

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr^a Maria Teresa Borges por aceitar ser orientadora, por toda a ajuda, paciência, tempo e dedicação dispensados para o sucesso desta dissertação;

Ao Professor Dr. António Fiuza por aceitar ser coorientador desta dissertação;

Ao Mestre João Jesus pela transmissão de conhecimentos e apoio na realização de todas as etapas desta dissertação e pela enorme paciência e disponibilidade;

Ao Diretor do Departamento de Biologia da FCUP, Professor Dr. Aires Oliva Teles, por autorizar a utilização da galeria do Departamento;

A todos os meus amigos que fizeram parte desta etapa e contribuíram para o meu percurso académico. Em especial à Susana, à Joana, ao João, ao Ricardo e à Fabiana pela companhia, alegria, apoio e paciência.

E especialmente, à minha família - Mãe, Avó e Irmão. Sem vocês, o meu percurso académico não seria possível. Obrigada pelo amor, pelo apoio incondicional e pela paciência que tiveram durante todos os estes anos.

RESUMO

A gestão de recursos hídricos é de extrema importância e deve garantir a sustentabilidade presente e futura. Nesta perspetiva, surgem as FitoETAR, sistemas que utilizam no seu funcionamento processos naturais semelhantes aos das Zonas Húmidas Naturais (ZHN) para o tratamento de águas residuais num ambiente controlado. A característica distintiva das FitoETAR é o Leito de Macrófitas, constituído por plantas, substrato e comunidade microbiana associada, que criam o ambiente químico, físico e biológico responsável pelo tratamento.

A atividade industrial produz efluentes caracterizados por elevadas concentrações de nutrientes e, muitas vezes, de sal. Estes efluentes salinos impõem um novo desafio de tratamento pois o sal inibe os processos biológicos. Assim, as FitoETAR devem estar adaptadas para que o tratamento seja eficaz, selecionando cuidadosamente as espécies a serem utilizadas no Leito de Macrófitas, priorizando a utilização de organismos adaptados à presença de sal (halotolerantes e halófitos).

O presente estudo pretende avaliar a capacidade de tratamento de uma água residual salina por parte de três espécies de plantas – *Spartina maritima*, *Juncus maritimus* e *Arundo donax*. Para o efeito, foram montados microcosmos simulando o ambiente de um Leito de Macrófitas para verificar a remoção de nutrientes e sal da água residual salina. Também foram efetuados testes em hidroponia para confirmar o verdadeiro papel das plantas no tratamento.

Em Leito de Macrófitas verificou-se que *Arundo donax* foi a espécie com melhor performance na remoção de amónia e nitrato com 85 e 68% de remoção respetivamente. Já em hidroponia foi possível reiterar o papel das plantas na remoção de nutrientes – *Juncus maritimus* foi capaz de remover amónia e nitrato satisfatoriamente (88 e 56% respetivamente), e *Spartina maritima* conseguiu atingir os 89% de remoção de fosfato. Quanto à remoção de sal, *Spartina maritima* revelou-se a espécie mais adequada para o efeito, com um máximo de 10,4% de remoção. Verificou-se 100% de sobrevivência para todas as plantas.

Em conclusão, as FitoETAR poderão ser bastante eficazes no tratamento de efluentes salinos se o Leito de Macrófitas tiver várias espécies de plantas, que realizem diferentes funções, para que o tratamento seja mais completo.

Palavras-chave: FitoETAR; Água residual salina; Remoção de nutrientes e sal; Leito de Macrófitas; Hidroponia; *Spartina maritima*; *Juncus maritimus*; *Arundo donax*.

ABSTRACT

Water resources management is very important and should ensure the present and future sustainability. In this perspective, Constructed Wetlands (CW) appear as systems that utilize natural processes, similar to those present in the natural wetlands, for wastewater treatment, in a controlled environment. The distinctive feature of CW is the planted bed, constituted by plants, substrate and microbial community, that create the chemical, physical and biological environment responsible for the treatment.

The industrial activity produces effluents characterized by high concentrations of nutrients and, many times, also salt. These saline effluents impose a new challenge, since the salt inhibits the biological processes. Therefore, CW must be adapted – the species utilized in the planted bed must be subject of a careful selection, prioritizing the salt tolerant organisms (halotolerant and halophyte).

The present study aims to evaluate a saline wastewater treatment capacity by three plant species - *Spartina maritima*, *Juncus maritimus* e *Arundo donax*. So, microcosms were assembled, simulating the planted bed environment, to verify nutrient and salt removal. Also, hydroponic tests were carried to confirm the true role of the plants.

In microcosms with planted bed, *Arundo donax* was the species with the best ammonia and nitrate removal, with 85 and 68% of removal, respectively. In hydroponics, it was possible to confirm the role of plants in the nutrient removal – *Juncus maritimus* was capable of removing ammonia and nitrate satisfactorily (88 and 56%, respectively), and *Spartina maritima* reached 89% of phosphate removal. As to salt removal, *Spartina maritima* revealed to be the most adequate species, with a maximum removal of 10, 4%. Plant survival was 100% in all treatments.

In conclusion, CW may be very effective if the planted bed has various plant species that realize different functions, so that the treatment can be more complete.

Key words: Constructed Wetlands; Saline wastewater; Nutrient and salt removal; Planted bed; Hydroponics; *Spartina maritima*; *Juncus maritimus*; *Arundo donax*.

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos	1
Resumo	2
Abstract	3
Índice Geral	4
Índice de tabelas.....	6
Índice de figuras	8
Lista de abreviaturas.....	10
1. Introdução.....	11
1.1 FitoETAR: conceitos e aplicabilidade	11
1.2 Tipos de Leitos de Macrófitas usados em FitoETAR	13
1.3 Substrato dos Leitos de Macrófitas.....	16
1.4 Papel das Plantas em Leitos de Macrófitas	19
1.5 Papel dos Microrganismos em Leitos de Macrófitas	21
1.6 Mecanismos de tratamento	22
1.6.1 Remoção de Sólidos Suspensos	22
1.6.2 Remoção da Matéria Orgânica	22
1.6.3 Remoção de Compostos Azotados	23
1.6.4 Remoção do Fósforo	24
1.7 O caso especial dos Efluentes Salinos	24
1.8 Objetivos	26
2. Material e Métodos	27
2.1 Escolha e Obtenção de plantas.....	27
2.2 Montagem Experimental.....	29
2.2.1 Microcosmos de Leito de Macrófitas	29
2.2.2 Microcosmos em Hidroponia.....	33
2.3 Condições ambientais	35

2.4 Análise do crescimento e sobrevivência das plantas	35
2.5 Métodos analíticos	36
2.6 Estatística aplicada	37
3. Resultados.....	39
3.1 Condições ambientais	39
3.2 Testes em Leito de macrófitas.....	41
3.2.1 Testes com THR de 4 dias.....	41
3.2.2 Testes com TRH de 7 dias.....	48
3.3 Testes em Hidroponia	51
3.4 Crescimento e Sobrevivência das Plantas.....	56
4. Discussão	61
4.1 Remoção de Nutrientes.....	61
4.2 Remoção de Sal.....	64
4.3 Crescimento e Sobrevivência das Plantas.....	69
4.4 Potenciais aplicações	71
5. Conclusões e Perspetivas Futuras.....	73
Referências Bibliográficas	75

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Diferentes substratos utilizados em Leitos de Macrófitas e a sua capacidade de remoção de fósforo por adsorção (Vohla, Kõiv et al. 2011).....	18
Tabela 2 - Transformações de azoto que ocorrem em leitos de macrófitas (Vymazal, 2007). ..	23
Tabela 3 - Características técnicas da argila expandida usada como substrato (adaptado de ARGEX, Argila expandida S.A. 2010. Fonte: www.argex.eu/download.php?lang=en&id=141). 30	30
Tabela 4 - Componentes da água residual salina sintética. Nota: valores de cloreto e sódio provenientes de outros compostos que não NaCl foram considerados como residuais para o valor dos respetivos parâmetros.	31
Tabela 5 - Parâmetros da água residual salina sintética completa após tratamento nos microcosmos com apenas argila expandida (controlo) e plantados com três diferentes espécies (TRH - tempo de retenção hidráulico). Diferentes letras na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos. Valores iniciais: CE – 15 dS m ⁻¹ ; pH – 7; NH ₄ ⁺ - 24mg L ⁻¹ ; Cl ⁻ - 5868mg L ⁻¹ ; Na ⁺ - 3807mg L ⁻¹ ; Ca ²⁺ +Mg ²⁺ - 2.43meq L ⁻¹ ; RAS – 151.....	42
Tabela 6 – Parâmetros da água residual salina sintética (sem amónia) com azoto proveniente apenas de nitrato, após tratamento nos microcosmos só com argila expandida (controlo) e plantados com três diferentes espécies (TRH - tempo de retenção hidráulico). Diferentes letras na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos. Valores iniciais: CE – 15 dS m ⁻¹ ; pH – 7; NO ₃ ⁻ - 34mg L ⁻¹ ; Cl ⁻ - 5868mg L ⁻¹ ; Na ⁺ - 3807mg L ⁻¹ ; Ca ²⁺ +Mg ²⁺ - 2.43meq L ⁻¹ ; RAS – 151.....	46
Tabela 7 – Eficiência de remoção de azoto como amónia (NH ₄ ⁺ -N) e nitrato (NO ₃ ⁻ -N) da água residual salina sintética após o tratamento nos microcosmos com apenas argila expandida (controlo), e plantados com três diferentes espécies (TRH - tempo de retenção hidráulico de 4 dias, aplicado por três vezes consecutivas).....	47
Tabela 8 - Parâmetros da solução salina sintética completa após tratamento nos microcosmos com apenas argila expandida (controlo) ou plantados com três diferentes espécies (7 dias TRH - tempo de retenção hidráulico). Diferentes letras na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos. Valores iniciais: CE – 15 dS m ⁻¹ ; pH – 7; NH ₄ ⁺ -N - 24mg L ⁻¹ ; Cl ⁻ - 5868mg L ⁻¹ ; Na ⁺ - 3807mg L ⁻¹ ; Ca ²⁺ +Mg ²⁺ - 2.43meq L ⁻¹ ; RAS – 151.....	49
Tabela 9 - Balanço de massa para os sais e sódio removidos na água residual salina sintética adicionada em cada microcosmos, no teste em leito de macrófitas com tempo de retenção de 7 dias, para diferentes situações. Valores iniciais: Na ⁺ - 3807mg L ⁻¹ ; Cl ⁻ - 5868mg L ⁻¹	51
Tabela 10 - Parâmetros da água residual salina sintética completa após tratamento nos microcosmos em hidroponia, plantados com três diferentes espécies (TRH - tempo de retenção hidráulico). Diferentes letras na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes	

entre tratamentos. Valores iniciais: CE – 15 dS m⁻¹; pH – 7; NH₄⁺ - 24mg L⁻¹; PO₄³⁻ - 30mg L⁻¹; Cl⁻ - 5868mg L⁻¹; Na⁺ - 3807mg L⁻¹; Ca²⁺+Mg²⁺ - 2.43meq L⁻¹; RAS – 151. 53

Tabela 11 – Eficiência de remoção (ER), em percentagem, de amónia (NH₄⁺-N) e fosfato (PO₄³⁻-P) da água residual salina sintética usada, após o tratamento em hidroponia, nos microcosmos com apenas água salina (controlo), e plantados com duas plantas diferentes, sob três períodos de aplicação de TRH de 4 dias (TRH = tempo de retenção hidráulico). 54

Tabela 12 - Quantidade de sais (sais totais, sódio e cloreto) acumulados pelas duas espécies de plantas testadas, após extração por lavagem das plantas com 100ml de água desionizada por um período de 4 dias. 55

Tabela 13 - Variação do número de caules e folhas e altura dos caules durante todo o período de crescimento em foi em Leito de Macrófitas. Diferentes letras na mesma linha indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos. Valores negativos derivam da transição de caules/folhas verdes a secas. 59

Tabela 14 - Comparação da remoção de nutrientes entre este trabalho e outros estudos sobre tratamento de efluentes salinos em FitoETAR (ER (%) – eficiência de remoção em percentagem; THR – tempo de retenção hidráulico em dias). Fontes: [1] – Presente trabalho; [2] - (Sousa et al. 2011); [3] - (Su et al. 2011); [4] - (Wang et al. 2010); [5] - (Lin et al. 2005); [6] - (Shi et al. 2011); [7] - (Klomjek e Nitisoravut 2005); [8] - (Gao et al. 2015); [9] - (Idris et al. 2012). 62

Tabela 15 - Balanço de massa para os sais e sódio removidos nos 1250ml de efluente salino simulado adicionados em cada microcosmos, no teste em leito de macrófitas. ER (%) – eficiência de remoção em percentagem 65

Tabela 16 - Balanço de massa dos sais e sódio removidos nos 3000 ml de solução adicionados em cada microcosmos, no teste em hidroponia. (%ER – eficiência de remoção em percentagem) 68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplo de um sistema de FitoETAR com o Leito de Macrófitas representado no passo 2.	12
Figura 2 - FitoETAR aplicadas em diferentes circunstâncias: pequena escala para tratamento descentralizado de pequenos volumes de efluentes e em climas frios.	12
Figura 3 - Representações dos vários tipos de leitos plantados aplicáveis em FitoETAR: a) Sistema com macrófitas flutuantes; b) Sistema com macrófitas emergentes e fluxo subsuperficial horizontal; c) Sistema com macrófitas emergentes e fluxo superficial; d) Sistema com macrófitas emergentes e fluxo subsuperficial vertical (Vymazal, 2007).	14
Figura 4 - Exemplo de um Leito de Macrófitas com fluxo superficial. A água encontra-se acima do substrato e é possível identificar a macrófita emergente, neste caso <i>Typha spp.</i>	14
Figura 5 - Exemplo de um Leito de Macrófitas com fluxo subsuperficial. O nível da água encontra-se abaixo do substrato.	15
Figura 6 - Substrato (argila expandida) e raízes de <i>Typha latifolia</i> (Jesus, 2011).	17
Figura 7 - Tratamento num Leito de Macrófitas de lamas provenientes de processos como lamas activadas de ETAR convencionais	17
Figura 8 - Diferentes tipos de mecanismos de remoção de contaminantes por fitorremediação.	19
Figura 9 - Exemplares de <i>Phragmites australis</i> (esquerda) e <i>Typha latifolia</i> (direita) em leitos de macrófitas.	20
Figura 10 - Representação esquemática da rizosfera	21
Figura 11 – Sequência genérica simplificada da cadeia de tratamento global de efluentes hipersalinos (adaptado de Lefebvre e Moletta (2006)).	25
Figura 12 - Características principais das espécies de plantas utilizadas no presente trabalho. (Fonte: www.biorede.pt)	27
Figura 13 - Local de recolha das plantas <i>Spartina maritima</i> e <i>Juncus maritimus</i>	28
Figura 14 - Exemplares das três espécies utilizadas (da esquerda para a direita): <i>Spartina maritima</i> ; <i>Juncus maritimus</i> ; e <i>Arundo donax</i>	29
Figura 15 - Argila expandida num microcosmo não plantado.	30
Figura 16 - Exemplo de microcosmos plantados distribuídos de forma aleatória.	32
Figura 17 - Tubo perfurado colocado nos microcosmos com argila. Os orifícios mais pequenos que as esferas de argila permitem uma sifonagem eficaz.	33
Figura 18 - Microcosmos em hidroponia com as plantas <i>Spartina maritima</i> e <i>Juncus maritimus</i> e ainda três microcosmos de controlo, colocados de forma aleatória. No canto inferior direito, pormenor da pedra difusora de ar utilizada.	34

Figura 19 - Variação da temperatura interior (T_i (°C) e exterior (T_e (°C) ao longo de 73 dias da experiência em leito de macrófitas em argila expandida.	39
Figura 20 - Média das variáveis ambientais, dentro do local de manutenção dos microcosmos (galeria envidraçada) ao longo de todo o período de tratamento (Leito de Macrófitas e hidroponia).....	40
Figura 21 - Sais acumulados nos caules de <i>Spartina maritima</i> (à esquerda) e <i>Juncus maritimus</i> (à direita) no final do tratamento em hidroponia.	55
Figura 22 - Taxa de crescimento em altura (cm d-1) das diferentes espécies nos diferentes procedimentos experimentais (4 dias de TRH com água residual salina sintética completa (1); 7 dias de TRH; 4 dias de TRH com água residual salina sintética sem amónia (2)) e TC, taxa de crescimento ao longo de todo o período experimental em leito de macrófitas (72 dias).....	56
Figura 23 - Crescimento das três plantas ao longo do tempo em percentagem de diferença (cumulativa) de altura face ao valor inicial.	58
Figura 24 - Cristais de sal à superfície da argila expandida, numa zona onde não houve contato direto com a água residual salina simulada.	66
Figura 25 – Esquema representativo da distribuição de sais totais e sódio na planta <i>Spartina maritima</i> em sistema hidropónico e após TRH de 23 dias	69

LISTA DE ABREVIATURAS

CBO – Carência Bioquímica de Oxigénio

CQO – Carência Química de Oxigénio

CW – Constructed Wetland

EPA – Environmental Protection Agency

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

LECA – Lightweight Expanded Clay Aggregate – Argila Expandida

HSSF – Horizontal SubSurface Flow – Fluxo Subsuperficial Horizontal

RAS – Razão de Adsorção de Sódio

SS – Sólidos Suspensos

SF – Surface Flow - Fluxo Superficial

SSF – SubSurface Flow - Fluxo Subsuperficial

TC – Taxa de Crescimento

TRH – Tempo de Retenção Hidráulico

VLE – Valor Limite de Emissão

VSSF – Vertical SubSurface Flow - Fluxo Subsuperficial Vertical

ZHN – Zona Húmida Natural

1. INTRODUÇÃO

O aumento da necessidade de recursos hídricos deve ser acompanhado por formas de prevenir e evitar a degradação dos ecossistemas, garantindo a sustentabilidade presente e futura (Hernández-Sancho et al., 2010). Assim, é primordial que o tratamento de águas residuais, de origem municipal ou industrial, seja satisfatório ao nível dos três elementos-chave para a sustentabilidade: proteção ambiental, desenvolvimento social e desenvolvimento económico (Adams, 2012; Garrido-Baserba et al., 2014). Nesta perspetiva, surge uma tecnologia com interesse que envolve o uso de Leitos de Macrófitas para o tratamento de efluentes – as FitoETAR.

1.1 FitoETAR: conceitos e aplicabilidade

As FitoETAR podem ser consideradas como sistemas que utilizam no seu funcionamento processos naturais semelhantes aos das Zonas Húmidas Naturais (ZHN), para o tratamento de águas residuais num ambiente controlado. São sistemas que possuem Leitos de Macrófitas, constituídos por plantas, substrato e comunidade microbiana associada, que criam o ambiente químico, físico e biológico responsável pelo tratamento (Vymazal, 2007; Dordio et al., 2010; Shelef et al., 2012). São principalmente usadas nos tratamentos secundários e terciários (tratamento de polimento final), podendo ser complementares a outras tecnologias de tratamento ou permitir o tratamento completo do efluente (Davis, 1997; Dordio et al., 2010).

As FitoETAR são uma biotecnologia bem definida com numerosas vantagens (Davis, 1997; Kivaisi, 2001): baixo custo de construção, manuseamento e manutenção; reciclagem e reutilização da água; produção de biomassa; conservação da fauna e flora; e boa integração na paisagem, com valor estético e recreativo. Porém, apresentam algumas limitações como a maior necessidade de terrenos, performance inconsistente (eficiência poderá variar sazonalmente) e sensibilidade dos componentes biológicos a químicos tóxicos.

Sob o ponto de vista prático, uma FitoETAR consiste numa combinação de várias tecnologias para possibilitar um tratamento completo e aceitável de uma água residual (Figura 1), sendo o uso de plantas a característica mais importante e distintiva. A fase do sistema FitoETAR a que corresponde a ação das plantas é caracterizada pela presença de Leitos de Macrófitas, conforme já referido, também conhecidos por “engineered wetlands”.

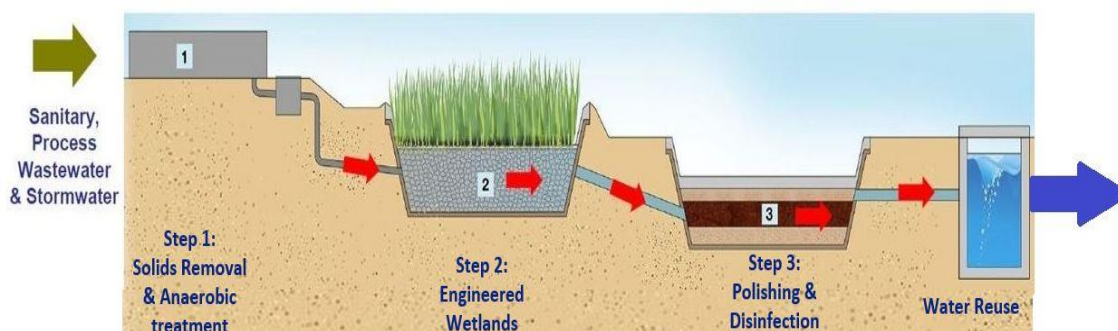


Figura 1 - Exemplo de um sistema de FitoETAR com o Leito de Macrófitas representado no passo 2. (Fonte: www.prochemwater.com/wp-content/uploads/2015/03/Alcao_ProChem_Integration.jpg)

A aparente simplicidade das FitoETAR pode ocultar a verdadeira complexidade de interações que são necessárias para o tratamento das águas residuais. Os sistemas são desenhados e construídos para corresponder a padrões de performance específicos, e a sua manutenção é necessária para manter a performance ótima (EPA, 2000).

As FitoETAR são aplicadas em todo o mundo para diferentes tipos de água residual e em diferentes circunstâncias, tais como em locais de clima extremo (Figura 2) ou como FitoETAR de pequena dimensão para tratamento de água residual de um único edifício (Figura 2), entre outras situações.



Figura 2 - FitoETAR aplicadas em diferentes circunstâncias: pequena escala para tratamento descentralizado de pequenos volumes de efluentes (à esquerda; fonte: <http://wetpac.ca/images/stories/square-vtf-constructed-wetland.jpg>) e em climas frios (à direita; fonte: www.aqua-nostra.de/img/gallery/pflanzenklaeranlage-winter.jpg?1463139191885).

As aplicações potenciais, muitas já testadas e aplicadas em campo, incluem uma variedade crescente de efluentes diferentes (Crites et al., 2006):

- ◆ Água residual doméstica;
- ◆ Água residual da produção de queijo;
- ◆ Água residual de fluídos de degelo e escorrências de aeroportos;

- ◆ Água residual de aterros sanitários (lixiviados);
- ◆ Água residual de aquacultura (não salina ou salina);
- ◆ Água residual da indústria de curtumes;
- ◆ Água de drenagem pluvial (“Road runoff”);
- ◆ Água de drenagem agrícola;
- ◆ Etc.

1.2 Tipos de Leitos de Macrófitas usados em FitoETAR

Existem diversos tipos de FitoETAR e até mesmo modos diferentes de as classificar. Esta variedade faz com que as FitoETAR tenham uma extensa lista de aplicações para o tratamento de diversos tipos de água residual, conforme já foi referido.

As FitoETAR podem ser classificadas de acordo com o tipo de macrófitas utilizadas no leito plantado, uma vez que as mesmas são o componente dominante e diferenciador do sistema (Vymazal et al., 1998):

- ◆ **Macrófitas flutuantes** – as plantas podem ser livres ou enraizadas, sendo que a espécie de macrófita mais utilizada neste tipo de sistema é o Jacinto-de-água (*Eichornia crassipes*). São os sistemas menos estudados e utilizados;
- ◆ **Macrófitas submersas** – nestes sistemas, as plantas têm o tecido fotossintético completamente submerso e o seu crescimento depende da água bem oxigenada. Assim, a água residual a ser tratada deverá ter baixa turbidez e pouca matéria orgânica. São utilizados principalmente como complemento ao tratamento secundário;
- ◆ **Macrófitas emergentes** – estes sistemas são os mais comuns, e podem ser construídos de várias formas, sendo possível classificá-los segundo o seu fluxo (Davis, 1997; Vymazal et al., 1998), conforme se apresenta na Figura 3.

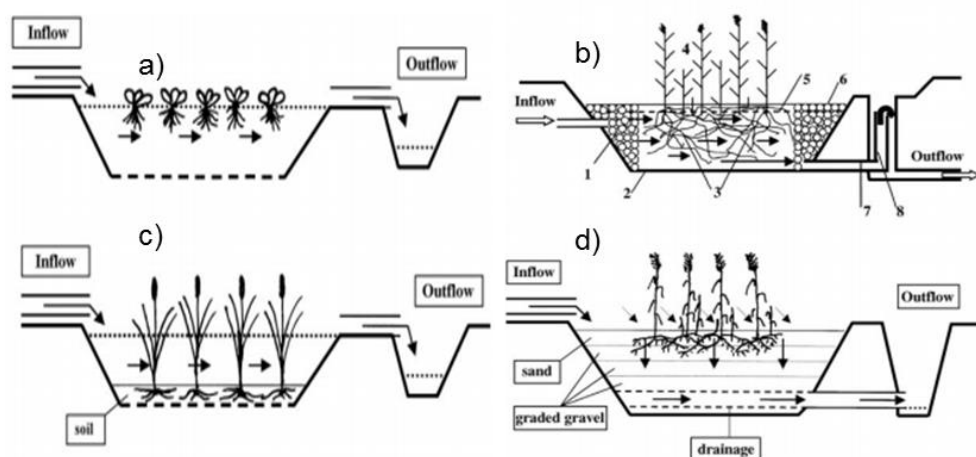


Figura 3 - Representações dos vários tipos de leitos plantados aplicáveis em FitoETAR: a) Sistema com macrófitas flutuantes; b) Sistema com macrófitas emergentes e fluxo subsuperficial horizontal; c) Sistema com macrófitas emergentes e fluxo superficial; d) Sistema com macrófitas emergentes e fluxo subsuperficial vertical (Vymazal, 2007).

Estes tipos de fluxo nos leitos podem definir-se da seguinte forma (Davis, 1997):

- ♦ **Fluxo superficial (SF)** – caracterizado por ter o nível da água acima do substrato (Figura 4), sendo que a zona superficial é aeróbia e a zona mais profunda é anaeróbia. Estes sistemas são mais semelhantes às ZHN, proporcionando habitat e integração na paisagem. São mais baratos e a sua manutenção é simples, porém requerem mais área de terreno. São usados por exemplo no tratamento de águas residuais de minas e de agricultura.



Figura 4 - Exemplo de um Leito de Macrófitas com fluxo superficial. A água encontra-se acima do substrato e é possível identificar a macrófita emergente, neste caso *Typha spp.*

(Fonte: www.wetlandspacific.com/images/stories/gallery/sn850216.jpg)

- ♦ **Fluxo subsuperficial (SSF)** – caracterizado por existir uma bacia selada, com substrato poroso e com o nível da água abaixo do substrato (Figura 5), em que o fluxo pode ser horizontal ou vertical. Apesar dos custos de construção e manutenção serem mais elevados, este tipo de sistema tem várias vantagens em relação ao fluxo superficial: mais tolerância ao frio; maior potencial de assimilação (substrato permeável proporciona áreas mais específicas para o crescimento do biofilme (Lymbery et al., 2006)); menor potencial de contato humano com a água não tratada; e menos problemas com odores e infestação por mosquitos.



Figura 5 - Exemplo de um Leito de Macrófitas com fluxo subsuperficial. O nível da água encontra-se abaixo do substrato.
(Fonte: www.solaripedia.com/images/large/3636.jpg)

O fluxo subsuperficial pode ser subdividido em fluxo horizontal ou vertical, com diferentes características e capacidades de tratamento:

- ♦ **Fluxo subsuperficial horizontal (HSSF)** – a água residual é aplicada de forma a permitir o seu fluxo através do substrato de forma horizontal e subsuperficial ao longo do comprimento do Leito de Macrófitas. É um processo mais indicado para desnitrificação (Valipour e Ahn, 2016);
- ♦ **Fluxo subsuperficial vertical (VSSF)** – a água residual é aplicada de forma vertical, a partir de cima para baixo ou vice-versa, percorrendo o substrato ao longo da altura do Leito de Macrófitas. Possibilita maior oxigenação, pelo que é mais indicado para processos como nitrificação (Valipour e Ahn, 2016).
- ♦ **Híbrido** – um sistema híbrido refere-se ao uso simultâneo de vários tipos de Leitos de Macrófitas, frequentemente havendo a combinação de sistemas de fluxo subsuperficial vertical com os de fluxo horizontal, dadas as características complementares que apresentam a nível de potencial redox vigente em cada um. Estes sistemas híbridos permitem, por isso, um tratamento mais completo (Vymazal, 2007).

Os sistemas com fluxo superficial e subsuperficial diferem também na taxa de fluxo e tempo de retenção hidráulico, dependendo da permeabilidade do substrato utilizado (Lymbery et al., 2006).

Estes sistemas são também caracterizados por diferentes áreas de ocupação para a mesma força de água residual, isto é, o sistema vertical consegue tratar o mesmo volume de efluente num espaço menor quando comparado com o sistema horizontal, que por sua vez ocupa menos área que um sistema superficial necessitaria.

Várias estratégias são usadas para ocupar menos espaço e permitir diversos tipos de tratamento diferentes; um exemplo é o uso de barreiras (“baffles”) que obrigam o efluente a fazer um percurso maior para a mesma área, permitindo também um fluxo horizontal e vertical no mesmo tanque (Lehl et al., 2016).

Existem diversos outros tipos de FitoETAR que incorporam os novos conhecimentos adquiridos recentemente sobre o funcionamento destes sistemas. Um desses novos sistemas é denominado sistema tidal (“tidal-flow constructed wetlands”). Como o próprio nome indica, este sistema pretende simular as marés a que as ZHN estão sujeitas naturalmente, o que poderá permitir um tratamento mais eficaz. Sob o ponto de vista hidráulico, estes sistemas podem ser compreendidos como sistemas cíclicos de enchimento e esvaziamento do Leito de Macrófitas, permitindo condições muito diversas de oxigenação; nos ciclos de enchimento a amónia é adsorvida ao substrato; no ciclo de esvaziamento seguinte ar é forçado pelo movimento repentino da água, permitindo a nitrificação da amónia; por fim, no ciclo de enchimento seguinte o nitrato produzido é desnitrificado (Pang et al., 2015).

1.3 Substrato dos Leitos de Macrófitas

O substrato é um componente de extrema importância nos leitos plantados e deve ser alvo de uma escolha cuidada, de acordo com o tipo de água residual a tratar. Normalmente é utilizado solo, areia, cascalho, pedra e matéria orgânica como o adubo (Davis, 1997; Calheiros et al., 2008).

O substrato serve de suporte a organismos vivos (plantas e microrganismos (Figura 6)), proporciona armazenamento de vários contaminantes, afeta o fluxo da água e promove processos físicos, químicos e biológicos que assistem na depuração da água residual (Davis, 1997; Calheiros et al., 2008; Dordio et al., 2010).



Figura 6 - Substrato (argila expandida) e raízes de *Typha latifolia* (Jesus, 2011).

O substrato escolhido deve também ser capaz de escoar a água de forma constante ao longo do tempo para impedir entupimentos (“clogging”). Esta característica é particularmente importante em FitoETAR que também tratam lamas (Figura 7).



Figura 7 - Tratamento num Leito de Macrófitas de lamas provenientes de processos como lamas activadas de ETAR convencionais (Fonte: www.constructed-wetlands.com/pics2/bild23.jpg)

Estudos realizados com solo como substrato mostraram que este tem uma eficiente capacidade de adsorção de nutrientes, devido à pequena granulometria e à presença de minerais que promovem interações biogeoquímicas complexas, que auxiliam na remoção dos contaminantes (Sakadevan e Bavor, 1998; Hill et al., 2000; Prochaska e Zouboulis, 2006;). Porém, a sua utilização caiu em desuso devido a questões ambientais e económicas (Brix et al., 2007). A areia poderá ser usada como alternativa ao solo, porém a granulometria mais baixa dificulta o escoamento, e o contato entre a água residual e o substrato poderá ser insuficiente (Prochaska e Zouboulis, 2006).

A argila expandida também é um substrato regularmente usado pois a sua granulometria e porosidade permitem um escoamento adequado, proporcionam mais superfície de contato para o tratamento e desenvolvimento de biofilme, e a sua capacidade de adsorção é relevante (Calheiros et al., 2008).

Por outro lado, o substrato é o principal responsável pela remoção do fósforo (P) das águas residuais, sendo que existem vários estudos (Brooks et al., 2000; Hill et al., 2000; Prochaska e Zouboulis, 2006; Xu et al., 2006) sobre a capacidade de adsorção do fósforo por diferentes substratos (Tabela 1). A adsorção depende não só da composição química (principalmente cálcio sob a forma CaO) e granulometria do substrato, mas também do pH e temperatura (Prochaska e Zouboulis, 2006).

Tabela 1 – Substratos geralmente utilizados em Leitos de Macrófitas e a sua capacidade de remoção de fósforo por adsorção (Vohla, Kõiv et al. 2011).

	Material	Tipo	Adsorção de P (mg g ⁻¹)	Ca(CaO) (%)
	Casca de ostra	Natural	7.9	37.8
	Areia	Natural	0.117	4.15
	Solo	Natural	0.0005	0.006–0.3
	Argila expandida	Artificial	12	46.5

É importante salientar que o mesmo tipo de material pode ter capacidades de adsorção muito variáveis consoante a sua proveniência ou fabrico, sendo por isso normal estudar esta capacidade de forma específica antes de se proceder à escolha do substrato.

A capacidade de remoção de fósforo por parte do substrato pode, no entanto, ser influenciada pela presença das plantas, visto que estas afetam o pH e temperatura da água.

1.4 Papel das Plantas em Leitos de Macrófitas

Apesar do papel exato das plantas ainda não ser completamente claro (Shelef et al., 2012), considera-se que estas normalmente têm uma importância central no tratamento de águas residuais em FitoETAR (Tanner, 1996; Scholz, 2011;).

Várias funções são atribuídas às plantas dos leitos presentes em sistemas de FitoETAR (Figura 8), tais como: estabilização do substrato; controlo do fluxo da água; diminuição da velocidade da água, que permite a sedimentação; troca de gases entre atmosfera e sedimentos; oxigenação do substrato; e criação de ambiente propício ao crescimento microbiano (Davis, 1997; Brisson e Chazarenc, 2009).

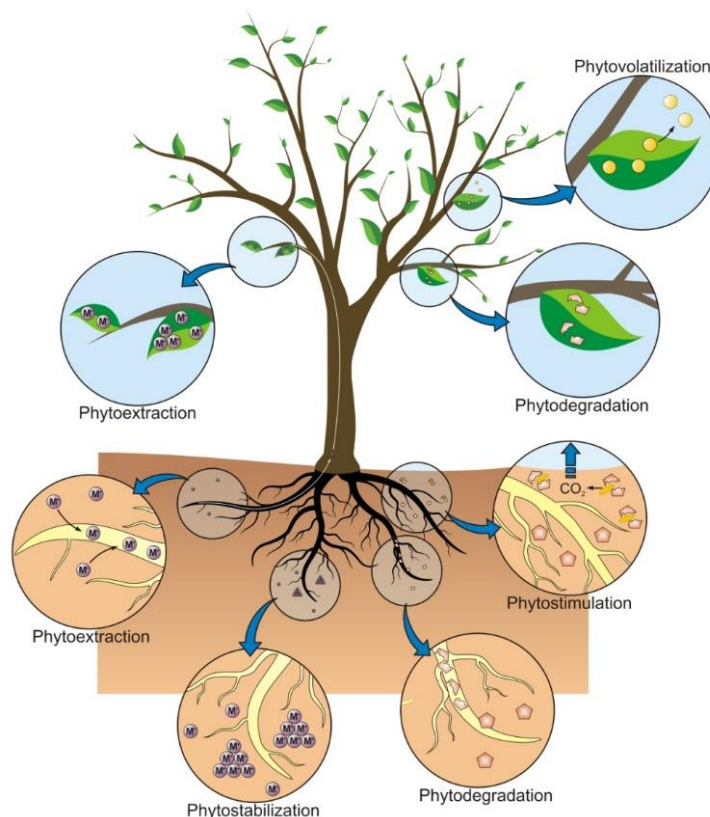


Figura 8 - Diferentes tipos de mecanismos de remoção de contaminantes por fitorremediação. (Fonte: www.intechopen.com/source/html/46355/media/image1.jpeg)

Outras funções que são atribuídas às plantas incluem a prevenção do entupimento do substrato ("clogging"), função particularmente importante para substratos muito finos; excreção de carbono orgânico, que potencia a desnitrificação; e isolamento térmico que protege os microrganismos de choques térmicos (Shelef et al., 2012).

Considerando que plantas diferentes possuem capacidades diferentes de tratar os efluentes, por vezes até complementares ou antagônicas, a escolha das espécies a usar num Leito de Macrófitas é de extrema importância.

Esta escolha deve ter em conta vários aspetos importantes: tolerância às condições locais; tolerância a poluentes e capacidade de remoção dos mesmos; resiliência a condições de alagamento; e bom estabelecimento, crescimento e propagação (Tanner, 1996; Scholz, 2011).

Existem várias espécies estudadas e atualmente utilizadas nas FitoETAR baseadas em macrófitas emergentes. No entanto, duas espécies destacam-se pelo seu uso extensivo, tanto no campo como em investigação: *Typha latifolia* e *Phragmites australis* (Figura 9).



Figura 9 - Exemplares de *Phragmites australis* (esquerda) e *Typha latifolia* (direita) em leitos de macrófitas.

(Fontes: www.biocharireland.com/uploads/1/1/1/9/11196594/6629842_orig.jpg
www.cdn.phys.org/newman/gfx/news/hires/2015/2-commonweedre.jpg)

Estas espécies são muito utilizadas devido à sua resistência e crescimento rápido, assim como uma distribuição global extensa. Adicionalmente, sendo as plantas mais estudadas, a escolha destas plantas providencia maiores garantias de sucesso, já que os processos relacionados com as mesmas já foram adequadamente estudados e modelados.

No entanto, estas espécies poderão não ser as mais indicadas para todas as circunstâncias, particularmente para novas aplicações de FitoETAR, como por exemplo, o tratamento de efluentes salinos.

1.5 Papel dos Microrganismos em Leitos de Macrófitas

Parte do funcionamento dos Leitos de Macrófitas das FitoETAR é regulada pelos microrganismos, através do seu metabolismo. Estes desenvolvem-se no substrato e raízes das macrófitas (formando a chamada rizosfera, Figura 10) ou estão livres na água residual (Davis, 1997). A transformação e mineralização dos nutrientes e poluentes orgânicos são maioritariamente realizadas pelos microrganismos (Calheiros et al., 2009).

Os processos mediados por microrganismos são influenciados pelas propriedades da FitoETAR: tipo de sistema, substrato, vegetação, tipo de água residual/origem do efluente, condições hidráulicas e condições ambientais (Calheiros et al., 2009; Truu et al., 2009). No entanto, Truu et al. (2009) verificaram que nos diversos tipos de leitos (regimes SF, VSSF e HSS), a biomassa e atividade microbiana eram semelhantes.

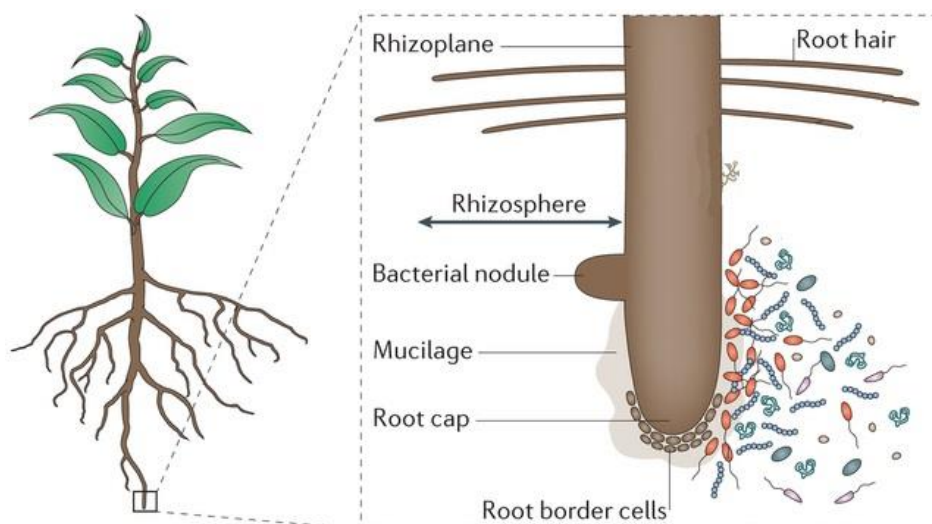


Figura 10 - Representação esquemática da rizosfera. (Fonte: www.nature.com/nrmicro/journal/v11/n11/images/nrmicro3109-f2.jpg)

A diversidade bacteriana é também influenciada pelo tipo de substrato escolhido (Long et al., 2016), visto que tanto o substrato como as raízes das plantas providenciam locais de grande área de superfície que permitem o desenvolvimento de biofilmes microbianos. Estes biofilmes são notoriamente mais resistentes a flutuações e apresentam maior capacidade de transformação que as bactérias suspensas na água (Tyagi e Vembu, 1990). No entanto, o contacto com os poluentes pode ser menor, devido a várias camadas de biofilme, e assim limitar o tratamento (Tyagi e Vembu, 1990).

As bactérias dominantes são as pertencentes ao filo *Proteobacteria*, seguidas dos filos *Cyto-phagflavobacterium*, *Actinobacteria* e *Firmicutes* (Truu et al., 2009). A grande diversidade de populações bacterianas pode contribuir para a resistência e resiliência do sistema ao stress criado pelas descargas de água residual (Calheiros et al., 2009).

1.6 Mecanismos de tratamento

Podemos considerar que os dois principais mecanismos envolvidos no tratamento de águas residuais nos Leitos de Macrófitas são a separação (de sólidos e líquidos) e a transformação. A separação acontece de várias formas: separação pela força da gravidade, filtração, absorção, adsorção, permuta de iões e lixiviação. As transformações também são variadas: reações redox, reações ácido-base, reações metabólicas, floculação, precipitação, etc. Estes mecanismos levam à remoção dos contaminantes, detenção dos mesmos por um período de tempo, ou apenas transformação da sua composição química (EPA, 2000).

1.6.1 Remoção de Sólidos Suspensos

Os sólidos suspensos (SS) presentes nos efluentes podem ter origem na morte de invertebrados, fragmentação de detritos das plantas, produção de plâncton e formação de precipitados químicos (EPA, 2000). Estes sólidos são maioritariamente removidos por processos físicos, como a sedimentação e a filtração.

Karathanasis et al. (2003) obteve uma percentagem de remoção de sólidos suspensos de 88-90% num sistema vegetado, comparando com a remoção de 46% num sistema não vegetado. Isto indica que a biomassa das raízes das plantas promoveu uma filtração mais eficaz e contribuiu para um tratamento complementar dos compostos orgânicos presentes nos SS através de processos de decomposição microbiana.

1.6.2 Remoção da Matéria Orgânica

As FitoETAR são eficientes na remoção de CBO e CQO, sendo que a remoção física ocorre rapidamente através da sedimentação e adsorção pelas raízes das plantas, enquanto a remoção do CBO e CQO solúvel é feita essencialmente pelos microrganismos do substrato dos leitos plantados (EPA, 1993). A taxa de remoção varia sazonalmente, sendo que no verão é mais eficiente e no inverno verifica-se uma baixa

remoção (Karathanasis et al., 2003). A remoção completa de CBO nunca é atingida devido à decomposição que existe naturalmente no sistema (EPA, 1993).

1.6.3 Remoção de Compostos Azotados

Existem várias formas de azoto que estão continuamente envolvidas em transformações bioquímicas (formas inorgânicas passam a orgânicas e vice-versa), que compõem o ciclo do azoto.

Os processos que podem ocorrer nos leitos plantados das FitoETAR são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Transformações de azoto que ocorrem em leitos de macrófitas (Vymazal, 2007).

Processo	Transformações
Volatilização	-
Amonificação	Azoto orgânico → Amónia
Nitrificação	Amónia → Nitrito → Nitrato
Amonificação de nitrato	Nitrato → Amónia
Desnitrificação	Nitrato → Nitrito → N ₂ gasoso, N ₂ O
Fixação de azoto (N ₂)	N ₂ gasoso → Amónia (N orgânico)
Assimilação (plantas e microrganismos)	Amónia, Nitrito e Nitrato → N orgânico
Adsorção de amónia	-
ANAMOX (oxidação anaeróbica de amónia)	Amónia → N ₂ gasoso

Os processos acima listados são muito complexos e envolvem uma imensa variedade de microrganismos, que atuam em diferentes níveis e em diferentes condições. As plantas têm um papel fundamental na medida em que são responsáveis pela assimilação (amónia e nitrato), e ainda porque as suas raízes permitem a criação de um biofilme onde se encontram os microrganismos que medeiam estas reações. Porém, nem todos os processos removem de facto azoto – a amonificação e nitrificação apenas transformam o azoto em amónia e nitrato, que depois poderão integrar nos processos de remoção. A desnitrificação, juntamente com a nitrificação, é o processo com maior capacidade de remoção de azoto nas FitoETAR (Vymazal, 2007).

1.6.4 Remoção do Fósforo

O fósforo é um dos elementos mais importantes e necessário para o normal funcionamento dos ecossistemas (Vohla, et al., 2011), sendo que muitas vezes é limitante uma vez que tende a penetrar no sedimento (EPA, 2000). O fósforo solúvel reativo pode ser assimilado pelas plantas e microrganismos e adsorvido pelo substrato; porém estes processos são saturáveis e portanto não contribuem para uma remoção sustentável a longo termo de fósforo. A utilização de turfa permite a remoção de fósforo a longo termo, mas poderá ser apenas eficaz em FitoETAR com fluxo superficial e plantas emergentes (Vymazal, 2007).

1.7 O caso especial dos Efluentes Salinos

Os efluentes salinos podem ter origem na atividade agrícola, lixiviados de aterros sanitários, aquacultura e até atividade humana (efluentes municipais). Mas a maior parte advém da atividade industrial como a indústria petroquímica, têxtil, fabrico de papel, alimentar, entre outros (Karajic et al. 2010; Buhmann e Papenbrock, 2013). No que se refere à eliminação destes efluentes, as indústrias optam pela descarga direta em cursos de água ou acumulação dos mesmos em poços profundos. Se não forem sujeitos a um tratamento prévio, estes efluentes causam danos ambientais graves, nomeadamente ao nível de contaminação de solos e águas superficiais e subterrâneas (Lefebvre e Moletta, 2006).

A presença de sal é um fator de stress, responsável pela inibição de inúmeros processos biológicos, como a atividade de microrganismos e o crescimento das plantas (Lefebvre e Moletta, 2006; Calheiros et al. 2010; Karajic et al. 2010; Buhmann e Papenbrock, 2013), sendo que a maioria dos organismos vivos sem mecanismos de tolerância ao meio salgado, não sobrevive quando exposta a salinidades elevadas (Kargi e Dincer, 1996).

Para poderem ser descarregados com segurança, há que efetuar um tratamento destes efluentes. O seu tratamento é normalmente baseado em processos físico-químicos, sendo que as técnicas mais utilizadas no tratamento de efluentes salinos são a evaporação, coagulação-floculação, troca iónica e técnicas de filtração sobre membranas, como a ultrafiltração ou osmose reversa. No entanto, estes métodos são dispendiosos a nível de investimento, consumo de energia e manutenção, e promovem transferências de poluição (Lefebvre e Moletta, 2006; Karajic et al., 2010; Webb et al., 2012).

Vários estudos efetuados apontam para a combinação de técnicas como forma de atingir um tratamento ótimo de efluentes salinos (Figura 11) (Lefebvre e Moletta, 2006). Neste ponto de vista as FitoETAR são uma alternativa aos tratamentos físico-químicos convencionais uma vez que incluem a vertente biológica, na forma de Leito de Macrófitas. Porém, como referido anteriormente, a elevada salinidade inibe os processos biológicos, sendo que efluentes com salinidade superior a 1% provocam a morte celular dos microrganismos intervenientes no processo de tratamento (Kargi e Dincer, 1996; Abou-elela et al., 2010). Assim, é imperativo que haja uma seleção cuidadosa das espécies a ser utilizadas no Leito de Macrófitas, priorizando a utilização de organismos adaptados à presença de sal – halotolerantes e halófitos (Lefebvre & Moletta, 2006).

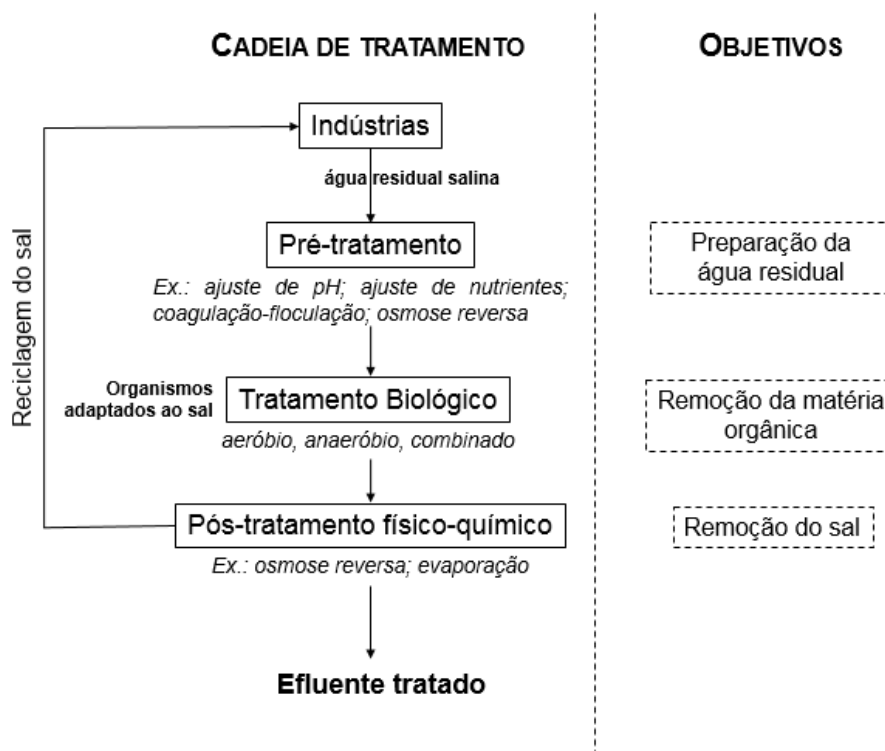


Figura 11 – Sequência genérica simplificada da cadeia de tratamento global de efluentes hipersalinos (adaptado de Lefebvre e Moletta (2006)).

Ao longo dos últimos anos têm sido feitos vários estudos sobre o tratamento de efluentes com elevada salinidade em FitoETAR, como por exemplo Calheiros et al. (2012), Webb et al. (2012), entre outros. Porém, estes trabalhos focam-se apenas na remoção de nutrientes, não referindo resultados sobre a capacidade de remoção do sal.

1.8 Objetivos

A presente dissertação foca-se no estudo do potencial de tratamento de águas residuais salinas por três espécies de plantas diferentes – *Spartina maritima*, *Juncus maritimus* e *Arundo donax*, a utilizar futuramente em FitoETAR.

Por forma a gerar um efluente apropriado para descarga no ambiente, com o mínimo de impacte ambiental, espera-se que as plantas consigam remover nutrientes e sal, simultaneamente, de forma satisfatória.

Para a consecução deste objetivo geral, são propostos os seguintes objetivos específicos:

- 1) Avaliar a capacidade de tratamento de uma água residual salina sintética, num microcosmo com fluxo vertical subsuperficial, verificando a remoção de:
 - a. Nutrientes (NH_4^+ , NO_3^- e PO_4^{3-});
 - b. Sal.
- 2) Comparar os valores de remoção de sal e nutrientes em Leito de Macrófitas e hidroponia, avaliando o papel específico das plantas no tratamento da água residual sintética salina;
- 3) Estudar o crescimento e sobrevivência das três espécies ao longo dos procedimentos experimentais em que estão expostas ao stress salino.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Escolha e Obtenção de plantas

As espécies de plantas utilizadas neste trabalho foram *Spartina maritima*, *Juncus maritimus* e *Arundo donax* (Figura 12). *S.maritima* e *J.maritimus* foram escolhidas por serem espécies autóctones, halófitas e adaptadas a condições de inundação. Já *Arundo donax* é apenas halotolerante (Ceotto e Di Candilo, 2010), não se sabendo o seu comportamento face a situações de elevada salinidade permanente, como é o caso da intrusão salina ou dos efluentes salinos. Esta espécie poderá ser considerada invasora, porém as suas sementes são estéreis, reproduzindo-se apenas vegetativamente, podendo por isso ser controlada numa situação de FitoETAR.

	<i>Spartina maritima</i> (Curtis) Fernald ○ Família: <i>Gramineae</i> ○ Distribuição: zonas costeiras, principalmente no distrito Miniense Litoral e Província Gaditano-Onubo-Algarvia; ○ Habitat: sapal; ○ Gramínea vivaz rizomatosa, com colmos de 15 a 70 cm; ○ Halófito obrigatória e hidrófila; ○ Floração de Julho a Setembro.
	<i>Juncus maritimus</i> Lamarck ○ Família: <i>Juncaceae</i> ○ Distribuição: zonas costeiras de todo o território nacional; ○ Habitat: sapal; ○ Planta herbácea vivaz rizomatosa, podendo atingir de 80 a 100 cm de altura, com rizoma horizontal; ○ Halófito e hidrófila; ○ Floração de Junho a Agosto.
	<i>Arundo donax</i> Linnaeus ○ Família: <i>Poaceae</i> ○ Distribuição: todo o território nacional; ○ Habitat: margens de rios e locais húmidos; ○ Planta de grande porte, lenhosa e com rizoma tuberculado; ○ Halotolerante; ○ Floração de Agosto a Outubro.

Figura 12 - Caraterísticas principais das espécies de plantas utilizadas no presente trabalho. (Fonte: www.biorede.pt)

Plantas de *Spartina maritima* e *Juncus maritimus* foram recolhidas em Viana do Castelo, Portugal, numa ZHN situada no estuário do rio Lima (Figura 13), em Outubro de 2015. Os exemplares foram removidos com o rizoma intacto, mantidos em turfa

comercial e regados com solução salina a 10 dS m^{-1} durante duas semanas, para desenvolvimento. Posteriormente, foram transplantadas para argila expandida de 4-12 mm (ARGEX) e sujeitas a rega com solução de Hoagland salina até ao início dos tratamentos experimentais.



Figura 13 - Local de recolha das plantas *Spartina maritima* e *Juncus maritimus*.

Os exemplares de *Arundo donax* foram recolhidos na praia de Lavadores (Vila Nova de Gaia), em 2012, encontrando-se a cerca de 500 metros do mar. Foram removidos com o rizoma intacto e os caules foram cortados de forma a ficarem com 10 cm de altura. Posteriormente foram transplantados para argila expandida de 4-12 mm (ARGEX) e regados regularmente com água da torneira ou solução de Hoagland, sendo mantidos durante 3 anos nestas condições. De forma a desenvolverem uma nova rizosfera antes de qualquer teste, os exemplares foram transplantados para argila expandida de 3-8 mm (ARGEX) duas semanas antes de começar o tratamento.

Uma amostra de exemplares das três espécies utilizadas nos ensaios pode observar-se na Figura 14, sendo que plantas com má adaptação inicial às condições experimentais (produção reduzida de caules e folhas) foram rejeitadas.



Figura 14 - Exemplares das três espécies utilizadas (da esquerda para a direita): *Spartina maritima*; *Juncus maritimus*; e *Arundo donax*.

2.2 Montagem Experimental

A montagem experimental dividiu-se em dois procedimentos diferentes e consecutivos, que serão descritos separadamente abaixo. Em ambos os procedimentos foram montados microcosmos de forma a simular um sistema de Leito de Macrófitas com fluxo vertical subsuperficial (VSSF), mantido em “batch”, semelhante a Jesus, Calheiros et al. (2014). Os microcosmos foram distribuídos aleatoriamente pelo espaço disponível numa galeria envidraçada, localizada no último andar do edifício do Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, com grande exposição solar (sul/poente).

2.2.1 Microcosmos de Leito de Macrófitas

Para a preparação dos Leitos de Macrófitas foi inicialmente necessário proceder à escolha de um substrato adequado. Apesar de existir uma grande variedade de substratos que podem ser utilizados em Leitos de Macrófitas a integrar em FitoETAR, cada um com vantagens e desvantagens, neste trabalho o substrato utilizado foi a argila expandida ARGEX®3-8, caracterizada por ser um “agregado leve de argila que é expandida em forno rotativo a 1100°C” (ARGEX, Argila Expandida S.A. 2010), sendo que as temperaturas elevadas a que é exposta lhe atribuem uma maior porosidade e menor humidade, diferenciando-a assim da argila natural. Além disto, a escolha deste substrato foi baseada nas seguintes razões:

- ◆ Baixa absorção de água;
- ◆ Condutividade hidráulica;
- ◆ Porosidade elevada;
- ◆ Relação qualidade/preço;
- ◆ Experiência pré-existente;

A sua composição química e características físicas (Tabela 3) consistem em $60\pm 5\%$ de SiO_2 , $17\pm 3\%$ de Al_2O_3 , $14\pm 2\%$ de Fe_2O_3 e cerca de $9\pm 2\%$ de K_2O , CaO , MgO , TiO_2 , Na_2O (Fonte: www.argex.eu/download.php?lang=en&id=141).

Tabela 3 - Características técnicas da argila expandida usada como substrato (adaptado de ARGEX, Argila expandida S.A. 2010. Fonte: www.argex.eu/download.php?lang=en&id=141).

Argex® 3-8	Valor declarado	Unidades
Classes granulométricas reais	8.0-12.5	mm
Massa aparente seca	303	($\pm 15\%$) kg/m^3
Superfícies esmagadas e partidas	7	(% em massa)
Resistência ao esmagamento	1.9	Mpa
Compatibilidade	< 8	(% Volume)
Condutibilidade térmica	0.11	(W/m. °C)
Absorção de água	22.7	(% massa seca)
pH a 20°C	6 a 10	(em contacto com água)

De modo a evitar a flutuação do substrato (Figura 15), garantindo assim a estabilidade das raízes, foi necessário definir um volume de água máximo a usar relativamente ao volume de argila utilizada em cada microcosmo. Para o efeito foram testados vários rácios de volume de água para o volume de substrato pretendido (8 L) até se obter o volume máximo de água permissível para evitar a flutuação de argila (a flutuação foi verificada visualmente), que foi fixado em 1250 ml.

Um total de 12 microcosmos foram montados em recipientes de PVC opacos com as dimensões 0,345m x 0,255m x 0,165m (área de 0,088m² e volume útil de 10 L). As dimensões foram adequadas aos exemplares a serem transplantados, permitindo o seu crescimento. A sua opacidade permitiu a obscuridade na zona das raízes e consequentemente impediu o crescimento de microalgas.



Figura 15 - Argila expandida num microcosmo não plantado.

Finalmente, foi preparada uma água residual salina sintética, com os componentes apresentados na Tabela 4. A solução foi preparada de modo a ter 15 dS m⁻¹ de condutividade e uma razão de adsorção de sódio (RAS) de 151. As concentrações escolhidas de nutrientes como o azoto (na forma de nitrato e amónia) e o fósforo (como fosfato) são significativamente superiores aos Valores Limite de Emissão (VLE) estabelecidos no Decreto-Lei nº 238/98, valores estes que são de 50 mg L⁻¹ de NO₃⁻ (cerca de 11 mg L⁻¹ de NO₃⁻-N), 10 mg L⁻¹ de NH₄⁺ (cerca de 7,8 mg L⁻¹ NH₄⁺-N) e de 10 mg L⁻¹ de fósforo total (PT).

Tabela 4 - Componentes da água residual salina sintética. Nota: valores de cloreto e sódio provenientes de outros compostos que não NaCl foram considerados como residuais para o valor dos respetivos parâmetros.

	Concentração (mg L ⁻¹)	Parâmetro	Preparado a partir de
Componentes a remover	3807	Na ⁺	NaCl
	5868	Cl ⁻	NaCl
	30	PO ₄ ³⁻ - P	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O
	24	NH ₄ ⁺ - N	NH ₄ Cl
	34	NO ₃ ⁻ - N	Ca(NO ₃) ₂
	2.43 (meq L ⁻¹)	Ca ²⁺	Ca(NO ₃) ₂
Micronutrientes (equivalente a 50% Hoagland)	0.25	Bo	H ₃ BO ₃
	0.25	Mn	MnCl ₂ .2H ₂ O
	0.025	Zn	ZnSO ₄ .7H ₂ O
	0.01	Cu	CuSO ₄ .5H ₂ O
	0.005	Mo	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O
	0.25	Fe	C ₁₀ H ₁₂ FeN ₂ NaO ₈

A escolha de valores elevados de nutrientes para simular um efluente salino prende-se com o facto de existirem efluentes com características similares (por exemplo efluentes de indústrias têxteis, petroquímica etc.) e também porque valores mais reduzidos poderiam mascarar diferenças entre tratamentos diferentes. Outra razão foi o facto de que o substrato utilizado ter elevada capacidade de adsorção destes nutrientes.

Após a montagem dos microcosmos, as plantas passaram por um período de adaptação às condições experimentais (microcosmo, substrato e solução salina) durante cerca de duas semanas, até ao início do procedimento experimental. Este período permitiu também a adaptação do potencial biofilme, já existente nas raízes, a estas condições.

Quatro condições experimentais foram testadas em microcosmos, em triplicado, que foram dispostos aleatoriamente na galeria envidraçada (Figura 16):

- ◆ Microcosmos controlo com apenas 8 L de substrato (3 microcosmos);
- ◆ Microcosmos com substrato e plantados com *Spartina maritima* (3 microcosmos, tufos com 8-10cm, 17-22 caules por microcosmo);
- ◆ Microcosmos com substrato e plantados com *Juncus maritimus* (3 microcosmos, tufos com 8-10cm, 44-62 caules por microcosmo).
- ◆ Microcosmos com substrato e plantados com *Arundo donax* (3 microcosmos, tufos com 8-10 cm, 11-12 caules por microcosmo);



Figura 16 - Exemplo de microcosmos plantados distribuídos de forma aleatória.

Foram testados dois tempos de retenção hidráulica (TRH): 4 e 7 dias.

Inicialmente foi realizada uma série de três testes de 4 dias de TRH cada, nos quais a evaporação foi mínima, sendo que o seu efeito não foi considerado posteriormente.

Foram também realizados de seguida testes com tempo de retenção de 7 dias.

Depois, outra série de três testes de 4 dias de TRH foram realizados, usando-se porém a solução nutritiva descrita acima, sem adição de amónia, para testar a remoção de nitrato.

Em todos os testes acima referidos nos diferentes TRH, a água residual foi retirada dos microcosmos na sua totalidade, no final de cada TRH, com uma bomba manual de sifão através de tubos perfurados (Figura 17) que foram previamente colocados nos microcosmos.



Figura 17 - Tubo perfurado colocado nos microcosmos com argila. Os orifícios mais pequenos que as esferas de argila permitem uma sifonagem eficaz.

2.2.2 Microcosmos em Hidroponia

Para melhor entender a dinâmica de remoção de sal e nutrientes e à semelhança do que foi feito em outros estudos do género (Shelef et al. 2012), foram efetuados testes em hidroponia, onde o balanço de massa para a remoção de sais e de nutrientes, e a contribuição das plantas para o processo, são mais facilmente isolados.

Apenas os exemplares de *Spartina maritima* e *Juncus maritimus* foram utilizados nesta experiência por serem as espécies mais adaptadas às condições experimentais. Os mesmos foram retirados dos recipientes utilizados nas experiências anteriores e as suas raízes foram devidamente lavadas. Também se reduziu o número de caules utilizados devido ao menor tamanho dos novos recipientes, e procedeu-se à poda dos caules de *Juncus maritimus* (até cerca de 25 cm de altura).

Foram utilizados 9 recipientes de polietileno transparentes com as dimensões 0.28 m x 0.20 m x 0.14 m de altura, largura e profundidade respetivamente (área de 0.056 m² e volume útil de 3 L). De modo a garantir a obscuridade na zona das raízes, os recipientes foram tapados a toda a volta com plástico preto. Para simular as condições de hidroponia, não foi utilizado substrato, pelo que foi necessário utilizar placas de esferovite no topo do recipiente, devidamente adaptadas, para dar suporte às plantas. A mesma água residual sintética salina, descrita anteriormente, foi utilizada, definindo-se um volume a usar de 3 L para cada microcosmo, de forma a cobrir a raiz das plantas. Adicionalmente, foi fornecido arejamento utilizando uma bomba de ar, através de tubos finos de plástico com pequenas pedras difusoras.

De forma semelhante à experiência em Leito de Macrófitas, as diferentes condições experimentais foram testadas em triplicado (Figura 18) e os microcosmos dispostos de forma aleatória:

- ♦ Controlo – apenas água residual salina sintética;
- ♦ *Spartina maritima* (3 microcosmos, tufos com 8-10 cm, 14-17 caules por microcosmo);
- ♦ *Juncus maritimus* (3 microcosmos, tufos com 8-10 cm, 36-38 caules por microcosmo).



Figura 18 - Microcosmos em hidroponia com as plantas *Spartina maritima* e *Juncus maritimus* e ainda três microcosmos de controlo, colocados de forma aleatória. No canto inferior direito, pormenor da pedra difusora de ar utilizada.

O tempo de retenção testado foi de 4 dias, repetindo-se os testes por três vezes consecutivas. A solução nutritiva sobrando foi retirada na totalidade no final de cada TRH, utilizando uma bomba de sifão.

Em ambos os procedimentos descritos (leitos plantados e hidroponia), as amostras para análise foram recolhidas com uma seringa de 100 ml e reservadas em frascos, no frigorífico, para posteriormente se determinarem os nutrientes, sais, pH e condutividade elétrica.

Um teste suplementar foi efetuado em que a água salina sintética foi mantida nos microcosmos por um período de tempo mais longo (23 dias), sendo mantido o nível de água existente, quando necessário, adicionando água sem sal. No final deste período, foi igualmente efetuada uma estimativa do valor de sais removidos pelas plantas, lavando as plantas sucessivamente com o mesmo volume de água (100 ml) para cada uma e medindo o valor de sais na solução resultante.

2.3 Condições ambientais

As condições microclimáticas existentes no local dos ensaios foram avaliadas diariamente, até ao final dos dois tipos de testes efetuados, com o seguinte equipamento:

- ◆ Temperatura e humidade atmosféricas foram obtidos com um termohigrómetro digital TFA-Dostmann (-10° a 60°C; 10 a 99%);
- ◆ Intensidade luminosa medida com um luxímetro Lutron LX-150.

Além disso, a temperatura diária (mínima e máxima), as condições atmosféricas e o fotoperíodo também foram registados diariamente (www.worldmeteo.info/).

2.4 Análise do crescimento e sobrevivência das plantas

O crescimento das plantas foi analisado semanalmente ao longo de todo o período experimental em Leito de Macrófitas (inclui os testes com 4 e 7 dias de TRH), avaliando o número de caules e folhas e seu respetivo estado (verdes ou secos), a altura da planta e o diâmetro dos caules, de forma semelhante ao que foi descrito em outros estudos (Castillo et al., 2008, Won et al., 2015). Devido ao elevado e variado número de caules/plantas nos diferentes microcosmos, escolheram-se de forma aleatória 5 caules em cada microcosmos, que se marcaram, e nos quais se focaram as medições, nomeadamente altura, diâmetro e número de folhas verdes e secas (Wong et al., 2015). O número de caules foi contado na totalidade. A altura foi medida com uma fita métrica convencional começando na base do caule até à última inserção foliar, e o diâmetro foi medido com uma craveira provida de nónio, ao nível da base do caule. Assegurou-se a distribuição homogénea da argila para que não houvesse falsas diferenças de altura e diâmetro dos caules ao longo das semanas. Foi calculada a taxa de crescimento (TC, cm d⁻¹) segundo a seguinte fórmula:

$$TC = \frac{\ln(Af) - \ln(Ai)}{t2 - t1}$$

em que TC = taxa de crescimento (cm d⁻¹); Af = altura final (cm); Ai = altura inicial (cm); t2 = tempo final (dias); t1 = tempo inicial (dias).

No caso do período experimental em hidroponia, devido à mudança das condições das plantas (poda e diminuição do número de caules utilizados) e tempo de tratamento reduzido, não foram realizadas as medições anteriormente descritas, sendo apenas registadas as mudanças visualmente mais relevantes.

2.5 Métodos analíticos

As amostras retiradas de cada um dos microcosmos foram analisadas para determinar a concentração dos diferentes componentes presentes na água residual salina sintética, após o TRH aplicado:

- ◆ Condutividade elétrica (CE) - determinada com o eletrodo de condutividade WTW Tetracon® 325;
- ◆ pH - determinado com o eletrodo de pH SenTix 21;
- ◆ Cálcio e magnésio ($\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$) - determinados simultaneamente usando o método EPA (# 130.2 Hardness, Total (mg L^{-1} as CaCO_3) (Titrimetric, EDTA);
- ◆ Sódio (Na^+) - analisado com dois eletrodos HANNA FC 300 B Na^+ ;
- ◆ Cloreto (Cl^-) – analisado com um eletrodo de cloreto (HANNA HI 4107 Chloride combination electrode);
- ◆ Amónia (NH_4^+) – inicialmente testada como descrito em (Jesus, Calheiros et al. 2014), sendo posteriormente este método substituído por uma análise com o eletrodo de amónia de alta performance Thermo Scientific 9512HPBNWP;
- ◆ Nitrato (NO_3^-) – inicialmente através do uso de um eletrodo seletivo de nitrato ISE 9707BNWP da Thermo Scientific com a precipitação de cloreto com prata de acordo com as instruções do fabricante. Posteriormente, este parâmetro foi determinado por cromatografia iónica (Thermo Scientific™ Dionex ICS-3000) em laboratório externo usando uma coluna Thermo: Ionpac AS9-1HC Thermo com detetor de condutividade; usando 12 mM de NaCO_3 e 5 mM de NaHCO_3 como eluentes a um caudal de 1.0 ml/min a 25°C;
- ◆ Fosfato (PO_4^{3-}) - kit (Merck 1.14848.0002), com leitura a 885 nm em espectrofotómetro Visible and Ultra-Violet Spectrophotometer Varian Cary 100 (Jesus et al., 2014). Este parâmetro foi apenas analisado nas amostras da experiência em hidroponia.

Todos os eletrodos seletivos foram calibrados antes das análises com solução de calibração preparada imediatamente antes do teste, e seguindo as instruções do fabricante.

Para a análise da percentagem de eficiência de remoção foi utilizada a seguinte fórmula (Mbuligwe, 2004):

$$\text{ER (\%)} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

em que ER = eficiência de remoção (%), C_i = concentração inicial (mg L^{-1}); C_f = concentração final (mg L^{-1}).

2.6 Estatística aplicada

A análise estatística dos dados foi realizada usando o software Statistica 8.0 (StatSoft, Inc, Tulsa, USA) e baseada nos processos estatísticos descritos em Field (2009). Inicialmente, valores extremos (outliers) que não se encontram dentro do intervalo $[Q1 - k (Q3 - Q1), Q3 + k (Q3 - Q1)]$ (com $k = 0,7$) foram excluídos, de acordo com o método desenvolvido em Ben-Gal (2005), antes de serem feitas análises estatísticas.

Depois, a normalidade dos dados foi testada usando o teste Shapiro-Wilk, seguido do teste de Levene para testar a homogeneidade das variâncias. Para os dados com distribuição normal e variância homogênea foram aplicados o teste t e ANOVA, dependendo do número de variáveis a ser testado.

No caso dos dados com distribuição normal mas com variância heterogênea, utilizou-se o teste t Welch ou ANOVA Welch. O teste post hoc Tukey foi usado quando o número de dados era idêntico entre tratamentos diferentes e o teste post hoc unequal N HSD foi usado quando esta premissa não se verificava (por norma, devido à remoção de outliers). Os dados com distribuição não normal foram submetidos aos testes Mann-Whitney ou Kruskal Wallis, dependendo do número de variáveis a testar.

Os níveis de significância escolhidos foram $p < 0,05$ para dados com distribuição normal (paramétricos) e $p < 0,10$ para dados com distribuição não normal (não-paramétricos).

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos serão apresentados nesta secção começando pela análise às condições ambientais transversais a todos os testes, seguindo-se as análises químicas nas diferentes condições (microcosmos com substrato e hidroponia).

3.1 Condições ambientais

As condições ambientais foram monitorizadas através da medição diária de temperatura, humidade e intensidade luminosa ao longo de todo o período experimental. O objetivo desta monitorização era para simultaneamente assegurar que as condições existentes eram adequadas ao crescimento saudável das plantas em teste, assim como verificar se o local permitiria um bom isolamento das variações bruscas, mas naturais, de temperatura e humidade exteriores.

Relativamente às variações de temperatura (Figura 19) é possível verificar que a temperatura no interior da galeria envidraçada foi sempre superior ao registado no exterior, embora com menor variação. Em particular, quando o valor de temperatura baixou consideravelmente no exterior atingindo um mínimo de 3°C, o valor no interior manteve-se elevado (14,7°C) demonstrando a capacidade do local em tamponar variações bruscas, se temporárias.

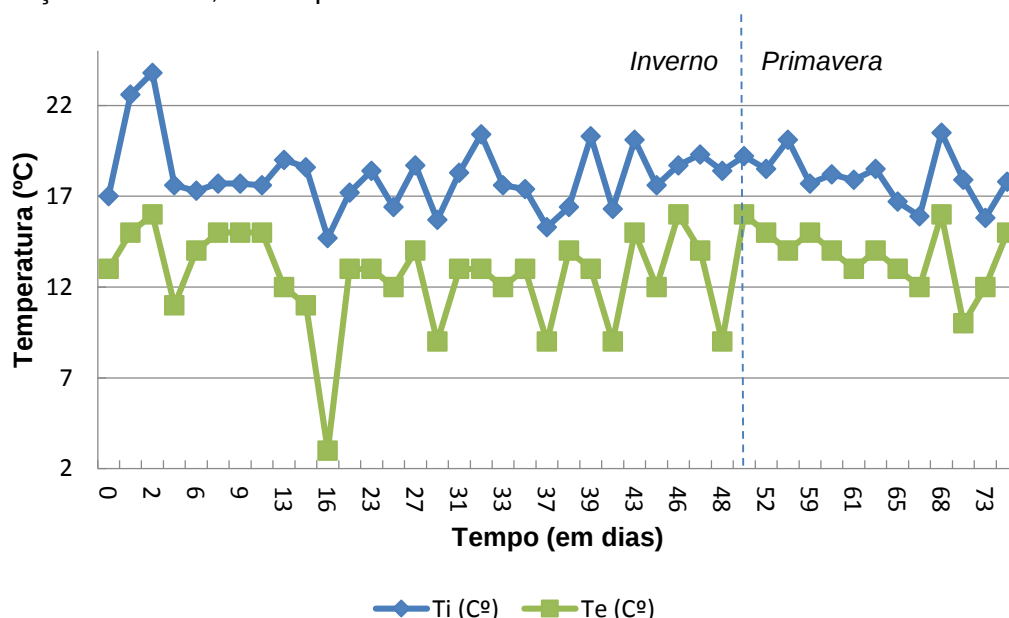


Figura 19 - Variação da temperatura interior (Ti (°C)) e exterior (Te (°C)) ao longo de 73 dias da experiência em leito de macrófitas em argila expandida.

Dividindo os resultados por períodos do dia, é possível verificar que a temperatura, durante o período de manhã, varia consideravelmente no exterior com um valor médio de 13,5°C. Este é um valor mais baixo e com maior desvio padrão que o valor no interior, onde se atingiu um valor médio de 18,0°C, valor quase 4,5°C mais elevado que o exterior.

A temperatura durante o período da tarde tem uma variação menor, com um valor médio de 14,8±2,9°C no exterior. No entanto, este valor mantém-se mais baixo e com maior desvio padrão que o valor no interior, onde a temperatura atingiu um valor médio de 19,0±1,8°C, valor 4,2°C mais elevado comparativamente ao exterior.

Assim, é possível verificar que a nível de temperatura, o local escolhido para a manutenção dos microcosmos funciona como uma estufa que mantém a temperatura estável, a bons níveis, colmatando assim as variações ambientais do exterior.

Sendo uma galeria envidraçada, existe uma grande exposição solar, pelo que os valores de luminosidade são elevados e variáveis ao longo do dia (Figura 20).

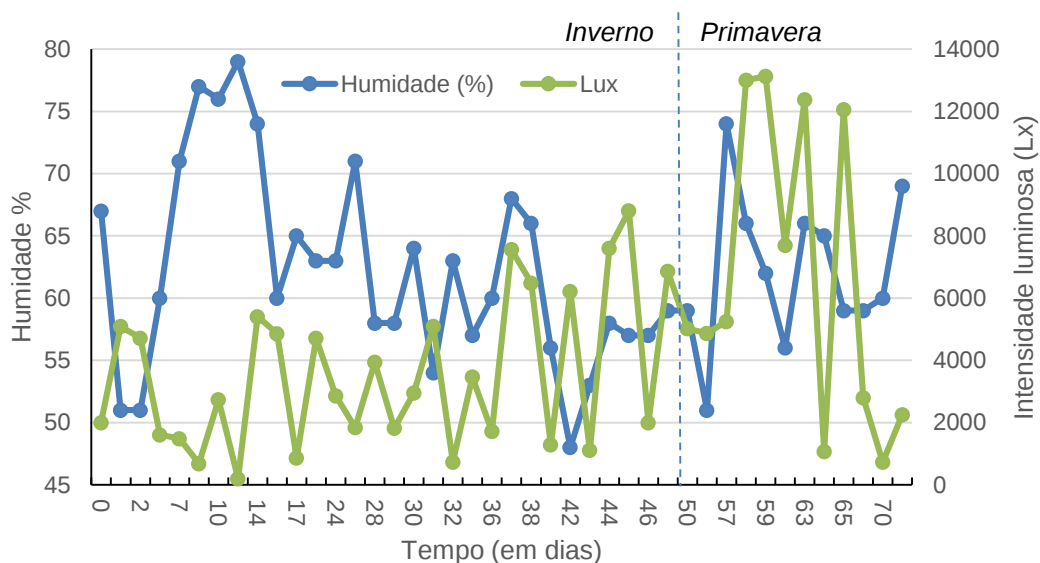


Figura 20 – Valores das variáveis ambientais, humidade e intensidade luminosa, dentro do local de manutenção dos microcosmos (galeria envidraçada) ao longo de todo o período de experimental (Leito de Macrófitas e hidroponia).

Durante todo o período experimental, devido às condições climáticas, nomeadamente céu nublado, verifica-se grande variabilidade neste parâmetro, observando-se porém valores mais elevados no período da primavera (a partir do 51^a dia). Os valores médios para este parâmetro são de 2559,5±1769,5 lux para o período da manhã e de 5648,1±3322,5 lux para o período da tarde, sendo este último valor menos variável ao longo do tempo.

Relativamente à humidade, os valores médios são próximos comparando os períodos de manhã e tarde: $64,5 \pm 6,6 \%$ e $62,9 \pm 7,7 \%$. Ao longo do período experimental, apesar de não haver uma variabilidade acentuada, é possível verificar que a humidade é mais elevada no período de inverno (máximo de 77%).

3.2 Testes em Leito de macrófitas

3.2.1 Testes com TRH de 4 dias

Os testes efetuados em microcosmos de Leito de Macrófitas, inicialmente referem-se a três séries consecutivas de 4 dias de TRH com a solução salina sintética completa, seguindo-se depois de testes com o mesmo TRH mas com solução salina sintética sem amónia, sendo utilizado o nitrato como única fonte de N.

É importante salientar que as medições de nitrato não foram possíveis, no primeiro período experimental de 4 dias de TRH, devido a ter sido verificada uma interferência desconhecida no método inicial de deteção de nitrato por eletrodo seletivo. Esta interferência foi inicialmente atribuída à presença de altas concentrações de cloreto, no entanto, a precipitação deste composto com prata não permitiu ultrapassar esta dificuldade. Em resultado destes impedimentos, o nitrato foi apenas medido num segundo set de testes de 4 dias de TRH, feito sem adição de amónia (análises efetuadas num laboratório externo por cromatografia iónica).

Relativamente à remoção de fosfato e apesar do valor inicial alto na solução sintética aplicada aos microcosmos, este parâmetro foi rapidamente reduzido a valores residuais sem que fosse possível diferenciar os tratamentos ensaiados. Para melhor entender o processo, foi decidido que o fosfato só seria monitorizado em sistema de hidroponia (onde a adsorção por parte do substrato não é uma variável).

No que respeita aos resultados do primeiro ensaio de aplicação de quatro dias de tempo de retenção (Tabela 5) verificaram-se diferenças significativas nos valores de condutividade elétrica (CE) entre o controlo e os microcosmos plantados com *Spartina maritima* (12 dS m^{-1}) e *Arundo donax* ($11,1 \text{ dS m}^{-1}$), mas não para os microcosmos com *Juncus maritimus* ($14,8 \text{ dS m}^{-1}$). Porém, ao longo dos ensaios seguintes de TRH=4 dias verificou-se uma subida nos valores de CE em todos os microcosmos plantados, pelo que as diferenças significativas deixaram de se verificar no último período de TRH ensaiado. Ainda assim, verifica-se que com *Spartina maritima* se conseguiram manter valores mais baixos de CE ($16,7 \text{ dS m}^{-1}$).

Tabela 5 – Valores finais da água residual salina sintética completa após tratamento nos microcosmos com apenas argila expandida (controlo) e plantados com três diferentes espécies (TRH - tempo de retenção hidráulico). Diferentes letras na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos para cada parâmetro por TRH testado, i.e., resultados que partilham pelo menos uma letra não são estatisticamente diferentes. Valores iniciais: CE – 15 dS m⁻¹; pH – 7; NH₄⁺ - 24mg L⁻¹; Cl⁻ - 5868mg L⁻¹; Na⁺ - 3807mg L⁻¹; Ca²⁺Mg²⁺ - 2.43meq L⁻¹; RAS – 151.

Tratamento	CE (dS m ⁻¹)		pH		NH ₄ ⁺ -N (mg L ⁻¹)		Cl ⁻ (mg L ⁻¹)		Na ⁺ (mg L ⁻¹)		Ca ²⁺ Mg ²⁺ (meq L ⁻¹)		RAS	
	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP
1º TRH – 4 dias														
Controlo	19.8 ^a	4.26	8.225 ^a	0.04	19.8 ^a	4.0	4507 ^a	558.5	3203 ^a	388.4	7.8 ^a	3.4	77 ^a	22.3
<i>Spartina maritima</i>	12.0 ^b	1.55	7.879 ^b	0.06	5.0 ^b	2.2	3045 ^b	488.6	2185 ^b	300.9	13.7 ^{ab}	3.0	37 ^{ab}	8.0
<i>Juncus maritimus</i>	14.8 ^{ab}	0.95	7.886 ^b	0.06	3.7 ^b	0.7	3359 ^{ab}	90.4	2457 ^{ab}	73.9	25.3 ^b	7.6	31 ^b	4.2
<i>Arundo donax</i>	11.1 ^b	1.26	8.087 ^a	0.06	5.7 ^b	1.9	2309 ^b	381.4	2095 ^b	322.4	11.1 ^a	0.2	39 ^{ab}	5.6
2º TRH – 4 dias														
Controlo	17.9 ^a	0.75	7.935 ^a	0.12	38.8 ^a	3.18	6614 ^a	299.9	5931 ^a	320	7.1 ^a	1.5	140 ^a	19.4
<i>Spartina maritima</i>	15.1 ^b	0.7	7.554 ^b	0.04	17.8 ^{ab}	1.54	5668 ^b	293.2	4618 ^b	164	10.6 ^{ab}	0.8	87 ^b	3.4
<i>Juncus maritimus</i>	16.8 ^{ab}	0.88	7.498 ^b	0.05	14.5 ^{ab}	1.68	5786 ^{ab}	330.7	5308 ^{ab}	110	17.5 ^b	3.8	80 ^b	11.6
<i>Arundo donax</i>	16.5 ^{ab}	0.06	7.503 ^b	0.04	8.4 ^b	5.45	5783 ^{ab}	98.3	5491 ^{ab}	107	8.7 ^{ab}	0.1	115 ^{ab}	2.8
3º TRH – 4 dias														
Controlo	17.4 ^a	0.33	7.764 ^a	0.15	23.8 ^a	12.4	5062 ^a	205	3472 ^a	99.7	7.3 ^a	0.9	79 ^a	6.2
<i>Spartina maritima</i>	16.7 ^a	0.46	7.471 ^{ab}	0.04	18.9 ^a	4.1	4982 ^a	220	3293 ^a	97.8	9.4 ^{ab}	0.65	66 ^a	1.1
<i>Juncus maritimus</i>	17.7 ^a	1.63	7.404 ^b	0.11	2.8 ^a	0.9	5057 ^a	498	3496 ^a	420	13.1 ^b	2.69	60 ^a	7.4
<i>Arundo donax</i>	18.1 ^a	0.16	7.606 ^{ab}	0.07	3.7 ^a	2.3	5239 ^a	119	3524 ^a	65	8.7 ^{ab}	0.68	73 ^a	2.1

A CE está intrinsecamente relacionada com o Na^+ e o Cl^- e isso é possível de verificar nos resultados obtidos, uma vez que os valores obtidos comportam-se da mesma forma para estes três parâmetros. É possível verificar diferenças significativas entre microcosmos no início do tratamento, que vão desaparecendo ao longo do tempo – os valores de Cl^- vão aumentando ao longo dos três ensaios, mas mantêm-se abaixo do valor inicial (*Spartina maritima* – 4982 mg L^{-1} ; *Juncus maritimus* – 5057 mg L^{-1} ; *Arundo donax* – 5239 mg L^{-1}), enquanto os valores de Na^+ ultrapassam o valor inicial no segundo TRH, e voltam a baixar no terceiro TRH, ficando abaixo do valor inicial (*Spartina maritima* – 3293 mg L^{-1} ; *Juncus maritimus* – 3496 mg L^{-1} ; *Arundo donax* – 3524 mg L^{-1}).

Estes resultados podem dever-se à retenção de sal na argila, devido ora à evaporação ora à adsorção, sal este que é sucessivamente dissolvido aquando das reposições periódicas da água residual. Isso faz com que a quantidade de sal aumente ao longo do tempo na solução amostrada em cada microcosmo, pois este não é removido para fora dos microcosmos. Nota-se uma acumulação maior nos microcosmos plantados, possivelmente devido ao sal que também está presente nos caules e folhas das plantas, que também poderá cair no substrato.

No que respeita ao pH, inicialmente, existem diferenças apenas entre o controlo e os microcosmos plantados de *Spartina maritima* e *Juncus maritimus*. No segundo período de TRH aplicado, o pH baixa em todos os microcosmos, mais significativamente nos plantados, fazendo com que se verifiquem diferenças entre o controlo e todos os leitos de macrófitas. No final do tratamento, o pH baixa mais um pouco, sendo mais significativo com *Juncus maritimus* (pH=7,404), que é o único caso que mantém as diferenças significativas em relação ao controlo. Valores elevados de pH derivam possivelmente da interação da água com a argila, sendo que este aumento (de um valor inicial de aproximadamente 7,0) tende a ser maior no controlo, chegando a 8,225, podendo-se por isso deduzir que as plantas poderão tamponar este efeito.

Os microcosmos plantados apresentaram uma alta remoção de amónia (76-85%) na primeira vez que o tempo de retenção de 4 dias foi aplicado, sendo claramente diferentes do controlo. Já no segundo período de TRH = 4 dias, os valores de amónia aumentam expressivamente em *Spartina maritima*, *Juncus maritimus* e controlo, não havendo diferenças entre os mesmos. Contudo, o valor do controlo é superior ao valor inicial, que era de 24 mg L^{-1} . No terceiro período de aplicação de TRH=4 dias em *Spartina maritima* mantém-se a tendência de um alto valor de amónia (18,9 mg L^{-1}), enquanto com *Juncus maritimus* se observa novamente uma boa remoção, com apenas

2,8 mg L⁻¹ no final do tratamento. Já com *Arundo donax* mantêm-se bons valores de remoção ao longo do tempo, conseguindo atingir os 3,7 mg L⁻¹; porém, no final do tratamento, não existem diferenças significativas entre nenhum dos microcosmos ensaiados. Esta falta de diferenças significativas poderá dever-se ao valor elevado de desvio padrão obtido nos microcosmos de controlo, apesar dos valores médios serem até 10 vezes inferiores em alguns dos tratamentos plantados.

Os microcosmos plantados apresentam valores elevados de Ca²⁺Mg²⁺, especialmente com *Juncus maritimus*, que mostra diferenças significativas em relação ao controlo ao longo de todo o tratamento. Os valores para os restantes microcosmos plantados, apesar de serem mais elevados, não são significativamente diferentes. Como o cálcio adicionado à água residual simulada não passa de 2,43 meq L⁻¹, todos os valores observados excedem o valor inicial (Controlo – 7,3 meq L⁻¹; *Spartina maritima* – 9,4 meq L⁻¹; *Juncus maritimus* – 13,1 meq L⁻¹; *Arundo donax* – 8,7 meq L⁻¹). Este excesso de cálcio poderá derivar da libertação do mesmo por parte da argila expandida, após uma fase inicial da adsorção.

Por fim, é possível verificar que a Razão de Adsorção de Sódio (RAS) é maior no controlo ao longo de todo o tempo experimental, existindo diferenças significativas inicialmente, que desaparecem ao longo do tempo de tratamento. De notar também que o RAS segue a tendência dos valores de Ca²⁺Mg²⁺ - quanto maior é o valor de Ca²⁺Mg²⁺, menor é o valor de RAS, o que é coerente uma vez que o RAS resulta de uma fórmula onde entram o Na⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺. Porém, os resultados mostram que as variações de sódio não são suficientes para alterar o equilíbrio na fórmula de RAS. Por outro lado, todos os valores de RAS obtidos são inferiores ao valor inicial da água residual salina utilizada, que era de 151.

Relativamente aos restantes testes com 4 dias de TRH, mas efetuados com água residual salina sintética apenas com nitrato como fonte de N (Tabela 6) é possível verificar que, quanto à condutividade elétrica (CE) não existem diferenças significativas entre o controlo e nenhum dos microcosmos plantados. Os valores de CE mantêm-se elevados ao longo do tempo. Porém, é de notar que os microcosmos de *Spartina maritima* mantiveram o seu valor mais baixo do que o controlo, sendo esta a planta que teve uma melhor performance. Os microcosmos com *Juncus maritimus* e *Arundo donax* apresentaram valores mais elevados do que o controlo, sendo este facto mais expressivo em *Juncus maritimus*. Estes resultados podem dever-se à dissolução do sal retido na argila, como foi explicado acima. Neste caso, como este tratamento foi feito depois do tratamento com amónia, os valores iniciais já eram mais elevados do que no ensaio anterior devido ao sal previamente acumulado.

Contrariamente ao sucedido nos testes anteriores sobre o efeito do TRH=4dias com a solução completa, neste caso o Na^+ e Cl^- não seguem exatamente a mesma tendência que a CE. Em relação ao Cl^- , no primeiro período do TRH aplicado é possível verificar que existem diferenças significativas entre o controlo e os microcosmos de *Juncus maritimus* e *Arundo donax*; porém, esta diferença representa um excesso de acumulação de Cl^- . Ao longo do tratamento, as diferenças desaparecem e os valores de Cl^- são muito elevados face ao valor inicial da solução usada (5868 mg L^{-1}). Já para o Na^+ , é possível verificar que *Spartina maritima* se destaca por ser significativamente diferente dos outros microcosmos plantados no primeiro TRH, apresentando os valores mais baixos de Na^+ (3189 mg L^{-1}). A partir do segundo período de TRH, e também face ao valor inicial de 3807 mg L^{-1} , nenhum dos microcosmos apresenta diferenças significativas a nível de sódio, mas *S.maritima* mantém a tendência e tem o valor mais baixo de Na^+ de 3647 mg L^{-1} .

Os valores de pH foram bastante homogêneos e não variaram muito ao longo do tempo, sendo que não existem diferenças significativas entre microcosmos. Contrariamente ao tratamento anterior, os valores de pH subiram, ainda que muito pouco. Esta estabilização do valor de pH próximo de pH neutro de 7 poderá ser devida à falta de reatividade da argila expandida que não leva ao aumento de pH verificado inicialmente.

Relativamente ao azoto proveniente do nitrato e apesar de não existirem diferenças significativas entre microcosmos, é possível verificar que a partir do segundo TRH, os microcosmos plantados apresentam valores de nitrato ligeiramente mais baixos que o controlo. Porém, é de notar os desvios padrão elevados, principalmente em *Arundo donax*, que é a situação que apresenta uma média mais baixa. Com a exceção da aplicação do primeiro TRH, o valor de nitrato tende a ser mais elevado no controlo quando comparado com os tratamentos plantados. No final do tratamento, todos os microcosmos plantados apresentam valores inferiores à concentração inicial de 34 mg L^{-1} (*Spartina maritima* – $29,9 \text{ mg L}^{-1}$; *Juncus maritimus* – $25,9 \text{ mg L}^{-1}$; *Arundo donax* – $16,2 \text{ mg L}^{-1}$).

Tabela 6 – Valores finais da água residual salina sintética (sem amónia) com azoto proveniente apenas de nitrato, após tratamento nos microcosmos só com argila expandida (controlo) e plantados com três diferentes espécies (TRH - tempo de retenção hidráulico). Diferentes letras na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos para cada parâmetro por TRH testado, i.e., resultados que partilham pelo menos uma letra não são estatisticamente diferentes. Valores iniciais: CE – 15 dS m⁻¹; pH – 7; NO₃⁻ - 34mg L⁻¹; Cl⁻ - 5868mg L⁻¹; Na⁺ - 3807mg L⁻¹; Ca²⁺Mg²⁺ - 2.43meq L⁻¹; RAS – 151.

Tratamento	CE (dS m ⁻¹)		pH		NO ₃ ⁻ - N (mg L ⁻¹)		Cl ⁻ (mg L ⁻¹)		Na ⁺ (mg L ⁻¹)		Ca ²⁺ Mg ²⁺ (meq L ⁻¹)		RAS	
	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP
1º TRH – 4 dias														
Controlo	17.1 ^{ab}	0.9	7.685 ^a	0.06	23.2 ^a	8.2	5179 ^b	214	3563 ^{ab}	221	3.2 ^b	0.0	123 ^b	7.1
<i>Spartina maritima</i>	14.6 ^a	0.6	7.777 ^a	0.05	25.1 ^a	5.8	5073 ^b	212	3189 ^b	164	4.1 ^a	0.2	97 ^a	3.0
<i>Juncus maritimus</i>	18.9 ^b	1.1	7.561 ^a	0.14	25.8 ^a	7.7	6492 ^a	524	3969 ^a	239	5.8 ^a	0.7	102 ^a	2.2
<i>Arundo donax</i>	19.5 ^{ab}	0.8	7.653 ^a	0.04	35.4 ^a	9.0	6888 ^a	217	4128 ^a	165	4.3 ^a	0.2	123 ^b	6.0
2º TRH – 4 dias														
Controlo	18.1 ^{ab}	0.5	7.713 ^a	0.14	36.7 ^a	12.1	7904 ^a	339	4228 ^a	263	3.3 ^a	0.3	144 ^a	4.9
<i>Spartina maritima</i>	16.6 ^b	1.3	7.789 ^a	0.09	29.0 ^a	7.2	7740 ^a	213	4184 ^a	37	4.1 ^{ab}	0.4	128 ^{abc}	6.3
<i>Juncus maritimus</i>	20.5 ^a	1.5	7.623 ^a	0.23	31.0 ^a	5.1	8551 ^a	415	4493 ^a	492	5.4 ^b	0.7	119 ^a	8.7
<i>Arundo donax</i>	19.1 ^{ab}	1.0	7.685 ^a	0.05	24.8 ^a	20.7	8039 ^a	230	4049 ^a	187	4.1 ^{ab}	0.2	123 ^{ac}	2.1
3º TRH – 4 dias														
Controlo	19.4 ^a	0.6	7.814 ^a	0.01	33.4 ^a	12.4	8660 ^a	578	4313 ^a	289	3.4 ^a	0.5	145 ^a	20.8
<i>Spartina maritima</i>	15.9 ^a	1.7	7.814 ^a	0.08	29.9 ^a	10.1	6459 ^a	863	3647 ^a	333	4.0 ^a	0.2	112 ^a	8.9
<i>Juncus maritimus</i>	20.7 ^a	2.4	7.627 ^a	0.18	25.6 ^a	10.6	8148 ^a	1107	4582 ^a	372	4.9 ^a	0.6	127 ^a	2.3
<i>Arundo donax</i>	18.7 ^a	1.7	7.739 ^a	0.02	16.9 ^a	19.7	8126 ^a	788	4343 ^a	315	4.3 ^a	0.2	129 ^a	11.3

Mais uma vez, os valores de $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ são mais elevados nos microcosmos plantados do que no controlo, apresentado inicialmente diferenças significativas, que se vão perdendo ao longo do tempo, sendo os microcosmos com *Juncus maritimus* os que apresentam novamente valores mais elevados. Face ao valor inicial de $2,43 \text{ meq L}^{-1}$, também se verifica que todos os microcosmos têm um valor final mais elevado para este parâmetro. No entanto, comparando estes valores com os inicialmente verificados para os TRHs aplicados no teste com amónia, é possível verificar uma redução significativa de $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$, provavelmente resultante de uma menor lixiviação de cálcio por parte da argila expandida.

Neste tratamento é possível verificar que o RAS segue a mesma tendência do tratamento anterior – o controlo tem sempre valores mais elevados, e é possível verificar que o RAS segue inversamente os valores de $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$.

Os valores finais de nutrientes obtidos, tanto para a situação de solução salina sintética completa (N como amónia e nitrato), como para a situação sem amónia, apenas com N fornecido como nitrato, poderão ser expressos em percentagem de remoção face aos valores iniciais para melhor se perceber a dinâmica que foi verificada nos testes efetuados (Tabela 7).

Tabela 7 – Eficiência de remoção de azoto como amónia ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) e nitrato ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) da água residual salina sintética após o tratamento nos microcosmos com apenas argila expandida (controlo), e plantados com três diferentes espécies (TRH - tempo de retenção hidráulico de 4 dias, aplicado por três vezes consecutivas).

		Controlo	<i>Spartina maritima</i>	<i>Juncus maritimus</i>	<i>Arundo donax</i>
% $\text{NH}_4^+\text{-N}$	1º TRH	17.5±16.6	79.2±9.1	84.7±2.9	76.1±8.0
	2º TRH	-61.7±13.3	25.8±6.4	39.6±7.0	65.1±22.8
	3º TRH	-53.2±1.44*	21.1±17.1	88.2±3.6	84.7±9.5
% $\text{NO}_3^-\text{-N}$	1º TRH	13.6±18.6*	17.0±6.0*	9.0±5.3*	9.3±3.0*
	2º TRH	-19.2±6.3*	25.6±9.3*	38.2±33.2*	38.6±5.6*
	3º TRH	16.0±1.0*	-3.9±10.3*	55.8±21.6*	68.1±5.9*

* apenas um outlier removido (dos três replicados)

Tal como exposto anteriormente, a remoção de amónia é visível, principalmente em *Arundo donax*, que mantém uma performance consistente ao longo do tempo, com uma eficiência de remoção elevada, chegando a 84,7%. *Juncus maritimus* também teve uma boa performance, apresentando o valor mais alto de remoção (88,2 %) no final do

terceiro período de aplicação do TRH. Já *Spartina maritima*, apesar de ter acompanhado a tendência das outras espécies na remoção de N no primeiro período de TRH aplicado (máximo de 79,2%), nos seguintes períodos, a eficiência de remoção baixou consideravelmente. Os valores inicialmente mais altos de remoção para todas as espécies, e inclusivamente para o controlo, poderão dever-se a adsorção de amónia pela argila expandida, uma capacidade que rapidamente se esgota, o que está presente a partir do 2º TRH, levando a uma acumulação deste composto no meio.

Já as diferenças entre as plantas poderão dever-se a absorção diferenciada por planta, assim como a capacidades diferentes das mesmas de mudar o ambiente biogeoquímico na água, com potenciais variações nas taxas de transferência de oxigénio, que influenciam a nitrificação.

Relativamente ao azoto fornecido como nitrato, os valores de remoção não foram consistentes, pelo que foi necessária a remoção de outliers para a análise de resultados. Assim, globalmente, *Spartina maritima* apresentou valores baixos de remoção, principalmente ao terceiro período de TRH; com *Juncus maritimus* foi conseguida uma remoção de nitrato mais significativa, e que aumenta ao longo do tempo, porém, o desvio padrão é elevado; já *Arundo donax* parece ser a espécie que melhor atua a este nível, apresentando os valores mais altos de remoção, que aumentam ao longo do tempo, e com desvio padrão mais baixo. Ao contrário da amónia, o nitrato deverá ter sido removido quase na totalidade, por absorção pelas plantas, já que as condições nos microcosmos não seriam conducentes a desnitrificação.

3.2.2 Testes com TRH de 7 dias

Foram igualmente efetuados ensaios com tempo de retenção hidráulico de 7 dias, intercalado nos ensaios com TRH de 4 dias anteriormente referidos. Os resultados obtidos (Tabela 8), no entanto, foram inconclusivos.

Os valores de CE e sódio seguem sensivelmente o mesmo padrão mas, tendo em conta a evapotranspiração, não existe um padrão reconhecível e lógico: se por um lado a maior evapotranspiração deverá resultar num valor de CE ou Na^+ superior, como visto para os microcosmos com *Arundo donax* (com CE de $21,6 \pm 0,3 \text{ dS m}^{-1}$ e Na^+ de $4794 \pm 118 \text{ mg L}^{-1}$), o mesmo não se verificou para os microcosmos com *Spartina maritima*, com valores de CE de $16,6 \pm 0,6 \text{ dS m}^{-1}$ e Na^+ de $3601 \pm 115 \text{ mg L}^{-1}$ apesar de ter havido a mesma evapotranspiração que os microcosmos com *Arundo donax*. É possível verificar que os valores de CE e Na^+ nos microcosmos com *Arundo donax* tendem a ser sempre superiores (excetuando no 3º TRH), acompanhados também de

evapotranspiração superior, sendo seguidos, por ordem, pelos microcosmos plantados com *Juncus maritimus* e *Spartina marítima*. O controlo, no entanto, é caracterizado por valores atipicamente baixos, sendo inclusive, por vezes, o tratamento com valores mais reduzidos de sais.

Tabela 8 - Parâmetros da solução salina sintética completa após tratamento nos microcosmos com apenas argila expandida (controlo) ou plantados com três diferentes espécies (7 dias TRH - tempo de retenção hidráulico). Diferentes letras na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos. Valores iniciais: CE – 15 dS m⁻¹; pH – 7; NH₄⁺-N - 24mg L⁻¹; Cl⁻ - 5868mg L⁻¹; Na⁺ - 3807mg L⁻¹; Ca²⁺Mg²⁺ - 2.43meq L⁻¹; RAS – 151.

Tratamento	CE (dS m ⁻¹)	Evapo transpiração (L)	pH	Ca ²⁺ Mg ²⁺ (meq L ⁻¹)	Na ⁺ (mg L ⁻¹)	RAS
1º TRH 7 dias (sem compensação da evapotranspiração)						
Controlo	17.8±1.4	0.6	7.75±0.07	7.2±1.1	3848±358	89.1±11.1
<i>S. maritima</i>	16.6±0.6	0.8	7.60±0.01	9.8±0.3	3601±115	70.8±3.2
<i>J. maritimus</i>	18.8±1.3	0.7	7.58±0.12	12.7±2.2	4011±255	69.5±2.1
<i>A. donax</i>	21.6±0.3	0.8	7.75±0.05	11.0±1.1	4794±118	89.1±2.5
2º TRH 7 dias (com compensação de evapotranspiração com água salina a 15 dS m⁻¹)						
Controlo	11.8±1.6	0	7.56±0.12	7.2±0.6	2415±412	55.3±8.7
<i>S. maritima</i>	12.0±0.9	0.2	7.51±0.06	8.2±1.0	2332±166	50.2±2.1
<i>J. maritimus</i>	14.3±1.3	0.4	7.50±0.09	11.4±2.0	2625±250	48.0±1.6
<i>A. donax</i>	15.6±1.2	0.3	7.79±0.25	9.3±0.3	3251±326	65.5±5.5
3º TRH 7 dias (com compensação de evapotranspiração com água salina a 15 dS m⁻¹)						
Controlo	14.1±1.1	0.2	7.85±0.02	5.9±0.4	3168±279	80±7.4
<i>S. maritima</i>	14.9±0.7	0.2	7.75±0.09	8.5±1.0	3366±180	71±1.3
<i>J. maritimus</i>	18.2±0.9	0.3	7.63±0.10	10.9±1.2	3924±326	74±10.3
<i>A. donax</i>	17.3±1.1	0.5	7.71±0.04	8.3±0.4	3852±179	82±5.1
4º TRH 7 dias (com compensação de evapotranspiração com água salina a 15 dS m⁻¹)						
Controlo	16.0±1.8	0.2	7.76±0.01	5.8±0.3	3428±435	88±10.8
<i>S. maritima</i>	16.3±0.4	0.4	7.71±0.00	8.2±0.4	3432±57	74±3.2
<i>J. maritimus</i>	19.9±0.4	0.4	7.63±0.10	11.2±2.0	4173±111	78±8.1
<i>A. donax</i>	21.4±0.7	0.3	7.73±0.02	8.4±0.6	4596±296	98±6.4
5º TRH 7 dias (com compensação de evapotranspiração com água doce)						
Controlo	15.6±1.3	0.2	7.70±0,03	6.1±0.6	3452±313	86.8±11.8
<i>S. maritima</i>	14.2±0.8	0.2	7.80±0,01	7.8±0.6	8725±7731	187.9±162.1
<i>J. maritimus</i>	18.0±1.3	0.2	7.60±0,02	9.6±0.3	4052±218	80.6±3.4
<i>A. donax</i>	18.4±1.5	0.4	7.70±0,01	7.6±1.4	4304±340	96.7±4.4

Relativamente aos testes anteriores, é possível verificar uma relativa estabilização nos valores de pH e Ca²⁺Mg²⁺, independentemente das condições aplicadas. Considerando os valores relativamente estáveis de Ca²⁺Mg²⁺, não é

surpreendente verificar que os valores RAS possuam a mesma tendência já verificada para os valores de sódio, salvo pequenas exceções.

Nenhuma das tentativas para mudar as condições experimentais com o intuito de obter resultados mais compreensíveis com este tempo de retenção causou algum impacto real na interpretação de resultados: se por um lado se verificou que não seria possível manter 7 dias de TRH sem compensar perdas de água, sob pena de causar stress desnecessário às plantas, a compensação com água salina ou água doce não aparentou demonstrar diferenças nos valores atípicos inicialmente obtidos.

Tendo em conta todas estas considerações, os resultados claramente anómalos não permitiram efetuar testes estatísticos. Foi então feito um balanço de massa para incorporar os valores de evapotranspiração elevados que foram obtidos (Tabela 9).

É importante salientar que as quantidades de sais adicionados no 1º e 5º TRH são menores, dado que não houve uma reposição da evaporação com água salina nestes casos, pelo que deverão ser analisados separadamente.

No geral, é possível dizer que os valores de balanço de massa obtidos são ainda menos estáveis, havendo variações e desvios padrão muito grandes. Enquanto no 1º TRH os microcosmos plantados com *Spartina maritima* foram os que obtiveram maior remoção de sais no geral, e Na^+ em particular, com 6640 ± 1354 e 2945 ± 446 mg, respetivamente, estes valores desceram para 3891 ± 589 e 2286 ± 176 mg no 2º TRH, e voltaram a subir no 3º e 4º, apesar de no 2º, 3º e 4º TRH esta planta ter sido exposta a maior quantidade de sal.

Comparando apenas o 1º TRH e o 5º TRH, os valores no 5º TRH são substancialmente mais baixos potencialmente devido a menor evapotranspiração, mas também é possível que a compensação com água doce possa ter mobilizado sais que possam ter ficado presos nas camadas superiores de argila.

Em suma, os testes com TRH de 7 dias deram resultados inconclusivos, o que levou à decisão de não medir os níveis de nutrientes neste caso, sob pena de se obterem resultados que levassem a conclusões erradas. Os resultados erráticos do teste permitiram também concluir que o substrato e a evapotranspiração limitam a capacidade de monitorização de sais, levando à necessidade de testes em hidroponia para esclarecer o papel das plantas.

Tabela 9 - Balanço de massa para os sais e sódio removidos na água residual salina sintética adicionada em cada microcosmos, no teste em leito de macrófitas com tempo de retenção de 7 dias, para diferentes situações. Valores iniciais: Na^+ - 3807mg L⁻¹; Cl^- - 5868mg L⁻¹.

Tratamento	Evapotranspiração (ml)	Sais removidos (mg)	Sódio removido (mg)
1º TRH - 7 dias (sem compensação da evapotranspiração)			
Controlo	600	5055±704	2405±273
<i>Spartina maritima</i>	800	6640±1354	2945±446
<i>Juncus maritimus</i>	700	5114±1453	2458±485
<i>Arundo donax</i>	800	6186±623	2741±190
2º TRH - 7 dias (com compensação de evapotranspiração com água salina a 15 dS m⁻¹)			
Controlo	0	4395±1261	2448±511
<i>Spartina maritima</i>	200	3891±589	2286±176
<i>Juncus maritimus</i>	400	7969±758	4058±223
<i>Arundo donax</i>	300	6445±721	3213±300
3º TRH - 7 dias (com compensação de evapotranspiração com água salina a 15 dS m⁻¹)			
Controlo	200	6630±723	3055±288
<i>Spartina maritima</i>	200	4177±472	2121±198
<i>Juncus maritimus</i>	300	5323±542	2745±303
<i>Arundo donax</i>	500	7826±555	3544±143
4º TRH - 7 dias (com compensação de evapotranspiração com água salina a 15 dS m⁻¹)			
Controlo	200	5587±1168	2859±444
<i>Spartina maritima</i>	400	7420±214	3568±51
<i>Juncus maritimus</i>	400	5253±247	2839±97
<i>Arundo donax</i>	300	4563±441	2665±275
5º TRH - 7 dias (com compensação de evapotranspiração com água doce)			
Controlo	200	994±903	960±344
<i>Spartina maritima</i>	200	2034±551	-4840±8504
<i>Juncus maritimus</i>	200	-419±924	382±235
<i>Arundo donax</i>	400	1392±855	702±306

3.3 Testes em Hidroponia

Posteriormente aos testes em Leito de Macrófitas com argila expandida, testes com duração semelhante em termos de tempo de retenção hidráulico foram feitos em sistema hidropónico (Tabela 10). Microcosmos de controlo, contendo apenas água residual salina sintética, foram montados e monitorizados sendo que os valores obtidos não foram substancialmente diferentes dos valores iniciais, como seria de esperar, pelo que esses dados não serão reportados na referida tabela.

Pode ver-se que a CE mantém-se elevada durante toda a duração da experiência, sendo sempre superior ao valor inicial de 15 dS m^{-1} , não existindo diferenças significativas entre os tratamentos. Apesar disso, é possível verificar que nos tratamentos com plantas a CE aumentou ao longo do tempo, ainda que pouco, o que é indicativo de que o sal que se acumula nas plantas não sai do microcosmos e poderá acabar por cair na água.

Os resultados para Cl^- e o Na^+ seguem a mesma tendência de valores elevados que a CE, e sem diferenças significativas entre si, sendo que no final o tratamento com *S.maritima* apresenta 7489 mg L^{-1} de Cl^- e 4233 mg L^{-1} de Na^+ , e o tratamento com *J. maritimus* 7661 mg L^{-1} de Cl^- e 4200 mg L^{-1} de Na^+ . Porém, é de notar que, enquanto o Cl^- aumenta consideravelmente ao longo do tempo de tratamento e acompanha a CE, o Na^+ vai diminuindo, ainda que muito ligeiramente. Isto pode dever-se ao facto do Na^+ ser mais reativo que o Cl^- , podendo ser adsorvido às raízes, enquanto o Cl^- é notoriamente mais móvel e menos reativo.

Os valores de $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ são elevados ($5,5$ e $6,1 \text{ meq L}^{-1}$) em relação ao valor inicial e não apresentam diferenças significativas entre tratamentos. Estes valores mais elevados relativamente ao valor inicial poderão dever-se à influência da evaporação, e também à lixiviação do possível excesso destes elementos por parte das plantas. O RAS, como seria de esperar, acompanha inversamente a tendência do $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$.

Os valores de pH apresentam-se um pouco abaixo do pH neutro de 7 (valor inicial) nos microcosmos com plantas. De notar que nos primeiros ensaios de TRH não se verificam diferenças significativas entre os tratamentos com *Spartina maritima* e *Juncus maritimus*, mas no 3º TRH é possível verificar diferenças significativas entre os três tratamentos diferentes. Isto mostra que as plantas têm influência no pH da água: enquanto nos testes com argila expandida as plantas impediam um aumento do pH, sem argila os valores de pH baixam. Considerando a remoção de amónia, a redução de pH poderá também ser resultante da produção de H^+ devido a nitrificação.

Relativamente aos nutrientes, mais uma vez, os microcosmos plantados em hidroponia apresentam uma boa performance na remoção de amónia, mantendo-se ao longo do tempo. No final do tratamento, *Spartina maritima* apresenta apenas $11,3 \text{ mg L}^{-1}$ de amónia e *J.maritimus* apresenta $12,0 \text{ mg L}^{-1}$, face aos 24 mg L^{-1} iniciais.

Tabela 10 - Parâmetros da água residual salina sintética completa após tratamento nos microcosmos em hidroponia, plantados com três diferentes espécies (TRH - tempo de retenção hidráulico). Diferentes letras na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos para cada parâmetro por TRH testado, i.e., resultados que partilham pelo menos uma letra não são estatisticamente diferentes. Valores iniciais: CE – 15 dS m⁻¹; pH – 7; NH₄⁺ - 24mg L⁻¹; PO₄³⁻ - 30mg L⁻¹; Cl⁻ - 5868mg L⁻¹; Na⁺ - 3807mg L⁻¹; Ca²⁺Mg²⁺ - 2.43meq L⁻¹; RAS – 151.

Tratamento	CE (dS m ⁻¹)		pH		NH ₄ ⁺ -N (mg L ⁻¹)		PO ₄ ³⁻ -P (mg L ⁻¹)		Cl ⁻ (mg L ⁻¹)		Na ⁺ (mg L ⁻¹)		Ca ²⁺ Mg ²⁺ (meq L ⁻¹)		RAS	
	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP	Média	DesvP
1º TRH – 4 dias																
<i>Spartina maritima</i>	18.1 ^a	0.5	6.450 ^a	0.42	15.6 ^a	3.0	30.0 ^a	3.0	5895 ^a	714	4436 ^a	92	5.5 ^a	0.5	116 ^a	4.8
<i>Juncus maritimus</i>	18.0 ^a	0.1	5.850 ^a	0.15	10.6 ^b	0.5	30.4 ^a	1.4	5178 ^a	152	4413 ^a	44	6.1 ^a	0.2	110 ^a	1.4
2º TRH – 4 dias																
<i>Spartina maritima</i>	18.5 ^a	0.5	6.203 ^a	0.22	11.5 ^a	0.5	20.9 ^a	14.0	7235 ^a	145	4391 ^a	112	5.2 ^a	0.3	118 ^a	2.0
<i>Juncus maritimus</i>	19.0 ^a	0.5	6.090 ^a	0.25	12.1 ^a	0.6	25.2 ^a	14.3	7473 ^a	111	4355 ^a	100	5.8 ^a	0.6	112 ^a	4.0
3º TRH – 4 dias																
<i>Spartina maritima</i>	18.9 ^a	0.3	6.087 ^a	0.13	11.3 ^a	0.3	3.3 ^a	2.2	7489 ^a	344	4233 ^a	123	5.3 ^a	0.2	113 ^a	4.7
<i>Juncus maritimus</i>	19.9 ^a	0.3	5.280 ^b	0.09	12.0 ^a	0.6	34.1 ^b	2.6	7661 ^a	187	4200 ^a	120	5.5 ^a	0.2	110 ^a	2.0

Em relação ao fosfato, no primeiro período de aplicação do TRH verifica-se que não houve qualquer remoção por parte das plantas (o valor inicial na solução era de 30 mg L⁻¹), não havendo diferenças entre elas. Já no segundo período de TRH existe uma remoção clara de fosfato, que parece ser maior em *Spartina maritima*, mas sem diferenças significativas entre as duas espécies. No terceiro período de TRH aplicado, *Spartina maritima* efetua uma remoção muito elevada (concentração final de 3,3 mg L⁻¹), sendo claramente diferente de *Juncus maritimus*.

A remoção de amónia e fosfato nos sistemas hidropónicos pode também ser avaliada sob o ponto de vista de eficiência de remoção (Tabela 11).

Tabela 11 – Eficiência de remoção (ER), em percentagem, de amónia (NH₄⁺-N) e fosfato (PO₄³⁻-P) da água residual salina sintética usada, após o tratamento em hidroponia, nos microcosmos com apenas água salina (controlo), e plantados com duas plantas diferentes, sob três períodos de aplicação de TRH de 4 dias (TRH = tempo de retenção hidráulico).

		<i>Spartina maritima</i>	<i>Juncus maritimus</i>
ER (%) NH ₄ ⁺ -N	1º TRH	34.8±12.6	55.8±2.1
	2º TRH	52.2±2.2	49.6±2.5
	3º TRH	53.1±1.4	49.8±2.6
ER (%) PO ₄ ³⁻ -P	1º TRH	-7.0±0.6*	-1.4±4.6
	2º TRH	-2.8±1.3*	-17.1±11.7*
	3º TRH	89.0±7.2	-13.7±8.6*

* apenas um outlier removido (de três replicados)

Como referido anteriormente, é possível verificar que os microcosmos com plantas apresentam uma eficiência de remoção de amónia satisfatória e que é mantida ao longo do tempo. Ambas as espécies têm uma capacidade de remoção similar, que ronda os 50%.

A remoção do fosfato não é satisfatória em *Juncus maritimus*. Já *Spartina maritima* não apresenta inicialmente remoção (só acumulação), mas no último TRH a remoção é muito elevada, com um desvio padrão pequeno. Neste caso, a espécie poderá ter demorado a adaptar-se às novas condições, daí apresentar remoção efetiva apenas no final do tratamento.

Imediatamente após o final da experiência em hidroponia, o caules e as folhas das plantas foram lavadas com água desionizada e os valores de sais (condutividade elétrica, sódio e cloreto) da solução resultante foram medidos (Tabela 12).

Verifica-se que os valores de CE são superiores em *Spartina maritima* e com um desvio padrão também mais reduzido, quando comparados com o *Juncus maritimus*. Isto resulta num valor de sal extraído 1,4 vezes superior.

Os restantes valores seguem uma tendência semelhante de superior remoção por parte de *Spartina maritima*, que removeu cerca de 1,3 e 1,55 vezes mais Na^+ e Cl^- , respetivamente, que *Juncus maritimus*.

Tabela 12 - Quantidade de sais (sais totais, sódio e cloreto) acumulados pelas duas espécies de plantas testadas, após extração por lavagem das plantas com 100ml de água desionizada por um período de 4 dias.

	<i>Spartina maritima</i>		<i>Juncus maritimus</i>	
	Média	DesvP	Média	DesvP
CE (dS m⁻¹)	9.82	0.51	6.86	1.05
Sais totais (mg)	628	33	439	67
Sódio (mg)	174	10	132	30
Cloreto (mg)	365	12.3	235	34.8

É importante salientar que alguns sais estavam mais fortemente aderidos às plantas, sais estes caracterizados por alguma viscosidade, pelo que não existem garantias de que todos os sais existentes nas plantas foram removidos pela simples lavagem efetuada. No entanto, o objetivo era também avaliar os sais que fossem facilmente mobilizáveis por água da chuva, por exemplo, pelo que a simulação efetuada se mantém válida, ainda que potencialmente incompleta.

Visualmente é possível verificar claramente que as plantas efetuaram remoção de sais devido à observação da sua acumulação na superfície dos caules (Figura 18).



Figura 21 - Sais acumulados nos caules de *Spartina maritima* (à esquerda) e *Juncus maritimus* (à direita) no final do tratamento em hidroponia.

Após a sua lavagem no final do tratamento em hidroponia, o total de sais acumulados é pouco significativo em relação à quantidade de sais a que as plantas foram sujeitas ao longo do tempo.

3.4 Crescimento e Sobrevivência das Plantas

A sobrevivência e o crescimento das plantas nos microcosmos plantados foram acompanhadas semanalmente, ao longo de todo o período experimental em Leito de Macrófitas (incluindo também os testes com TRH de 7 dias que, apesar de inconclusivos quanto, mantiveram as plantas sobre condições semelhantes às do TRH de 4 dias em termos de nutrientes e salinidade). No período experimental em hidroponia, as plantas foram monitorizadas apenas visualmente, devido ao pouco tempo em que decorreu este teste.

Na Figura 22 é possível verificar a taxa de crescimento (em cm d^{-1}) obtida para o crescimento em altura de cada espécie.

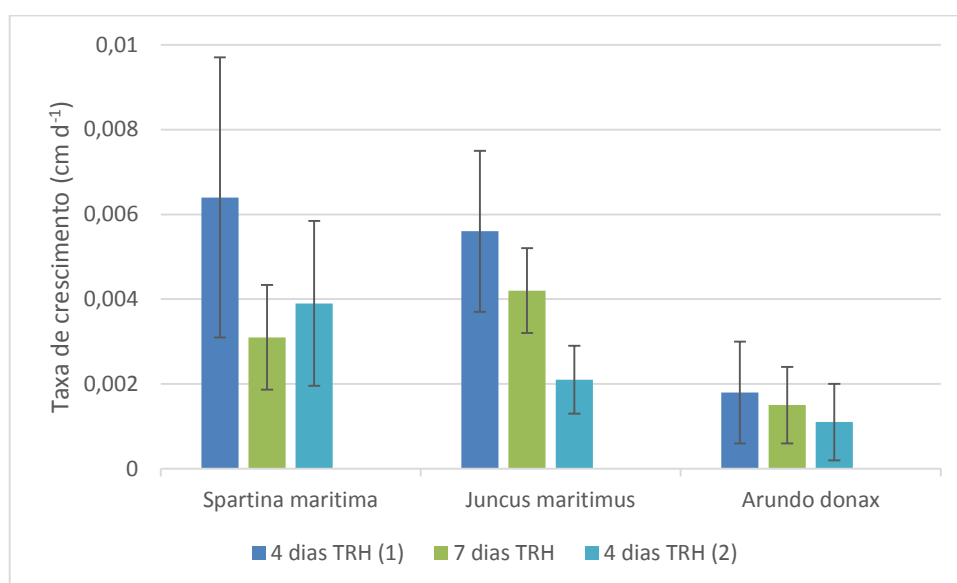


Figura 22 - Taxa de crescimento em altura (cm d^{-1}) das diferentes espécies nos diferentes procedimentos experimentais (4 dias de TRH com água residual salina sintética completa (1); 7 dias de TRH; 4 dias de TRH com água residual salina sintética sem amónia (2)) e TC, taxa de crescimento ao longo de todo o período experimental em leito de macrófitas (72 dias).

Ao longo de todo este trabalho, as plantas foram sujeitas a diferentes condições experimentais (diferentes TRH e diferentes composições em N da água residual salina sintética), e verifica-se que as plantas têm taxas de crescimento diferentes ao longo do tempo. *Spartina maritima* começa com uma taxa de crescimento elevada, de $0,0064 \text{ cm d}^{-1}$ para o 1º teste de TRH=4 dias, com amónia na água residual, sendo a maior taxa de crescimento registada. Porém, no período dos 7 dias de TRH, a taxa diminuiu

consideravelmente para os $0,0031 \text{ cm d}^{-1}$, traduzindo-se num decréscimo de cerca de 50%. No último período experimental, novamente de 4 dias de TRH, mas sem amónia e só com nitrato como fonte de N, a taxa de crescimento volta a subir e atinge os $0,0039 \text{ cm d}^{-1}$. *Juncus maritimus* inicia com uma taxa de crescimento de $0,0056 \text{ cm d}^{-1}$ no 1º teste de TRH=4 dias, que vai diminuindo ao longo do tempo ($0,0042 \text{ cm d}^{-1}$ nos 7 dias de TRH e $0,0021 \text{ cm d}^{-1}$ no último teste de 4 dias de TRH). *Arundo donax* segue a mesma tendência de decréscimo de *Juncus maritimus*, porém começa com uma taxa de crescimento muito baixa, de $0,0018 \text{ cm d}^{-1}$ para o 1º teste de TRH=4 dias, que diminui para $0,0015 \text{ cm d}^{-1}$ (7 dias de TRH) e depois para $0,0011 \text{ cm d}^{-1}$ (4 dias TRH).

Considerando a totalidade do período de testes em Leito de Macrófitas, *Juncus maritimus* apresenta a taxa de crescimento total mais elevada, tendo um aumento em altura de cerca de $0,0046 \pm 0,0013 \text{ cm d}^{-1}$, seguido de *Spartina maritima*, que cresceu cerca de $0,0040 \pm 0,0009 \text{ cm d}^{-1}$, e por fim de *Arundo donax*, que teve uma taxa de crescimento visivelmente menor, sendo de $0,0015 \pm 0,0009 \text{ cm d}^{-1}$.

Uma vez que as três plantas têm fisiologias diferentes, os valores iniciais de altura são também diferentes. Assim sendo, também será interessante estudar o crescimento dos caules em altura em função dos valores iniciais dos mesmos (Figura 23), dado que um acréscimo de 2 cm num caule com 2 cm de altura inicial tem um impacto diferente face a esse mesmo acréscimo num caule com 10 cm de altura inicial.

Durante os primeiros 14 dias de crescimento (tratamento com água residual salina sintética completa, a TRH=4dias) *Spartina maritima* e *Juncus maritimus* tiveram um crescimento relativo semelhante (em altura) com uma diferença de apenas 0,7%.

A partir desse momento, *Juncus maritimus* começou a crescer mais rapidamente que *Spartina maritima* atingindo uma diferença máxima de 12% no dia 52 (tratamento com 7 dias de TRH). Posteriormente, a diferença entre plantas começou a diminuir, possivelmente devido à estabilização do crescimento do *Juncus maritimus* (por exemplo, não se verificou crescimento médio entre os dias 58 e 65, Figura 23).

Relativamente a *Arundo donax*, o crescimento relativo máximo foi atingido no último dia de amostragem (72 dias) sendo de $12 \pm 8\%$, um valor que fora atingido pelas outras plantas 34 ou 49 dias antes (*Spartina maritima* e *Juncus maritimus*, respetivamente).

Considerando os valores finais de crescimento relativo, apenas o crescimento de *Arundo donax* é estatisticamente pouco significativo face aos valores iniciais.

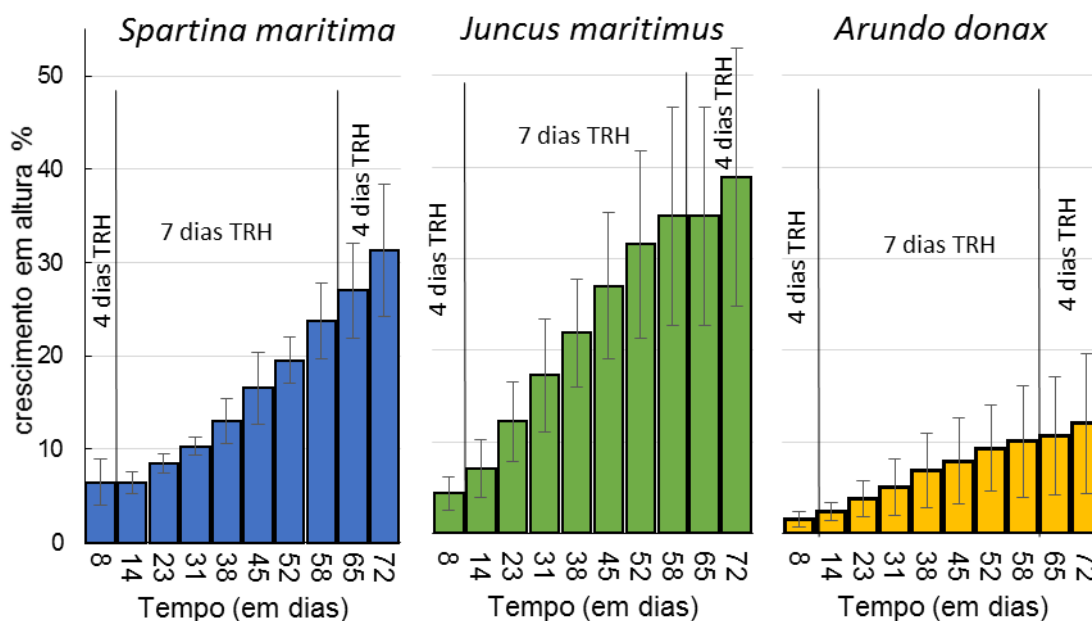


Figura 23 - Crescimento das três plantas ao longo do tempo em percentagem de diferença (cumulativa) de altura face ao valor inicial.

Outros parâmetros, para além da altura, também foram monitorizados, tais como caules e folhas verdes e secas, para avaliar a sobrevivência das plantas (Tabela 13).

Spartina maritima e *Juncus maritimus* apresentam um aumento do número de caules ao longo do tempo, sendo este mais pronunciado ao nível de caules verdes. Já em *Arundo donax* houve uma pequena diminuição do número de caules verdes, pois estes secaram, mas não existe grande variação a este nível ao longo do tempo, mostrando que esta espécie não prosperou nestas condições, mas foi capaz de sobreviver. Assim, existem diferenças significativas entre *Arundo donax* e as duas outras espécies para este parâmetro.

Em *Juncus maritimus* a distinção entre caules e folhas é difícil pelo que a medição de folhas não foi efetuada. *Spartina maritima* e *Arundo donax* apresentam variações similares no total de folhas, não havendo diferenças significativas. Porém, *Spartina maritima* conseguiu manter mais folhas verdes do que *Arundo donax*, em que secaram mais folhas.

Apesar de algumas folhas e caules terem secado, a sobrevivência pode ser considerada como 100% uma vez que nenhum dos tufo secou completamente, ou seja, todos os exemplares sobreviveram.

Tabela 13 - Variação do número de caules e folhas e altura dos caules durante todo o período de crescimento em foi em Leito de Macrófitas. Diferentes letras na mesma linha indicam resultados estatisticamente diferentes entre tratamentos. Valores negativos derivam da transição de caules/folhas verdes a secas.

		<i>Spartina maritima</i>	<i>Juncus maritimus</i>	<i>Arundo donax</i>
Caules	Verdes	4.6±2.1 ^a	10.3±7.0 ^a	-1.0±1.7 ^b
	Secos	1.7±0.6 ^a	3.0±2.0 ^a	1.3±1.5 ^a
	Total	6.3±2.5 ^a	13.3±8.3 ^a	0.3±0.6 ^b
Folhas	Verdes	0.6±1.0 ^a	N.D.	-0.5±2.1 ^a
	Secos	1.0±1.1 ^a	N.D.	1.7±1.2 ^a
	Total	1.5±0.9 ^a	N.D.	1.3±0.8 ^a
Altura		4.3±1.6 ^a	13.4±3.5 ^b	1.8±0.6 ^c

*diferentes letras na mesma linha indicam resultados estatisticamente diferentes entre as diferentes plantas.

Foi possível verificar um crescimento em altura ao longo do tempo em todas as espécies, sendo que houve diferenças significativas entre cada uma das espécies: *Juncus maritimus* destaca-se claramente, com um crescimento médio de 13,4 cm; a seguir está a *Spartina maritima* com um crescimento médio bastante inferior, de 4,3cm, porém satisfatório, tendo em conta as condições experimentais e ambientais; por fim, *Arundo donax* apresentou um pequeno crescimento de 1,8cm. Os valores de diâmetro não são apresentados devido a problemas na sua medição.

Podemos verificar que para os três parâmetros avaliados (caules, folhas e altura) a tendência entre espécies é similar, com *Juncus maritimus* a apresentar valores mais satisfatórios, seguido de *Spartina maritima* e por fim, *Arundo donax*.

Durante os testes em hidroponia, que decorreram em apenas 12 dias, verificou-se visualmente que as plantas de *Spartina maritima* e *Juncus maritimus* se deterioraram relativamente rápido, apresentando mais caules e folhas secas.

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos e anteriormente expostos serão analisados e discutidos de forma detalhada e comparados com os dados obtidos por outros estudos. Considerando que as referências existentes tendem a divergir em relação à análise de nutrientes e sais, foi decidido apresentar os dois assuntos separadamente. Dentro destes, é feita uma abordagem comparativa entre os resultados em Leito de Macrófitas e Hidroponia. Por fim, é discutida a sobrevivência e crescimento das três espécies de plantas.

4.1 Remoção de Nutrientes

Os resultados obtidos neste trabalho estão na generalidade de acordo com os resultados obtidos em outros estudos com salinidade e tempo de retenção hidráulico similares (Tabela 14).

No que se refere à remoção de amónia, os resultados são comparáveis aos obtidos em Klomjek e Nitisoravut (2005) e Gao et al. (2015) uma vez que as condições testadas (TRH, salinidade e concentração inicial) são semelhantes. É possível verificar que a eficiência de remoção em Leito de Macrófitas obtida no presente trabalho é cerca de 17-35% mais elevada do que nos estudos referidos (excluindo a baixa performance de *Spartina maritima*). Em hidroponia, a eficiência de remoção baixa e é cerca de 7-18% menor. Apesar disso, existe uma boa eficiência de remoção (50-53%) em hidroponia, o que demonstra que as plantas são, de facto, responsáveis pela remoção de amónia.

Idris et al. (2012) também estudaram o uso de *Arundo donax* para o tratamento de um efluente salino. No entanto, apesar do maior tempo de retenção hidráulico e menor salinidade, a percentagem de remoção de amónia foi substancialmente menor do que a verificada neste estudo. Em parte, esta baixa redução deve-se ao valor inicial muito elevado de 160 mg L^{-1} o que, considerando a eficiência de remoção de 31%, significa uma redução em $49,6 \text{ mg L}^{-1}$, valor que é maior que a redução de $20,4 \text{ mg L}^{-1}$ verificada para o presente estudo. Se normalizarmos este valor para ter em conta os tempos de retenção hidráulicos diferentes, então é possível concluir que se verificou uma taxa de redução ligeiramente superior no nosso estudo, de $5,1 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, face a apenas $4,96 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ do estudo de Idris et al. (2012). No entanto, poder-se-ia ainda verificar que esta capacidade depende de mais fatores como o volume de efluente e número e tamanho de plantas usadas. Este exemplo ilustra a dificuldade inerente a este tipo de comparação entre estudos desta natureza.

Tabela 14 - Comparação da remoção de nutrientes entre este trabalho e outros estudos sobre tratamento de efluentes salinos em FitoETAR (ER (%) – eficiência de remoção em percentagem; TRH – tempo de retenção hidráulico em dias). Fontes: [1] – Presente trabalho; [2] - (Sousa et al. 2011); [3] - (Su et al. 2011); [4] - (Wang et al. 2010); [5] - (Lin et al. 2005); [6] - (Shi et al. 2011); [7] - (Klomek e Nitisoravut 2005); [8] - (Gao et al. 2015); [9] - (Idris et al. 2012).

Fonte	Espécie	TRH (dias)	Salinidade (%)	NH ₄ ⁺ -N		PO ₄ ³⁻ -P / TP		NO ₃ ⁻ -N	
				Inicial (mg L ⁻¹)	ER (%)	Inicial (mg L ⁻¹)	ER (%)	Inicial (mg L ⁻¹)	ER (%)
[1]	<i>Spartina maritima</i> *	4	0.9	24	21	-	-	34	4
[1]	<i>Juncus maritimus</i> *	4	0.9	24	88	-	-	34	56
[1]	<i>Arundo donax</i> *	4	0.9	24	85	-	-	34	68
[2]	<i>Spartina alterniflora</i>	0.25	2.0	2.4	66	1.6	51	1	41
[3]	<i>Avicennia marina</i>	2	3.1	1.5	43	1.4	26	0.1	27
[3]	<i>Rhizophora stylosa</i>	2	3.1	1.5	50	1.4	27	0.1	25
[3]	<i>Lumnitzera racemosa</i>	2	3.1	1.5	35	1.4	30	0.1	38
[4]	<i>Kandelia candel</i>	1.5	1.0	1.2	82	0.1-0.2	14	0.2-0.4	85
[5]	Duas espécies	1.5-2	0.3	0.3	66	1.1	-8	6	-5
[6]	Várias espécies	-	0.8	1.3	71	0.1	24	3	59
[1]	<i>Spartina maritima</i> **	4	0.9	24	53	30	89	-	-
[1]	<i>Juncus maritimus</i> **	4	0.9	24	50	30	- 14	-	-
[7]	<i>Typha angustifolia</i>	5	0.6	24	65	9	24	-	-
[7]	<i>Digitaria bicornis</i>	5	0.6	24	62	8	41	-	-
[8]	<i>Phragmites australis</i>	3	1.0	21	68	26	45	-	-
[8]	<i>Scirpus validus</i>	3	1.0	21	62	26	47	-	-
[8]	<i>Canna Indica</i>	3	1.0	21	60	26	43	-	-
[9]	<i>Arundo donax</i>	10.6	0.6	160	31	65	0	-	-
[9]	<i>Phragmites australis</i>	10.6	0.6	160	39	65	-3	-	-

* Remoção de amónia testada com nitrato e amónia presentes simultaneamente na solução (duas fontes de N); Remoção de nitrato testada com apenas nitrato presente na solução (apenas uma fonte de N).

** Experiência realizada em hidroponia.

O estudo de Gao et al. (2015) é o mais indicado para comparar a remoção do fosfato observada, uma vez que apresenta uma concentração inicial semelhante deste nutriente. Neste trabalho, a análise do fosfato foi apenas feita em hidroponia e a

performance em *Spartina maritima* foi muito satisfatória (89% de remoção), tendo em conta a inexistência da argila, que tem a capacidade de absorver o fosfato da água residual. Mais uma vez, estes resultados mostram que a planta é capaz de remover este nutriente.

Comparações em relação à remoção do nitrato são complexas, uma vez que a concentração inicial usada foi muito maior que a dos estudos apresentados. Ainda assim, pode dizer-se que a eficiência de remoção obtida em *Juncus maritimus* e *Arundo donax* foi satisfatória (56 e 68%, respetivamente) e está de acordo com os outros estudos.

Em resumo, no teste em Leito de Macrófitas tanto *Juncus maritimus* quanto *Arundo donax* apresentam eficiências de remoção de nutrientes em linha com outros estudos. Já *Spartina maritima* tem baixa eficiência na remoção de amónia e nitrato. Em hidroponia, *Spartina maritima* consegue uma melhor performance, sendo superior a *Juncus maritimus* na remoção da amónia (53% de remoção) e superior a todos os outros estudos na remoção de fosfato (89% de remoção). Estes resultados mostram que as plantas realmente têm um papel importante na remoção de nutrientes dos efluentes salinos.

Considerando os VLE segundo o Decreto-Lei nº 348/98, de 1 de Agosto e Decreto-Lei nº 152/97, de 19 de Junho, é possível dizer que a nível de fósforo, os microcosmos testados possibilitaram a remoção de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ para que se encontre dentro do limite legal (o valor legal é de 10 mg L^{-1} e a *Spartina maritima* reduziu a concentração para $3,3 \text{ mg L}^{-1}$, em média).

Já relativamente aos valores de amónia, o limite legal equivale a $7,8 \text{ mg L}^{-1}$ (em $\text{NH}_4^+\text{-N}$, estando referido com $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ NH}_4^+$) tendo sido obtido um valor menor que este limite nos Leitos de Macrófitas com *Juncus maritimus* e *Arundo donax*, mas não nos testes em hidroponia, onde os valores se mantiveram ainda ligeiramente superiores ao limite ($11,28$ a 12 mg L^{-1} face a $7,8 \text{ mg L}^{-1}$ limite legal), sendo no entanto provável que um TRH ligeiramente maior pudesse resolver a questão.

Finalmente, o nitrato (limite legal de $50 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ ou $11,3 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-\text{-N}$) foi removido em quantidades suficientes apenas nos Leitos de Macrófitas com *Arundo donax*, onde o valor final foi em média $10,9 \text{ mg L}^{-1}$, enquanto nos Leitos de Macrófitas com *Juncus maritimus* o valor médio final foi superior, sendo de 15 mg L^{-1} .

Tendo em conta os valores elevados de nutrientes e salinidade a que testes foram efetuados, e também o baixo TRH usado, os valores de remoção podem considerar-se bastante elevados.

4.2 Remoção de Sal

A análise da remoção de sal mostrou-se também bastante complexa nos testes em Leito de Macrófitas (Tabela 15). Existem vários fatores que interferem com um balanço de massa adequado em argila e que dificultam a interpretação dos resultados, nomeadamente fenómenos tais como a evapotranspiração, adsorção de sal pelo substrato e ascensão por capilaridade acima do nível da água.

Dos resultados de remoção de sal nos microcosmos com argila expandida, poucas ou nenhuma tendência se podem extrair. É apenas possível discernir que a remoção inicial de sais totais e sódio nos tratamentos plantados rapidamente se esgota, e segue-se uma acumulação constante de sais ao longo do tempo. O sódio é removido com maior eficiência, e posteriormente acumula-se em menor quantidade (mesmo sob o ponto de vista percentual), que os sais totais. Esta diferença pode dever-se à maior reatividade do sódio, que acaba por ser mais facilmente adsorvido pela argila e plantas. De notar que *Spartina maritima* mantém uma performance consistentemente melhor que as outras espécies na remoção de sais totais e sódio, durante todo o procedimento experimental, sendo que em ambos os 3º períodos de TRH aplicado, consegue uma eficiência de remoção positiva de sódio, apesar da acumulação de sais já referida.

A combinação dos diversos fenómenos anteriormente referidos tornou impossível uma avaliação eficaz da remoção de sal, particularmente para tempos de retenção hidráulico mais elevados (TRH de 7 dias, dados não mostrados).

Um dos fatores que poderá ter contribuído para este resultado é a evaporação, que naturalmente conduz a uma concentração de sais mais elevada. No entanto, num substrato poroso, como é o caso da argila expandida, os sais podem precipitar e ficar presos acima do nível final da água no microcosmo. Isto leva a uma redissolução de sais quando é adicionada nova água residual simulada, afetando assim os resultados de remoção de sal de forma negativa. Por outro lado, a precipitação do sal também pode afetar a evaporação, devido ao aumento do potencial osmótico (Nachshon et al. 2011, Hird e Bolton 2016). Assim, a precipitação do sal devido à evaporação é um processo físico muito complexo, com efeitos difíceis de prever e monitorizar.

Tabela 15 - Balanço de massa para os sais e sódio removidos nos 1250ml de efluente salino simulado adicionados em cada microcosmos, no teste em leito de macrófitas. ER (%) – eficiência de remoção em percentagem

	Sais totais removidos			Sódio removido		
	Média (mg)	DesvP	ER (%)	Média (mg)	DesvP	ER (%)
1º TRH - 4 dias (solução completa)						
Controlo	-9184	8189	-32	1813	1165	16
<i>Spartina maritima</i>	5734	2974	20	4865	903	43
<i>Juncus maritimus</i>	410	1819	1	4050	222	35
<i>Arundo donax</i>	7411	2422	26	5136	967	45
2º TR - 4 dias (solução completa)						
Controlo	-5478	1435	-19	-6372	960	-56
<i>Spartina maritima</i>	-250	1336	-1	-2434	491	-21
<i>Juncus maritimus</i>	-3373	1683	-12	-4502	329	-39
<i>Arundo donax</i>	-2784	113	-10	-5051	322	-44
3º TRH - 4 dias (solução completa)						
Controlo	-4685	631	-16	1004	299	9
<i>Spartina maritima</i>	-3347	887	-12	1543	293	14
<i>Juncus maritimus</i>	-5274	3128	-18	934	1259	8
<i>Arundo donax</i>	-5984	308	-21	848	195	7
Aprox.1,5 meses de intervalo (testes com TRH de 7 dias)						
1º TRH - 4 dias (solução sem amónia)						
Controlo	-4096	1640	-14	733	662	6
<i>Spartina maritima</i>	787	1129	3	1854	491	16
<i>Juncus maritimus</i>	-7552	2148	-26	-485	718	-4
<i>Arundo donax</i>	-8717	1451	-30	-963	494	-8
2º TRH - 4 dias (solução sem amónia)						
Controlo	-6003.2	915	-21	-1263	790	-11
<i>Spartina maritima</i>	-2982	2477	-10	-1130	110	-10
<i>Juncus maritimus</i>	-10643	2804	-37	-2058	1475	-18
<i>Arundo donax</i>	-7929.6	1872	-28	-727	560	-6
3º TRH - 4 dias (solução sem amónia)						
Controlo	-8538	1107	-30	-1517	866	-13
<i>Spartina maritima</i>	-1734	3188	-6	480	1000	4
<i>Juncus maritimus</i>	-11008	4623	-38	-2325	1115	-20
<i>Arundo donax</i>	-7130	3270	-25	-1609	946	-14

Outro fenómeno que terá afetado os resultados foi o fenómeno de ascensão por capilaridade, ou seja, a água salina ascende por capilaridade através dos poros da argila expandida, humedecendo superficialmente o substrato acima do nível de água, com uma camada fina de água, que é mais suscetível a evaporação rápida. Após a evaporação dessa camada fina de água, o substrato seca, levando a mais ascensão de água salina por capilaridade, repetindo todo o processo. Com efeito, foi possível observar cristais de sal na superfície da argila, ainda que o nível da água estivesse cerca de 2 cm abaixo da superfície (Figura 25).



Figura 24 - Cristais de sal à superfície da argila expandida, numa zona onde não houve contato direto com a água residual salina simulada.

Outros estudos sugerem que a ascensão capilar em argila expandida tem um impacto significativo na distribuição de nutrientes (Meinken, 1997). Considerando o elevado nível de salinidade testado neste trabalho, a ascensão capilar, juntamente com a evaporação, poderão ter levado à redistribuição do sal. O impacto desta redistribuição em situação de fitoETAR não é claro, seja para sais ou para nutrientes, e deve ser alvo de investigação futura.

A evapotranspiração é um fator de reconhecida importância aquando da avaliação de taxas de remoção em fitoETAR, baseada apenas nas concentrações do influente e efluente (Białowiec et al., 2014). No entanto, mesmo considerando a evapotranspiração, os cálculos continuam a ser feitos com base nos valores iniciais e finais de poluentes na água, não sendo possível, por isso, incorporar fenómenos como a precipitação de sais ou capilaridade.

A comparação entre os resultados obtidos neste trabalho e outros estudos realizados é difícil, dado que a maioria dos estudos com leito de macrófitas em ambiente salino não se focam no potencial de remoção de sal, mas sim somente na remoção dos nutrientes.

Contudo, por exemplo, Guesdon et al. (2016) testaram o potencial de fitodessalinização de três espécies diferentes, com uma CE de 13 dS m^{-1} , semelhante à do presente trabalho, e tempo de retenção hidráulico de 7 dias, sendo que a planta com melhor performance (*Typha angustifolia*) foi capaz de remover 2,3% de Na^+ e 11,4% de Cl^- , o que foi superior ao controlo, enquanto *Juncus maritimus* removeu 3,2%

de Na^+ e acumulou 1,9% de Cl^- em relação ao controlo. Este resultado é semelhante ao obtido no presente trabalho para a mesma espécie, a nível de balanço de massa. No entanto, não é claro se esta remoção é constante ao longo do tempo.

Guesdon et al., (2016) também constataram que a CE foi 1,3 a 1,9 vezes maior no efluente para *Juncus maritimus* e *Typha angustifolia*, respetivamente, resultado da evapotranspiração e retenção da água no substrato testado, que reduziu o volume do efluente.

Resultados similares foram obtidos por Pouladi et al., (2016) que observaram valores mais elevados de Na^+ e CE em microcosmos plantados, do que no controlo, com um TRH similar (3,7 dias), concluindo que o TRH relativamente baixo poderá impedir a adsorção de sal por parte das plantas.

Freedman et al., (2014) também constataram que a evapotranspiração numa FitoETAR resultou numa salinidade mais elevada no efluente em microcosmos plantados, apesar de haver absorção por parte das plantas, ter testado um TRH mais baixo (2 dias), e o seu sistema operar em fluxo contínuo em vez de teste em “batch” (o que limita os efeitos negativos da evapotranspiração).

Os sistemas em hidroponia são um método alternativo e já utilizado em estudos prévios para melhor avaliar a remoção de sais em FitoETAR (Shelef et al., 2013). Neste caso, os problemas causados pela precipitação e capilaridade não existem, e torna-se mais fácil avaliar a eficiência de remoção de sais. O balanço de massa para sais e sua percentagem de remoção observados em hidroponia no presente trabalho, encontram-se na Tabela 16.

Os balanços de massa em termos de sais totais e sódio em testes de hidroponia são significativamente menos complexos e mais estáveis que os resultados anteriormente obtidos para o mesmo balanço em leito de macrófitas com argila expandida. É possível verificar uma remoção positiva e constante de sais totais por parte de *Spartina maritima*, ainda que mais reduzida no 2º período de TRH aplicado. Parte da variação observada, em particular valores negativos de remoção de sal, poderão ser explicados por reposição de sais excretados, mas mais investigação sobre essa possibilidade seria necessário ser efetuada para confirmar esta hipótese.

Tabela 16 - Balanço de massa dos sais e sódio removidos nos 3000 ml de solução adicionados em cada microcosmos, no teste em hidroponia. (%ER – eficiência de remoção em percentagem)

	Sais totais removidos			Sódio removido		
	Média (mg)	DesvP	% ER	Média (mg)	DesvP	% ER
1º TRH=4 dias						
<i>Spartina maritima</i>	2423	402	7.6	227	20	2.0
<i>Juncus maritimus</i>	2444	422	7.7	165	92	1.4
2º TRH=4 dias						
<i>Spartina maritima</i>	525	1082	1.7	-99	308	-0.9
<i>Juncus maritimus</i>	31	782	0.1	-110	175	-1.0
3º TRH=4 dias						
<i>Spartina maritima</i>	706	373	2.2	302	359	2.6
<i>Juncus maritimus</i>	-1888	829	-6.0	420	577	3.7
3º TRH=4 dias +19 dias						
<i>Spartina maritima</i>	3288	1242	10.4	1257	379	11.0
<i>Juncus maritimus</i>	-320	795	-1.0	709	953	6.2

Com um valor de CE de 16 dS m⁻¹, em hidroponia, e com 10 dias de TRH, Shelef et al. (2013) reportam que 2,67 g de Na⁺ foram removidos, o que parece elevado quando comparado com a remoção média de *Spartina maritima* de 1,257 g de Na⁺ obtido neste trabalho, após 23 dias de TRH. No entanto, Shelef et al. (2013) apenas detetaram 0,28 g de Na⁺ acumulado nas plantas, o que indica que o restante valor de sódio removido não pode ser alocado a um fenómeno específico de remoção, denotando assim as dificuldades do uso do balanço de massa para esta avaliação, o que poderá também limitar as interpretações dos resultados deste trabalho.

Considerando *Spartina maritima* como a planta com melhor performance em hidroponia, é possível sugerir, com base nos resultados obtidos para a remoção de sal e nos valores iniciais e finais presentes na água residual salina simulada, a distribuição dos sais por componente do sistema de forma aproximada, conforme se apresenta na figura 26.

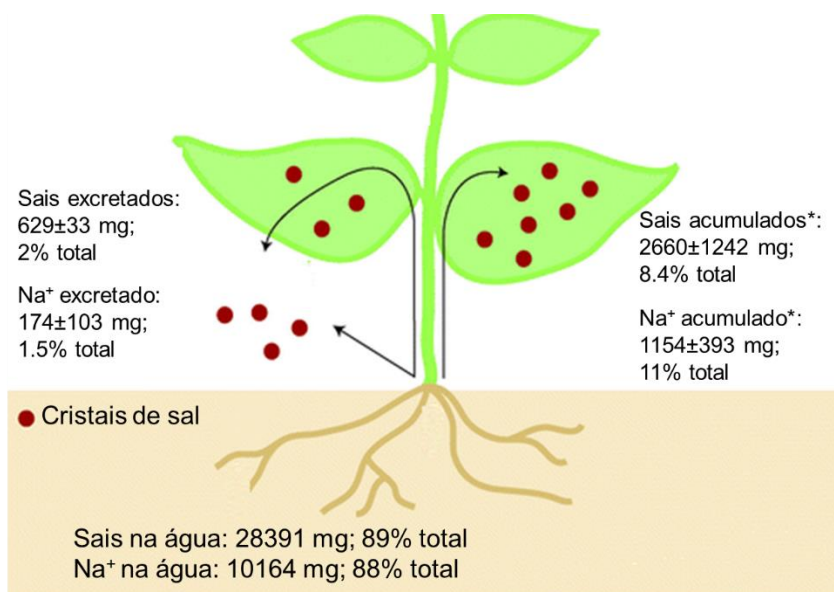


Figura 25 – Esquema representativo da distribuição de sais totais e sódio na planta *Spartina maritima* em sistema hidropônico e após TRH de 23 dias; *valor estimado por balanço (baseado em <https://projecthorticulture.files.wordpress.com/2013/12/0-phytoremedy.gif>)

4.3 Crescimento e Sobrevivência das Plantas

A comparação com outros estudos ao nível do crescimento e sobrevivência das plantas é difícil, uma vez que existem poucos trabalhos que abordem esta temática de forma equivalente – ora as condições experimentais são diferentes, logo as plantas não estão sujeitas ao mesmo stress; ou as espécies utilizadas não são comparáveis. Outro problema que se põe é a metodologia utilizada para avaliar estes parâmetros, em que a sobrevivência é avaliada apenas qualitativamente, por monitorização visual; e o crescimento é avaliado através da RGR (“relative growth rate”) que tem em conta o peso seco inicial e final, sendo os resultados apresentados em gramas por unidade de tempo.

Dadas estas limitações, a discussão será feita relativamente a estudos efetuados com estas espécies (ou espécies similares) no seu ambiente, comparando o crescimento e sobrevivência entre uma situação natural versus a situação de stress, em condições experimentais pouco favoráveis.

Juncus maritimus é uma espécie halófita com um crescimento contínuo e lento (Marques et al., 2011). Menéndez (2008) reportou uma taxa de crescimento de aproximadamente 0,047 cm d⁻¹, em condições naturais (ZNH na costa do mediterrâneo), durante o mês de Março. No presente estudo, a taxa de crescimento para o período total de testes foi cerca de 10 vezes inferior (0,0046 cm d⁻¹), sendo evidente o efeito negativo que as condições de stress têm no crescimento da planta. Outros estudos com uma espécie do mesmo género, *Juncus roemerianus*, apresentam taxas de crescimento

de 0,08 cm d⁻¹ no inverno (Williams e Murdoch, 1972), e de 0,63 cm d⁻¹ na primavera (Eleuterius e Caldwell, 1981), que também são taxas bem mais elevadas em relação à obtida neste trabalho.

Arundo donax é caracterizado como sendo uma planta de crescimento extremamente rápido (Rieger e Kreager, 1989), que em condições ótimas pode atingir os 8 metros de altura e uma taxa de crescimento de 5 cm d⁻¹ (Bell, 1997). Porém, esta foi a espécie que apresentou o menor crescimento nas condições a que esteve sujeita durante o procedimento experimental em Leito de Macrófitas, apresentando um crescimento médio de 1,8±0.6 cm e uma taxa de crescimento de 0,0015 cm d⁻¹. Isto representa um crescimento de apenas 0.03% do seu crescimento ótimo, o que comprova que *Arundo donax* é a espécie menos adaptada ao stress salino. Apesar deste crescimento mínimo, é de notar a resiliência desta planta que foi capaz de sobreviver em condições muito adversas – recolhida há 4 anos, colocada sob stress salino e com parte dos testes feitos no inverno.

No que diz respeito às duas espécies acima discutidas, verifica-se que *Juncus maritimus* teve um crescimento mais satisfatório do que *Arundo donax*, relativamente ao crescimento em estado natural.

Quanto a *Spartina maritima*, não foram encontrados estudos com dados de crescimento em ambiente natural, e por isso não é possível fazer a mesma comparação que foi feita para as outras espécies. Porém, esta é uma espécie halófita obrigatória, que completa o seu ciclo de vida numa concentração salina de 200 mM de NaCl (Duarte et al, 2014) e está abundantemente presente nos sapais em Portugal (Duarte et al., 2013). Por isso seria de esperar que fosse a espécie mais bem-sucedida nas condições experimentais deste trabalho.

Também é interessante verificar o comportamento das plantas nas diferentes condições experimentais a que foram sujeitas durante este trabalho – 4 dias de TRH (solução completa), seguida de 7 dias de TRH (solução completa) e por fim 4 dias de TRH (solução sem amónia). *Juncus maritimus* e *Arundo donax* apresentam um decréscimo da taxa de crescimento ao longo do tempo, não parecendo haver relação entre as diferentes condições e a capacidade de crescimento. Porém, é possível constatar que estas plantas foram perdendo a capacidade de crescer ao longo do tempo, o que indica que provavelmente não são capazes de sobreviver ao stress a que foram submetidas durante longos períodos de tempo. Já *Spartina maritima* mostra-se diferente das outras duas espécies, uma vez que começa com um crescimento muito elevado (0,0064 cm d⁻¹), que decresce 52% no procedimento de 7 dias de TRH e volta

a recuperar a taxa de crescimento quando submetida ao último teste de 4 dias de TRH, crescendo $0,0039 \text{ cm d}^{-1}$. Isto parece mostrar que esta espécie é mais resiliente e adaptada ao stress salino e poderá indicar que é mais tolerante a TRH maiores.

No que diz respeito à sobrevivência, as três espécies mostraram-se resilientes, com 100% de sobrevivência, e pouca variação no número de caules e folhas verdes e secas. Quanto à variação do número de caules verdes e secos, *Juncus maritimus* e *Spartina maritima* tiveram um aumento de 14,44% e 15,97% de caules verdes, respetivamente. Isto mostra que, apesar de ter um crescimento menos acentuado, *Spartina maritima* conseguiu ser a melhor espécie em termos de desenvolvimento de novos caules nas condições ensaiadas.

Tendo em conta as condições extremas do tratamento e a altura do ano em que esta avaliação foi realizada (inverno e início da primavera), os resultados podem ser considerados satisfatórios para *Spartina maritima* e *Juncus maritimus*, porque apesar das condições adversas, as plantas conseguiram não só sobreviver, mas também crescer. *Arundo donax*, apresentou dificuldades de adaptação às condições experimentais, ainda que apresentando bons resultados de remoção de nutrientes, particularmente de amónia.

4.4 Potenciais aplicações

O presente trabalho poderá contribuir para o melhor entendimento de diversas aplicações relativamente às plantas testadas. A premissa básica desta dissertação foi a tentativa de encontrar espécies de plantas, halotolerantes ou halófitas, capazes de, simultaneamente, reduzir o nível de sal e nutrientes de águas residuais. Esta remoção simultânea, se suficientemente grande, seria ideal, visto permitir ora a descarga direta de efluentes salinos para sistemas aquáticos de água doce, ora a sua reutilização como, por exemplo, água de rega.

No entanto, foi apenas possível demonstrar, de forma consistente e significativa, a remoção de nutrientes em ambiente salino. Ainda que este resultado limite aplicações, ainda permite o uso de fitoETAR para tratamento de água salina para descarga em massas de água naturais e no oceano sem risco de eutrofização, ou então para reutilização no próprio sistema de produção como, por exemplo, aquacultura marinha com sistemas de recirculação (Jesus et al., 2014).

Relativamente à remoção de sal, particularmente para reutilização para fins agrícolas, os testes efetuados neste trabalho com CE inicial de 15 dS m^{-1} e TRH de 4 dias e com três plantas diferentes, não mostraram um potencial realístico de redução de sal para valores aceitáveis. Esta conclusão foi semelhante a outros trabalhos, sendo de salientar o trabalho de revisão de Morteau (2016). No entanto, considerando que o valor recomendado de CE para descarga é de 0.5 dS m^{-1} , é possível que a remoção de sal para um TRH maior e valor de CE menor possa permitir a reutilização deste tipo de água residual. No entanto, é importante salientar que, mesmo em condições de CE inicial baixa ($1,5 \text{ dS m}^{-1}$), o efeito da evapotranspiração persiste (Freedman et al., 2014). Outros aspetos a ter em conta são o valor de RAS e o seu impacto no solo.

Adicionalmente, a produção de biomassa em sistemas salinos permite conceber a hipótese de agricultura bio-salina, *i.e.*, uso destas plantas para cultivo de solos impróprios para outros fins devido ao sal, sendo a biomassa gerada utilizada para efeitos medicinais, produção de bioetanol, alimentação humana ou animal, etc. (Glenn et al., 2013).

Outra perspetiva a considerar é que as plantas testadas, particularmente *Spartina maritima*, possuem capacidade de remoção de sal, mas que o TRH utilizado limita a exposição da mesma ao sal, impossibilitando um tratamento adequado. Valores de TRH de 23 dias, como os simulados no sistema hidropónico desta dissertação, dificilmente serão aplicáveis num sistema de FitoETAR. No entanto, existe o potencial de usar estas plantas para remediação de solos salinos, onde o tempo de contacto entre as plantas e os contaminantes (neste caso o sal) é medido em meses/anos e não em dias, e a absorção de sal nos tecidos é apenas um de vários mecanismos para os quais a planta contribui para o tratamento no solo (Qadir et al., 2006).

Finalmente, é importante salientar a importância da utilização de diferentes espécies num mesmo Leito de Macrófitas, uma vez que uma maior biodiversidade significa que serão realizadas mais funções. Neste caso, verificou-se que *Spartina maritima* contribui para uma boa remoção de sal, enquanto *Arundo donax*, apesar de não ser adaptado a condições salinas, foi capaz de remover alguns nutrientes de forma eficiente. Assim um sistema de FitoETAR híbrido, com a combinação de diferentes técnicas, fluxos e espécies será mais eficiente no tratamento do efluente (Valipour e Ahn, 2016).

5. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

Esta dissertação teve como objetivo avaliar a capacidade de remoção de nutrientes e sal de um efluente salino, simultaneamente, por parte de três espécies de plantas. No final deste trabalho, foi possível chegar a várias conclusões que são seguidamente apresentadas.

A capacidade de remoção é afetada pelas condições experimentais a que as plantas estão sujeitas, como o substrato e o tempo de retenção hidráulico.

Verificou-se que o substrato selecionado (argila expandida), não é o mais adequado para este tipo de trabalhos uma vez que causa muitas interferências – a sua porosidade permite a precipitação do sal acima do nível final da água e a sua ascensão por capilaridade. Este é redissolvido aquando novas reposições e a concentração de sal nos microcosmos aumenta, anulando o efeito da remoção por parte das plantas. No entanto, os testes em hidroponia permitiram retirar as interferências negativas do substrato escolhido, bem como confirmar o papel das plantas na remoção de sais e nutrientes.

O tempo de retenção hidráulico mostrou-se problemático aquando do teste com 7 dias de TRH, uma vez que os efeitos negativos da evapotranspiração, em conjunto com as interferências já referidas do substrato, não permitiram uma monitorização correta dos sais.

Tendo em conta a influência das condições experimentais, é possível concluir que diferentes plantas têm diferentes funções, e por isso, diferentes capacidades de remoção de nutrientes e sal.

Ao nível de remoção de nutrientes, *Arundo donax* foi a espécie com melhor performance na remoção de amónia e nitrato, com 85 e 68% de remoção respetivamente. Em relação ao fosfato, *Spartina maritima* apresentou o melhor valor de remoção, de 89%. *Juncus maritimus*, apesar de não ser a espécie com maior capacidade de remoção de nutrientes, também foi capaz de remover amónia e nitrato satisfatoriamente (88 e 56% respetivamente).

Ao nível da remoção de sal, *Spartina maritima* apresentou uma melhor performance ao longo de todo o trabalho. Porém, apenas em hidroponia foi possível verificar de facto a remoção de sal, tendo-se mantido a sua capacidade de remoção ao longo do tempo, ainda que em pequenas quantidades (máximo de 7,6% de eficiência de remoção de sais totais). Com um tempo de retenção alargado, de 23 dias, foi possível atingir uma percentagem de remoção de 10,4%.

Assim, foi apenas possível demonstrar, de forma consistente e significativa, a remoção de nutrientes em ambiente salino. Ainda que este resultado limite aplicações, ainda permite o uso de FitoETAR para tratamento de água residual salina para descarga em massas de água naturais e no oceano sem risco de eutrofização, ou então para reutilização no próprio sistema de produção como, por exemplo, aquacultura marinha com sistemas de recirculação.

Finalmente, é importante referir o crescimento e sobrevivência das plantas durante os 72 dias de experiência em que estiveram sob stress constante. Todas as plantas conseguiram sobreviver às condições testadas. Porém *Arundo donax* foi claramente a espécie menos adaptada, apresentando baixo crescimento. Já *Juncus maritimus* e *Spartina maritima* conseguiram prosperar, obtendo uma taxa de crescimento para o período total de testes de 0,0046 e 0,0039 cm/dia.

É possível concluir que as FitoETAR poderão ser mais eficazes se apresentarem um Leito de Macrófitas com várias espécies de plantas, uma vez que cada espécie tem capacidades diferentes de remoção de nutrientes e sal.

Futuramente recomenda-se estudos com um substrato diferente, menos poroso, (como por exemplo seixo) que evite as interferências referidas e permita a utilização de um TRH maior, para possibilitar a ação das plantas durante mais tempo. Também seria interessante realizar um estudo com recurso a um mesocosmo que permita a plantação das várias espécies, de modo a verificar se o tratamento é mais eficaz com a combinação de plantas diferentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou-elela, S. I., Kamel, M. M., & Fawzy, M. E. (2010). Biological treatment of saline wastewater using a salt-tolerant microorganism. *DES*, 250(1), 1–5.
- Adams, W. M. (2012). The Future of Sustainability: Re-thinking Environment and Development in the Twenty-First Century. In *Sustainability* (pp. 71–78).
- Bell, G. P. (1997). Ecology and management of *Arundo donax*, and approaches to riparian habitat restoration in southern california. *Plant Invasions: Studies from North America and Europe*, 103–113.
- Ben-Gal, I. (2005). Data Mining and Knowledge Discovery Handbook: A Complete Guide for Practitioners and Researchers. Maimon O and R. L.
- Brisson, J., & Chazarenc, F. (2009). Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: Should we pay more attention to macrophyte species selection? *Science of The Total Environment*, 407(13), 3923–3930.
- Brix, H., Schierup, H.-H., & Arias, C. a. (2007). Twenty years experience with constructed wetland systems in Denmark – what did we learn? *Water Science & Technology*, 56(3), 63.
- Brooks, A. S., Rozenwald, M. N., Geohring, L. D., Lion, L. W., & Steenhuis, T. S. (2000). Phosphorus removal by wollastonite: A constructed wetland substrate. *Ecological Engineering*, 15(1-2), 121–132.
- Buhmann, A., & Papenbrock, J. (2013). Biofiltering of aquaculture effluents by halophytic plants: Basic principles , current uses and future perspectives. *Environmental and Experimental Botany*, 92, 122–133.
- Calheiros, C. S. C., Duque, A. F., Moura, A., Henriques, I. S., Correia, A., Rangel, A. O. S. S., & Castro, P. M. L. (2009). Substrate effect on bacterial communities from constructed wetlands planted with *Typha latifolia* treating industrial wastewater. *Ecological Engineering*, 35(5), 744–753.
- Calheiros, C. S. C., Quitério, P. V. B., Silva, G., Crispim, L. F. C., Brix, H., Moura, S. C., & Castro, P. M. L. (2012). Use of constructed wetland systems with *Arundo* and *Sarcocornia* for polishing high salinity tannery wastewater. *Journal of Environmental Management*, 95(1), 66–71.
- Calheiros, C. S. C., Rangel, A. O. S. S., & Castro, P. M. L. (2008). Evaluation of different substrates to support the growth of *Typha latifolia* in constructed wetlands treating tannery wastewater over long-term operation. *Bioresource Technology*, 99(15), 6866–

6877.

Calheiros, C. S. C., Teixeira, A., Pires, C., Franco, A. R., Duque, A. F., Crispim, L. F. C., Castro, P. M. L. (2010). Bacterial community dynamics in horizontal flow constructed wetlands with different plants for high salinity industrial wastewater polishing. *Water Research*, 44(17), 5032–5038.

Castillo, M., Leira-doce, P., Rubio-casal, A. E., & Figueroa, E. (2008). Estuarine , Coastal and Shelf Science Spatial and temporal variations in aboveground and belowground biomass of *Spartina maritima* (small cordgrass) in created and natural marshes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 78, 819–826.

Ceotto, E. and M. Di Candilo (2010). Shoot cuttings propagation of giant reed (*Arundo donax* L.) in water and moist soil: The path forward? *Biomass and Bioenergy*, 34(11), 1614-1623.

Crites, R., E. J. Middlebrooks, R. Bastian and S. Reed (2006). *Natural wastewater treatment systems*. Boca Raton, FL, USA, CRC Press.

Davis. (1997). *A handbook of constructed wetlands*. *Wetlands* (Vol. 1). Retrieved from <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.169.7471&rep=rep1&type=pdf>

Dordio, A., Carvalho, A. J. P., Teixeira, D. M., Dias, C. B., & Pinto, A. P. (2010). Removal of pharmaceuticals in microcosm constructed wetlands using *Typha* spp. and LECA. *Bioresource Technology*, 101(3), 886–892.

Duarte, B., Couto, T., Freitas, J., Valentim, J., Silva, H., Marques, J. C., ... Caçador, I. (2013). Estuarine , Coastal and Shelf Science Abiotic modulation of *Spartina maritima* photobiology in different latitudinal populations. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 130, 127–137.

Duarte, B., Santos, D., Marques, J. C., & Caçador, I. (2014). Plant Physiology and Biochemistry Biophysical probing of *Spartina maritima* photo-system II changes during prolonged tidal submersion periods. *Plant Physiology et Biochemistry*, 77, 122–132.

Eleuterius, L. N., & Caldwell, J. D. (1981). Growth Kinetics and Longevity of the Salt Marsh Rush *Juncus roemerianus*. *Gulf Research Reports*, 7(1), 27–34.

EPA. (2000). *Manual Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters*. *Manual Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters. Risk Management* (Vol. (EPA-625-R)). Retirado de: <http://www.epa.gov/ORD/NRMRL/Pubs/2001/wetlands/625r99010.pdf>

- Fatehi Pouladi, S., B. Anderson, B. Wootton and L. Rozema (2016). Evaluation of Phytodesalination Potential of Vegetated Bioreactors Treating Greenhouse Effluent. *Water*, 8(6), 233.
- Freedman, A., Gross, A., Shelef, O., Rachmilevitch, S., & Arnon, S. (2014). Salt uptake and evapotranspiration under arid conditions in horizontal subsurface flow constructed wetland planted with halophytes. *Ecological Engineering*, 70, 282–286.
- Gao, F., Z.-H. Yang, C. Li and W.-H. Jin (2015). Saline domestic sewage treatment in constructed wetlands: study of plant selection and treatment characteristics. *Desalination and Water Treatment*, 53(3), 593-602.
- Garrido-Baserba, M., Hospido, A., Reif, R., Molinos-Senante, M., Comas, J., & Poch, M. (2014). Including the environmental criteria when selecting a wastewater treatment plant. *Environmental Modelling and Software*, 56, 74–82.
- Glenn, E. P., T. Anday, R. Chaturvedi, R. Martinez-Garcia, S. Pearlstein, D. Soliz, S. G. Nelson and R. S. Felger (2013). Three halophytes for saline-water agriculture: An oilseed, a forage and a grain crop. *Environmental and Experimental Botany*, 92(0), 110-121.
- Guesdon, G., de Santiago-Martín, A., & Galvez-Cloutier, R. (2015). Phytodesalinization potential of *Typha angustifolia*, *Juncus maritimus*, and *Eleocharis palustris* for removal of de-icing salts from runoff water. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Hernández-Sancho, F., Molinos-Senante, M., & Sala-Garrido, R. (2010). Economic valuation of environmental benefits from wastewater treatment processes: An empirical approach for Spain. *Science of the Total Environment*, 408(4), 953–957.
- Hill, C., Duxbury, J., Geohring, L., & Peck, T. (2000). Designing constructed wetlands to remove phosphorus from barnyard runoff: A comparison of four alternative substrates. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 35(8), 1357–1375.
- Hird, R. and M. D. Bolton (2016). Migration of sodium chloride in dry porous materials. *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 472(2186).
- Idris, S. M., P. L. Jones, S. A. Salzman, G. Croatto and G. Allinson (2012). Evaluation of the giant reed (*Arundo donax*) in horizontal subsurface flow wetlands for the treatment of dairy processing factory wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(8), 3525-3537.

Jesus, J. (2011). *Gestão integrada de efluentes de piscicultura intensiva através de Leitos de Macrófitas: Remoção de nutrientes e valorização da biomassa vegetal*. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologias do Ambiente.

Jesus, J. M., Calheiros, C. S. C., Castro, P. M. L., & Borges, M. T. (2014). Feasibility of *Typha Latifolia* for High Salinity Effluent Treatment in Constructed Wetlands for Integration in Resource Management Systems. *International Journal of Phytoremediation*, 16(4), 334–346.

Karajic, M., Lapanje, A., Razinger, J., Zrimec, A., & Vrhovsek, D. (2010). The effect of the application of halotolerant microorganisms on the efficiency of a pilot-scale constructed wetland for saline wastewater treatment, 75(1), 129–142.

Karathanasis, A. D., Potter, C. L., & Coyne, M. S. (2003). Vegetation effects on fecal bacteria, BOD, and suspended solid removal in constructed wetlands treating domestic wastewater, 20, 157–169.

Kivaisi, A. K. (2001). The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review. *Ecological Engineering*, 16(4), 545–560.

Klomjek, P., & Nitisoravut, S. (2005). Constructed treatment wetland: A study of eight plant species under saline conditions. *Chemosphere*, 58(5), 585–593.

Lefebvre, O., & Moletta, R. (2006). Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: A literature review, *Water Research*, 40, 3671–3682.

Lehl, H. K., Ong, S. A., Ho, L. N., Wong, Y. S., Saad, N. M., Oon, Y., Oon, Y., Yong, C., Thung, W. (2016). Multiple aerobic and anaerobic baffled constructed wetlands for simultaneous nitrogen and organic compounds removal, 3994(June).

Lin, Y.-F., S.-R. Jing, D.-Y. Lee, Y.-F. Chang, Y.-M. Chen and K.-C. Shih (2005). Performance of a constructed wetland treating intensive shrimp aquaculture wastewater under high hydraulic loading rate. *Environmental Pollution*, 134(3), 411-421.

Long, Y., Zhang, Z., Pan, X., Li, B., Xie, S., & Guo, Q. (2016). Substrate influences on archaeal and bacterial assemblages in constructed wetland microcosms. *Ecological Engineering*, 94, 437–442.

Lymbery, A. J., Doupé, R. G., Bennett, T., & Starcevich, M. R. (2006). Efficacy of a subsurface-flow wetland using the estuarine sedge *Juncus kraussii* to treat effluent from inland saline aquaculture. *Aquacultural Engineering*, 34(1), 1–7.

Marques, B., Lillebø, A. I., Pereira, E., & Duarte, A. C. (2011). Mercury cycling and sequestration in salt marshes sediments: An ecosystem service provided by *Juncus*

- maritimus and *Scirpus maritimus*. *Environmental Pollution*, 159(7), 1869–1876.
- Meinken, E. (1997). Accumulation of nutrients in expanded clay used for indoor plantings.
- Menéndez, M. (2008). Leaf growth, senescence and decomposition of *Juncus maritimus* Lam. in a coastal Mediterranean marsh. *Aquatic Botany*, 89(4), 365–371.
- Morteau, B. (2016). Salt Contaminated Water Phytotreatment by Constructed Wetland. *Sabkha Ecosystems Volume V: The Americas*. A. M. Khan, B. Boër, M. Öztürk et al. Cham, Springer International Publishing: 261-273.
- Nachshon, U., N. Weisbrod, M. I. Dragila and A. Grader (2011). *Combined evaporation and salt precipitation in homogeneous and heterogeneous porous media*. *Water Resources Research* 47(3).
- Pang, Y., Zhang, Y., Yan, X., & Ji, G. (2015). Cold Temperature Effects on Long-Term Nitrogen Transformation Pathway in a Tidal Flow Constructed Wetland. *Environmental Science & Technology*, 49(22), 13550–13557.
- Pouladi, S. F., Anderson, B., Wootton, B., & Rozema, L. (2016). Evaluation of Phytodesalination Potential of Vegetated Bioreactors Treating Greenhouse Effluent. *Water*, 8(6), 233.
- Prochaska, C. A., & Zouboulis, A. I. (2006). Removal of phosphates by pilot vertical-flow constructed wetlands using a mixture of sand and dolomite as substrate. *Ecological Engineering*, 26(3), 293–303.
- Qadir, M., J. D. Oster, S. Schubert and G. Murtaza (2006). Vegetative bioremediation of sodic and saline-sodic soils for productivity enhancement and environment conservation. *Biosaline Agriculture and Salinity Tolerance in Plants*, 137-146.
- Rieger, J. P., & Kreager, D. A. (1989). Giant reed (*Arundo donax*): a climax community of the riparian zone. *USDA Forest Service Gen. Tech. Rep. PSW-UO*, 222–225.
- Sakadevan, K., & Bavor, H. J. (1998). Phosphate adsorption characteristics of soils, slags and zeolite to be used as substrates in constructed wetland systems. *Water Research*, 32(2), 393–399.
- Scholz, M. (2011). *Wetland Systems. Green Energy and Technology* (Vol. 53).
- Shelef, O., Gross, A., & Rachmilevitch, S. (2012). The use of *Bassia indica* for salt phytoremediation in constructed wetlands. *Water Research*, 46(13), 3967–3976.
- Shelef, O., A. Gross and S. Rachmilevitch (2013). Role of Plants in a Constructed Wetland: Current and New Perspectives. *Water*, 5(2), 405.

Shi, Y., G. Zhang, J. Liu, Y. Zhu and J. Xu (2011). Performance of a constructed wetland in treating brackish wastewater from commercial recirculating and super-intensive shrimp growout systems. *Bioresource Technology*, 102(20), 9416-9424.

Sousa, W. T. Z., C. M. N. Panitz and S. M. Thomaz (2011). Performance of pilot-scale vertical flow constructed wetlands with and without the emergent macrophyte *Spartina alterniflora* treating mariculture effluent. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54, 405-413.

Su, Y.-M., Y.-F. Lin, S.-R. Jing and P.-C. Lucy Hou (2011). Plant growth and the performance of mangrove wetland microcosms for mariculture effluent depuration. *Marine Pollution Bulletin*, 62(7), 1455-1463.

Tanner, C. C. (1996). Plants for constructed wetland treatment systems - A comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. *Ecological Engineering*, 7(1), 59–83.

Truu, M., Juhanson, J., & Truu, J. (2009). Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *The Science of the Total Environment*, 407(13), 3958–71.

Tyagi, R. D. and K. Vembu (1990). *Wastewater Treatment by Immobilized Cells*, Taylor & Francis.

Valipour, A., & Ahn, Y. H. (2016). Constructed wetlands as sustainable ecotechnologies in decentralization practices: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(1), 180–197.

Vohla, C., Kõiv, M., Bavor, H. J., Chazarenc, F., & Mander, Ü. (2011). Filter materials for phosphorus removal from wastewater in treatment wetlands - A review. *Ecological Engineering*, 37(1), 70–89.

Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment*, 380(1-3), 48–65.

Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P. F., Haberl, R., Perfler, R., & Laber, J. (1998). Removal mechanisms and types of constructed wetlands. *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment in Europe.*, 17-66.

Webb, J. M., Quinta, R., Papadimitriou, S., Norman, L., Rigby, M., Thomas, D. N., & Vay, L. Le. (2012). Halophyte filter beds for treatment of saline wastewater from aquaculture. *Water Research*, 46(5102-5114).

Williams, R. B., & Murdoch, M. B. (1972). Compartmental Analysis of the Production of

Juncus roemerianus in a North Carolina Salt Marsh. *Chesapeake Science*, 13(2), 69–79.

Wang, Q., L. Yang and Z. Wu (2010). Treatment efficiency of integrated vertical-flow constructed wetland for saline wastewater. *Wuhan University Journal of Natural Sciences*, 15(6), 544-548.

Wong, J. X. W., Colen, C. Van, & Airoidi, L. (2015). Nutrient levels modify saltmarsh responses to increased inundation in different soil types. *Marine Environmental Research*, 104, 37–46.

Xu, D., Xu, J., Wu, J., & Muhammad, A. (2006). Studies on the phosphorus sorption capacity of substrates used in constructed wetland systems. *Chemosphere*, 63, 344–352.