0091-6749(96)80193-x

Li, D., Lu, Q., Cai, L. M., Chen, L. G., & Wang, H. Z. (2023). Characteristics of Soil Heavy Metal Pollution and Health Risk Assessment in Urban Parks at a Megacity of Central China. *Toxics, 11*(3). https://doi.org/10.3390/toxics11030257

Liu, Y. R., van der Heijden, M. G. A., Riedo, J., Sanz-Lazaro, C., Eldridge, D. J., Bastida, F., . . . Delgado-Baquerizo, M. (2023). Soil contamination in nearby natural areas mirrors that in urban greenspaces worldwide. *Nature Communications, 14*(1), 1706. doi:10.1038/s41467-023-37428-6

López Pasquali, C. E., Fernández Hernando, P., & Durand Alegría, J. S. (2007). Spectrophotometric simultaneous determination of nitrite, nitrate and ammonium in soils by flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta, 600*(1), 177-182. doi:https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.03.015

Lovynska, V., Bayat, B., Bol, R., Moradi, S., Rahmati, M., Raj, R., . . . Montzka, C. (2024). Monitoring Heavy Metals and Metalloids in Soils and Vegetation by Remote Sensing: A Review. *Remote Sensing, 16*, 3221.

Lu, M., Zhu, C., Smetana, S., Zhao, M., Zhang, H., Zhang, F., & Du, Y. (2024). Minerals in edible insects: A review of content and potential for sustainable sourcing. *Food Science and Human Wellness, 13*(1), 65-74. doi:https://doi.org/10.26599/FSHW.2022.9250005

Mehri, A. (2020). Trace Elements in Human Nutrition (II) - An Update. *International Journal of Preventive Medicine, 11*, 2. doi:https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_48_19

Mirsal, I. A. (2008). Sources of Soil Pollution. In I. A. Mirsal (Ed.), *Soil Pollution: Origin, Monitoring & Remediation* (pp. 137-173). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Mourad, W., Mécheri, S., Peltre, G., David, B., & Hébert, J. (1988). Study of the epitope structure of purified Dac G I and Lol p I, the major allergens of Dactylis glomerata and Lolium perenne pollens, using monoclonal antibodies. *The Journal of Immunology, 141*(10), 3486-3491. doi:https://doi.org/10.4049/jimmunol.141.10.3486

FAO (2019). *Diretrizes voluntárias para a gestão sustentável dos solos*. Retrieved from https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/i6874pt

World Urbanization Prospects: The 2009 revision, (2009).

Navarro, J. A., Sanchez-Navarro, J. A., & Pallas, V. (2019). Key checkpoints in the movement of plant viruses through the host. *Advances in Virus Research, 104*, 1-64. doi:https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2019.05.001

Othaman, N. N. Che, Md Isa, M. N., Ismail, R. C., Ahmad, M. I., & Hui, C. K. (2020). *Factors that affect soil electrical conductivity (EC) based system for smart farming*

application [Paper presentation]. *The 2nd International Conference on Applied Photonics and Electronics (InCAPE 2019)*, AIP Conference Proceedings**,** **2203**(1), 020055. https://doi.org/10.1063/1.5142147

Pietrelli, L., Menegoni, P., & Papetti, P. (2022). Bioaccumulation of Heavy Metals by Herbaceous Species Grown in Urban and Rural Sites. *Water, Air, & Soil Pollution, 233*(4), 141. doi:https://doi.org/10.1007/s11270-022-05577-x

Podlasek, A., Vaverková, M. D., Jakimiuk, A., & Koda, E. (2024). Potentially toxic elements (PTEs) and ecological risk at waste disposal sites: An analysis of sanitary landfills. *PLOS ONE, 19*(5 May). doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303272

Priya, A. K., Muruganandam, M., Ali, S. S., & Kornaros, M. (2023). Clean-Up of Heavy Metals from Contaminated Soil by Phytoremediation: A Multidisciplinary and Eco-Friendly Approach. *Toxics, 11*(5). doi:https://doi.org/10.3390/toxics11050422

Prodić, I., Minić, R., & Stojadinović, M. (2024). The influence of environmental pollution on the allergenic potential of grass pollen. *Aerobiologia*. doi:https://doi.org/10.1007/s10453-024-09829-7

Qualidade do ar ambiente e a um ar mais limpo na Europa. (2024). RIBEIRO, M. A. D. C. (2013). *CONTAMINAÇÃO DO SOLO POR METAIS PESADOS.* Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias,

Roberts, A. M., Van Ree, R., Cardy, S. M., Bevan, L. J., & Walker, M. R. (1992). Recombinant pollen allergens from Dactylis glomerata: preliminary evidence that human IgE cross-reactivity between Dac g II and Lol p I/II is increased following grass pollen immunotherapy. *Immunology, 76*(3), 389-396.

Salbitano, F., Borelli, S., Conigliaro, M., & Chen, Y. (2016). Guidelines on urban and peri-urban forestry. Food and Agriculture Organization of the United Nations. https://www.fao.org/documents/card/en/c/06c8e6b6-a58f-4a7e-b8e8-9c1c5e7bdebb

Samater, A. H., Van Cleemput, O., & Ertebo, T. (1998). Influence of the presence of nitrite and nitrate in soil on maize biomass production, nitrogen immobilization and nitrogen recovery. *Biology and Fertility of Soils, 27*(2), 211-218. doi:https://doi.org/10.1007/s003740050422

Semitsoglou-Tsiapou, S., Mous, A., Templeton, M. R., Graham, N. J. D., Hernández Leal, L., & Kruithof, J. C. (2016). The role of natural organic matter in nitrite formation by LP-UV/H2O2 treatment of nitrate-rich water. *Water Research, 106*, 312-319. doi:https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.001

Sethy, S. K., & Ghosh, S. (2013). Effect of heavy metals on germination of seeds. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine, 4*(2), 272-275. doi:https://doi.org/10.4103/0976-9668.116964

Shahzad, A., Siddique, A., Ferdous, S., Amin, M. A., Qin, M., Aslam, U., . . . Shakoor, A. (2023). Heavy metals mitigation and growth promoting effect of endophytic Agrococcus terreus (MW 979614) in maize plants under zinc and nickel contaminated soil. *Frontiers in Microbiology, 14*, 1255921. doi:https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1255921

Silva, E. B. d. (2013). *Teores de elementos potencialmente tóxicos em solos de uma bacia hidrográfica e avaliação de risco à saúde humana.* Universidade de São Paulo

Soltani-Gerdefaramarzi, S., Ghasemi, M., & Ghanbarian, B. (2021). Geogenic and anthropogenic sources identification and ecological risk assessment of heavy metals in the urban soil of Yazd, central Iran. *PLOS ONE, 16*(11), e0260418. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260418

Sun, C., Liu, J., Wang, Y., Sun, L., & Yu, H. (2013). Multivariate and geostatistical analyses of the spatial distribution and sources of heavy metals in agricultural soil in Dehui, Northeast China. *Chemosphere, 92*(5), 517-523. doi:https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.02.063

Regulamentação - Qualidade do Ar, (2014).

Thakare, M., Sarma, H., Datar, S., Roy, A., Pawar, P., Gupta, K., . . . Prasad, R. (2021). Understanding the holistic approach to plant-microbe remediation technologies for removing heavy metals and radionuclides from soil. *Current Research in Biotechnology, 3*, 84-98. doi:https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2021.02.004

Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J.-M., Silva-Palacios, I., Fernández-Rodríguez, S., & Gonzalo-Garijo, Á. (2015). Flower production and phenology in Dactylis glomerata. *Aerobiologia, 31*(4), 469-479. doi:https://doi.org/10.1007/s10453-015-9381-7

Ullrich, S. M., Ramsey, M. H., & Helios-Rybicka, E. (1999). Total and exchangeable concentrations of heavy metals in soils near Bytom, an area of Pb/Zn mining and smelting in Upper Silesia, Poland. *Applied Geochemistry, 14*(2), 187-196. doi:https://doi.org/10.1016/S0883-2927(98)00042-0

UNEP., F. a. (2021). Global Assessment of Soil Pollution: Report. Rome.

Ur Rahman, S., Qin, A., Zain, M., Mushtaq, Z., Mehmood, F., Riaz, L., . . . Shehzad, M. (2024). Pb uptake, accumulation, and translocation in plants: Plant physiological, biochemical, and molecular response: A review. *Heliyon, 10*(6), e27724. doi:https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27724

Van Cleemput, O., & Samater, A. H. (1995). Nitrite in soils: accumulation and role in the formation of gaseous N compounds. *Fertilizer research, 45*(1), 81-89. doi:https://doi.org/10.1007/BF00749884

van Es, H. (2017). A New Definition of Soil. *CSA News, 62*(10), 20-21. doi:https://doi.org/10.2134/csa2017.62.1016

van Oort, E., de Heer, P. G., Lerouge, P., Faye, L., Aalberse, R. C., & van Ree, R. (2001). Immunochemical characterization of two Pichia pastoris-derived recombinant group 5 Dactylis glomerata isoallergens. *International Archives of Allergy and Immunology, 126*(3), 196-205. doi:https://doi.org/10.1159/000049514

van Ree, R., van Leeuwen, W. A., & Aalberse, R. C. (1998). How far can we simplify in vitro diagnostics for grass pollen allergy?: A study with 17 whole pollen extracts and purified natural and recombinant major allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology, 102*(2), 184-190. doi:https://doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70084-3

Wang, K., Qiao, Y., Zhang, H., Yue, S., Li, H., Ji, X., & Liu, L. (2018). Bioaccumulation of heavy metals in earthworms from field contaminated soil in a subtropical area of China. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 148*, 876-883. doi:https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.058

Weissmannová, H. D., & Pavlovský, J. (2017). Indices of soil contamination by heavy metals – methodology of calculation for pollution assessment (minireview). *Environmental Monitoring and Assessment, 189*(12), 616. doi:https://doi.org/10.1007/s10661-017-6340-5

Werkenthin, M., Kluge, B., & Wessolek, G. (2014). Metals in European roadside soils and soil solution – A review. *Environmental Pollution, 189*, 98-110. doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.02.025

Yan, A., Wang, Y., Tan, S. N., Mohd Yusof, M. L., Ghosh, S., & Chen, Z. (2020). Phytoremediation: A Promising Approach for Revegetation of Heavy Metal-Polluted Land. *Frontiers in Plant Science, 11*. doi:https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00359