

Mercúrio em Cogumelos Selvagens Níveis e Riscos para Humanos

Mariana Flor Neves dos Santos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Biotecnologia
(2^o ciclo de estudos)

Orientador: Prof. Doutor Manuel Ramiro Dias Pastorinho
Coorientadores: Doutora Ana Catarina Almeida Sousa
Professor Doutor Luís Manuel Taborda Barata

setembro de 2020

Dedicatória

Para ti avô, que sempre fizeste tudo por mim.

”Por vezes nunca vamos saber o valor de um momento até que se torne numa memória”

- Georges Duhamel

Agradecimentos

Como não podia deixar de ser, em primeiro lugar agradeço ao meu orientador, o Professor Doutor Ramiro Pastorinho e à minha co-orientadora, a Professora Doutora Ana Catarina Sousa, por todos os conhecimentos que me transmitiram, por todos os ensinamentos, relacionados com o trabalho e não só. Professores, obrigada pela constante boa disposição e espírito crítico e por todas as pequenas curiosidades partilhadas, de todo o tipo de assunto e mais algum. São os pequenos detalhes que fazem a diferença. Obrigada!

Ao STEELab, o grupo do qual fiz parte este ano, por todas as críticas e conselhos e por todos os momentos divertidos nas reuniões. Dentro deste grupo, um agradecimento especial ao Rafael Barros, por todo o auxílio e a ajuda prestada no laboratório. Um outro agradecimento muito especial neste grupo, ao Ricardo Pais, sempre calmo, por ser um ouvinte excelente e um ainda melhor conselheiro, em momentos difíceis. Votos de muito sucesso, se alguém merece, és tu!

Um grande obrigada a duas senhoras incríveis, à dona Odete e à dona Paula, que me acompanharam e orientaram nas saídas de campo, sempre bem dispostas e cheias de energia.

Aos meus pilares, os meus pais, o meu irmão, os meus avós, ao meu tio João. Nenhuma palavra escrita ou dita, será nunca suficiente para agradecer tudo o que me proporcionaram, tudo aquilo que fizeram, que tornou possível que eu alcançasse os meus objetivos, não só agora, desde o início da minha vida. Obrigada por todos os sacrifícios que fizeram para que isto fosse possível, por todo o amor, por TUDO, sou uma sortuda pela família que tenho.

Ao meu namorado, João Reis, um outro pilar, por ter sido absolutamente incrível no decorrer deste ano. Um obrigada gigante por estar sempre presente, pela paciência inesgotável, toda a dedicação, toda a motivação, por todo o amor, pela pessoa que é. Nunca hesitou sempre que eu precisei de ajuda, independentemente do que fosse. A nível emocional, foi o meu pilar, mantendo sempre a calma, especialmente nos momentos mais difíceis. Anível técnico, sempre com uma solução, para qualquer que fosse o problema que eu tivesse, tornando-se assim no “Mestre do Excel” e no meu ”*Computer Wizard*”, foi, e é sem dúvida, uma peça essencial na minha vida e nas minhas conquistas, sem ele não teria sido possível.

A três pessoas muito especiais, à “ti Ju”, ao “ti Zé” e ao Rafa, por todo o apoio que me deram, tudo o que fizeram e têm vindo a fazer por mim, não há palavras suficientes que possam mostrar o quão grata estou e a sorte que tenho, obrigada.

Às “minhas” meninas que me acompanham desde o início da licenciatura, uma delas desde o primeiro ano da escola primária, mesmo não estando sempre presentes, foram e são incríveis fontes de boa disposição e motivação, foram grandes contribuidoras para a pessoa que me tornei e sou hoje, graças aos nossos momentos de trabalho, desespero e desenrasque, mas também aos momentos de diversão constantes, convosco cresci, obrigada. Um agradecimento especial à Maria Carolina, que nos últimos tempos me ajudou muito, com as nossas conversas, que me fizeram descontraír nos momentos menos bons, conversas que me confortavam, relaxavam e me faziam rir. Às vezes tudo o que precisamos é de um amigo e de uma boa gargalhada. Por vezes quanto mais longe se está de alguém, mais próximo se está dessa pessoa, obrigada.

Às “minhas” meninas do mestrado, por todos os momentos que passamos ao longos destes dois anos, os divertidos e os mais difíceis também, convosco aprendi que os momentos mais difíceis não eram assim tão difíceis se estivesse convosco, obrigada.

Por fim, um obrigada a todos os que de uma maneira ou outra me marcaram e estiveram presentes na minha vida ao longo deste ano, todos precisamos de alguém que nos oiça, que nos faça rir e que nos dê uma palavra de conforto.

A vida não é uma caminhada que se faz sozinha.

Resumo

Os cogumelos selvagens são muito apreciados e procurados em várias regiões do mundo e fazem parte da alimentação humana desde há milhares de anos. Tem sido relatado por muitos estudos que os cogumelos têm o potencial de bioacumulação de metais, como o mercúrio. Isso levanta algumas questões e preocupações. Será que este potencial de bioacumulação será verificado nas espécies apanhadas na Cova da Beira? Será que os níveis de mercúrio detetados estarão acima da dose de referência? Uma vez que a Cova da Beira é afetada por incêndios florestais quase todos os verões, espera-se que as amostras de cogumelos recolhidas exibam mercúrio, uma vez que os incêndios provocam a remobilização do mercúrio.

O principal objetivo deste estudo é descrever os níveis de mercúrio em algumas espécies de cogumelos encontradas na Cova da Beira, verificar o seu potencial de bioacumulação de metais e, finalmente, averiguar existência ou não de riscos para o homem, associados ao consumo destas espécies. Além disso, pretende-se elaborar uma lista de recomendações para aumentar a consciencialização dos níveis de contaminação de cada local e tentar diminuir o consumo de mercúrio através da diminuição ou até abstenção do consumo das espécies que estiverem mais contaminadas.

A ordem de grandeza dos níveis de mercúrio obtidos para as diferentes espécies amostradas foi *Tricholoma equestre* > *Lactarius deliciosus* > *Tricholoma portentosum* > *Russula vesca*. As amostras recolhidas no Alcaide apresentaram os níveis de mercúrio mais elevados. Em contrapartida, Terlamonte apresentou os níveis mais baixos. O solo e vegetação recolhidos em associação com as amostras de cogumelos, apresentaram concentrações inferiores às dos cogumelos correspondentes, indicando que têm um potencial de acumulação inferior à dos cogumelos. As concentrações de mercúrio verificadas no solo (inferiores ao cogumelo correspondente) comprovam a capacidade de biorremediação do solo pelos dos cogumelos.

Palavras-chave

Tricholoma equestre, *Tricholoma portentosum*, *Lactarius deliciosus*, *Russula vesca*, Cova da Beira, Solo, Vegetação, TWI.

Abstract

Wild mushrooms are very popular and sought after in regions all around the world, and they have been a part of the human diet for thousands of years. Some studies reported that mushrooms have the potential to bioaccumulate metals, such as mercury. This raises some questions and concerns. Will this bioaccumulation potential be verified in the species gathered in Cova da Beira region? Are the detected mercury levels above the reference dose? Since Cova da Beira is affected by forest fires almost every summer, mushroom samples are expected to contain mercury, since fires cause its remobilization.

The main goal of this work is to describe the levels of mercury in some of the species of mushrooms found in Cova da Beira, to verify their potential for metal bioaccumulation and, finally, to study the existence of risks for humans associated with their consumption. In addition, it is intended to draw up a list of recommendations to raise awareness on the levels of contamination of each site and try to decrease mercury intake by decreasing or even promoting abstinence from consuming the most contaminated species .

The decreasing order of mercury concentrations for the species sampled was *Tricholoma equestre*>*Lactarius deliciosus*>*Tricholoma portentosum*>*Russula vesca*. The samples collected at Alcaide showed the highest levels of mercury. In contrast, Terlamonte presented the lowest levels. The soil and vegetation collected in association with the mushroom samples, showed lower concentrations than the co-collected mushrooms, indicating that they have lower accumulation potentials. The mercury concentrations obtained in soil samples (lower than the corresponding mushrooms) corroborate the fact that mushrooms have the potential for soil bioremediation.

Keywords

Tricholoma equestre, *Tricholoma portentosum*, *Lactarius deliciosus*, *Russula vesca*, Cova da Beira, Soil, Vegetation, TWI.

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Índice

Dedicatória	iii
Agradecimentos.....	v
Resumo	vii
Palavras-chave.....	vii
Abstract.....	ix
Keywords	ix
Índice	xi
Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xix
Lista de Acrónimos.....	xxvii
Capítulo 1 Introdução	1
1.1 Cogumelos - Descrição introdutória	1
1.1.1 Estrutura e Morfologia	3
1.1.2 Reprodução.....	4
1.1.3 Nutrição	7
1.1.4 Utilização	7
1.1.5 Identificação	8
1.1.6 Cogumelos e Mercúrio.....	9
1.1.7 Cogumelos como (Potenciais) Bioindicadores	10
1.1.8 Cogumelos e Biorremediação.....	11

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

1.2	Mercúrio - Descrição geral	11
1.3	Absorção/Acumulação de Mercúrio	14
1.4	Ciclo Global do Mercúrio e Emissões de Mercúrio	15
1.5	Mercúrio e Fontes de Exposição para Humanos.....	19
1.6	Mercúrio e Efeitos na Saúde	20
1.7	Gestão de Mercúrio	22
1.8	Solo	23
1.9	Vegetação.....	24
1.10	Fogos Florestais	25
1.11	Objetivo.....	27
Capítulo 2	Materiais e Métodos	29
2.1	Locais de amostragem.....	29
2.1.1	Tratamento das amostras.....	32
2.2	Quantificação de mercúrio	34
2.3	Controlo de qualidade	35
Capítulo 3	Resultados	37
3.1	QA/QC & Otimização do método de análise de cogumelos, Solo e Vegetação 37	
3.1.1	Materiais de Referência (CRMs).....	37
3.1.2	Otimização da quantidade de cogumelos, solo e vegetação a utilizar.....	37
3.2	Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos	39

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

3.2.1	Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos comerciais ..39
3.2.2	Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos selvagens...39
3.3	Concentrações de mercúrio total nas amostras de solo42
3.3.1	Valores de mercúrio total obtidos para solos crivados e solos não crivados .42
3.3.2	Concentração de mercúrio total em cogumelos selvagens VS concentração do solo subjacente correspondente44
3.3.3	Valores obtidos na medição do pH dos solos45
3.4	Concentrações de mercúrio total nas amostras de vegetação46
3.5	Análise Estatística..... 48
3.5.1	LOCAL A: Alcaide49
3.5.2	LOCAL B: Terlamonte55
3.5.3	LOCAL C: Capinha59
3.5.4	LOCAL D: Moreirinha63
3.5.5	ANOVA: <i>Lactarius deliciosus</i>67
3.5.6	ANOVA: <i>Russula vesca</i> 71
3.5.7	ANOVA: <i>Tricholoma equestre</i>75
3.5.8	ANOVA: <i>Tricholoma portentosum</i>79
3.5.9	pH do solo 81
Capítulo 4	Discussão83
4.1.1	Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos comerciais.83
4.1.2	Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos selvagens.. 84

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

4.1.3	Valores de mercúrio total obtidos para solos crivados e não crivados	86
4.1.4	Concentração de mercúrio total em cogumelos selvagens VS concentração do solo subjacente correspondente.....	88
4.1.5	Valores obtidos na medição do pH dos solos	88
4.1.6	Concentrações de mercúrio total nas amostras de vegetação.....	88
4.1.7	Concentração de mercúrio total em cogumelos selvagens VS concentração da vegetação correspondente	89
4.2	Visão global dos resultados	90
4.2.1	Cogumelos	93
4.2.2	Solo	98
4.2.3	Vegetação	99
Capítulo 5	Conclusão.....	101
Bibliografia		105
Apêndices		115
Apêndice A	Mapas	115
A.1	Mapa da zona de amostragem em Alcaide	115
A.2	Mapa da zona de amostragem em Terlamonte	116
A.3	Mapa da zona de amostragem em Capinha.....	117
A.4	Mapa da zona de amostragem em Moreirinha.....	118
A.5	Mapa da Cova da Beira com as marcações dos locais de recolha	119
Apêndice B	Fotografias de amostras	121
B.1	<i>Macrolepiota procera</i>	121

B.2	<i>Tricholoma colossus</i>	121
B.3	<i>Lycoperdon perlatum</i>	122
B.4	<i>Hydnum repandum</i>	122
B.5	Espécie não identificada.....	123
B.6	<i>Tricholoma portentosum</i>	123
B.7	<i>Tricholoma equestre</i>	124
B.8	<i>Lactarius deliciosus</i>	124
B.9	<i>Russula vesca</i>	125
Apêndice C	Tabelas.....	127
C.1	Concentrações de mercúrio total, quantificado no material de referência (CRMs) Mussel Tissue.....	127
C.2	Concentrações de mercúrio total, quantificado no material de referência (CRMs) SQCO01-30.....	128

Lista de Figuras

Figura 1.1: Árvore filogenética universal, destacando a classificação filogenética do Reino <i>Fungi</i> . A letra maiúscula e sublinhado a laranja estão os filos pertencentes ao reino <i>Fungi</i> . Adaptado de ^{5,6}	1
Figura 1.2: Diagrama dos diferentes constituintes que compõem um cogumelo. Adaptado de ya-webdesign.com.	4
Figura 1.3: Esquema representativo do ciclo de vida de um Ascomicete. Adaptado de ¹	5
Figura 1.4: Esquema representativo do ciclo de vida de um Basidiomicete. Adaptado de ¹ . ..	6
Figura 1.5: Destino e transporte das diferentes espécies de mercúrio no ar, água e sedimentos. Hg⁰ : Mercúrio elementar; Hg_(p) : Mercúrio particulado; Hg²⁺ : Mercúrio inorgânico; MeHg : Metilmercúrio; HgS : Sulfeto de mercúrio. Adaptado de ⁵²	13
Figura 1.6: Esquema representativo do ciclo global do mercúrio. Adaptado de ⁵⁴	16
Figura 1.7: Vias de entrada de mercúrio no meio ambiente. Adaptado de ⁶⁷	19
Figura 1.8: Principais fontes de exposição a mercúrio para humanos. Adaptado de ⁶⁷	20
Figura 1.9: Opções de gestão de mercúrio. Adaptado de ⁶⁷	22
Figura 1.10: Representação da mobilização do mercúrio em situações de queimada. Adaptado de ⁷⁸	26
Figura 2.1: Kit utilizado para a amostragem e transporte para o laboratório. (a) Kit completo para recolha de uma amostra. (b) Componentes individualizados do kit de recolha para uma amostra (a partir de cima e no sentido dos ponteiros do relógio: Cogumelo, etiqueta, solo e vegetação). (c) Kit e colher no local de recolha.	31
Figura 2.2: Material utilizado na preparação das amostras de cogumelos (Faca de plástico e superfície de corte.).....	32
Figura 2.3: Crivo (2 mm) utilizado na preparação das amostras de solo.....	33

Figura 2.4: Analisador direto de mercúrio NIC-MA-3000.	35
Figura 3.1: Concentrações de mercúrio total nas diferentes amostras de cogumelos comercialmente disponíveis.....	39
Figura 3.2: Concentrações de mercúrio total médias, por espécie de cogumelos selvagens.	40
Figura 3.3: Concentrações de mercúrio total médias das amostras de cogumelos selvagens, por local de amostragem (considerando as espécies recolhidas na amostragem inicial). ..	40
Figura 3.4: Concentrações de mercúrio total médias das amostras de cogumelos selvagens, por local de amostragem (não considerando as espécies recolhidas na campanha inicial)..	41
Figura 3.5: Concentrações de mercúrio total obtidas, por espécie de cogumelo, por local de amostragem.....	42
Figura 3.6: Concentrações de mercúrio total obtidas para solos crivados e solos não crivados.....	42
Figura 3.7: Concentrações médias de mercúrio total obtidas para solos crivados e não crivados em cada local de amostragem.	43
Figura 3.8: Concentrações médias de mercúrio total obtidas para amostras de solo crivadas e não crivadas, em cada local de amostragem (não considerando as amostras de solo correspondentes às espécies de cogumelos da primeira campanha).	43
Figura 3.9: Concentrações médias de mercúrio total obtidas para amostras de vegetação lavadas e não lavadas, em cada local de amostragem.....	46
Figura 3.10: Concentrações médias de mercúrio total obtidas para amostras de vegetação lavadas e não lavadas, em cada local de amostragem (não considerando as amostras de vegetação correspondentes às espécies de cogumelos que posteriormente foram desconsideradas).....	47

Lista de Tabelas

Tabela 1.1: Fontes e vias de exposição a mercúrio, efeitos causados e vias de eliminação. Adaptado de ⁵²	21
Tabela 2.1: Locais de amostragem.	29
Tabela 2.2: Espécies de cogumelos comerciais estudadas.	29
Tabela 2.3: Nomes científicos das espécies de cogumelos selvagens selecionadas e correspondentes nomes comuns associados.	30
Tabela 3.1: Quantidade de amostra de cogumelos utilizada na medição e coeficiente de variação obtido após análise em triplicado.	38
Tabela 3.2: Quantidade de amostra de vegetação utilizada na medição e coeficiente de variação obtido após análise em triplicado.	38
Tabela 3.3: Concentrações de mercúrio total (ng/g) em cogumelos e no seu solo subjacente correspondente e respetivos fatores de bioconcentração (BCF).	44
Tabela 3.4: Valores médios de pH correspondentes a cada amostra de solo.	45
Tabela 3.5: Concentrações de mercúrio total (ng/g) em cogumelos, no seu solo subjacente e na sua vegetação correspondente.	47
Tabela 3.6: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.	49
Tabela 3.7: Comparações por fator relativo à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.	50
Tabela 3.8: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.	50
Tabela 3.9: Comparações por fator relativo à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.	51
Tabela 3.10: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu	

lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas no Alcaide.	52
Tabela 3.11: Comparações por fator relativo à vegetação (que sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas no Alcaide.	52
Tabela 3.12: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas no Alcaide.	53
Tabela 3.13: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas no Alcaide.	53
Tabela 3.14: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas no Alcaide.	54
Tabela 3.15: Comparações por fator relativo ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas no Alcaide.	54
Tabela 3.16: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.	55
Tabela 3.17: Comparações por fator relativo à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.	56
Tabela 3.18: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.	56
Tabela 3.19: Comparações por fator relativo à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.	57
Tabela 3.20: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Terlamonte.	57
Tabela 3.21: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Terlamonte.	57
Tabela 3.22: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas em Terlamonte.	58
Tabela 3.23: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Terlamonte.	58

Tabela 3.24: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.....	59
Tabela 3.25: Comparações por fator relativo à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.....	59
Tabela 3.26: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.	60
Tabela 3.27: Comparações por fator relativo à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.....	60
Tabela 3.28: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Capinha.....	61
Tabela 3.29: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Capinha.....	61
Tabela 3.30: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas em Capinha.....	62
Tabela 3.31: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Capinha.	62
Tabela 3.32: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.....	63
Tabela 3.33: Comparações por fator relativo à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.....	63
Tabela 3.34: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.	64
Tabela 3.35: Comparações por fator relativo à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.....	64
Tabela 3.36: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Moreirinha..	65
Tabela 3.37: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu	

lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Moreirinha. 65	
Tabela 3.38: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas em Moreirinha.66	66
Tabela 3.39: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Moreirinha.66	66
Tabela 3.40: Comparações por fator relativo ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas em Moreirinha.67	67
Tabela 3.41: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, das amostras recolhidas em todos os locais, da espécie <i>Lactarius deliciosus</i>67	67
Tabela 3.42: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, das amostras recolhidas em todos os locais, da espécie <i>Lactarius deliciosus</i>68	68
Tabela 3.43: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Lactarius deliciosus</i>68	68
Tabela 3.44: Comparações por fator relativo à vegetação (que sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de <i>Lactarius deliciosus</i> , recolhidas nos diferentes locais.69	69
Tabela 3.45: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Lactarius deliciosus</i>69	69
Tabela 3.46: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de <i>Lactarius deliciosus</i> , recolhidas nos diferentes locais.70	70
Tabela 3.47: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Lactarius deliciosus</i>70	70
Tabela 3.48: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, de todas as amostras recolhidas, da espécie <i>Russula vesca</i>71	71

Tabela 3.49: Comparações por fator relativo à zona do chapéu, correspondente a todas as amostras recolhidas, da espécie <i>Russula vesca</i> nos diferentes locais.....	71
Tabela 3.50: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé, de todas as amostras recolhidas, da espécie <i>Russula vesca</i>	72
Tabela 3.51: Comparações por fator relativo à zona do pé, correspondente a todas as amostras recolhidas, da espécie <i>Russula vesca</i> nos diferentes locais.....	72
Tabela 3.52: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Russula vesca</i>	73
Tabela 3.53: Comparações por fator relativo à vegetação (que sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de <i>Russula vesca</i> , recolhidas nos diferentes locais...	73
Tabela 3.54: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Russula vesca</i>	74
Tabela 3.55: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de <i>Russula vesca</i> , recolhidas nos diferentes locais...	74
Tabela 3.56: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Russula vesca</i>	75
Tabela 3.57: Comparações por fator relativo ao solo, correspondentes a cogumelos da espécie <i>Russula vesca</i> , nos diferentes locais.....	75
Tabela 3.58: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, de todas as amostras recolhidas, da espécie <i>Tricholoma equestre</i>	76
Tabela 3.59: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé, de todas as amostras recolhidas, da espécie <i>Tricholoma equestre</i>	76
Tabela 3.60: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Tricholoma equestre</i>	77
Tabela 3.61: Comparações por fator relativo à vegetação (que sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de <i>Tricholoma equestre</i> , recolhidas nos diferentes	

locais.....	77
Tabela 3.62: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Tricholoma equestre</i>	78
Tabela 3.63: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de <i>Tricholoma equestre</i> , recolhidas nos diferentes locais.....	78
Tabela 3.64: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie <i>Tricholoma equestre</i>	78
Tabela 3.65: Comparações por fator relativo ao solo, correspondentes a cogumelos da espécie <i>Tricholoma equestre</i> , nos diferentes locais.	79
Tabela 3.66: Dados estatísticos relativos ao pH das amostras de solo recolhidas nos diferentes locais.....	81
Tabela 3.67: Análise estatística dos dados relativos ao pH das amostras de solo recolhidas.	81
Tabela 4.1: Quantidade (em kg em peso húmido) de cada espécie de cogumelos comercialmente disponíveis que um adulto de 70 kg necessitaria de consumir para atingir o consumo semanal tolerável (TWI= 4 µg/kg).	83
Tabela 4.2: Quantidade (em kg em peso húmido) de cada espécie de cogumelos selvagens amostrados que um adulto de 70 kg necessitaria de consumir para atingir o consumo semanal tolerável (TWI= 4 µg/kg).	84
Tabela 4.3: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes à espécie <i>Tricholoma equestre</i>	93
Tabela 4.4: Concentrações médias de mercúrio por espécie, obtidas neste estudo.	94
Tabela 4.5: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes à espécie <i>Tricholoma portentosum</i>	95
Tabela 4.6: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes à espécie <i>Lactarius</i>	

deliciosus.96

Tabela 4.7: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes à espécie *Russula vesca*.97

Tabela 4.8: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes a solos. 98

Tabela 4.9: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes a vegetação.99

Lista de Acrónimos

ASGM	Mineração artesanal de ouro em pequena escala – “ <i>Artisanal Small Scale old Mining</i> ”
BCF	Fator de bioconcentração – “Bioconcentration factor”
CRMs	Materiais de Referência Certificados - “Certified reference materials”
CV	Coeficiente de Variação
QA/QC	Garantia de Qualidade/Controlo de Qualidade “ <i>Quality Assurance/Quality Control</i> ”
TWI	Ingestão semanal tolerável – “ <i>Tolerable Weekly Intake</i> ”

Capítulo 1 Introdução

1.1 Cogumelos - Descrição introdutória

O mundo vivo está dividido em três domínios: *Bacteria*, *Archaea*, *Eucarya* e cinco reinos: *Monera*, *Protista*, *Fungi*, *Animalia* e *Plantae*. Os fungos, pertencem ao domínio *Eukarya* que contém o reino *Fungi*, também conhecido como *Eumycota*¹.

Os fungos são organismos eucarióticos ubíquos, uma vez que estão presentes em virtualmente todos os ecossistemas terrestres. São organismos produtores de esporos, não possuem clorofila e a sua reprodução pode ser assexuada ou sexuada^{2,3}. São organismos quimiorganoheterótrofos, isto é a sua fonte de carbono são substâncias orgânicas, que geralmente também atuam como fontes de energia (tornando-os assim heterotróficos) e electrões³.

O reino *Fungi* divide-se em sete Filos: ***Ascomycota***; ***Basidiomycota***; ***Blastocladiomycota***; ***Chytridiomycota***; ***Glomeromycota***; ***Microsporidia***; ***Neocallimastigomycota***. Existiu ainda o Filo *Zygomycota*, que foi retirado das listas taxonómicas dada a sua natureza polifilética, isto é, agrupava organismos que, apesar de apresentarem características semelhantes, não partilhavam um ancestral comum⁴. Os Filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* são os de interesse para esta dissertação, uma vez que a eles pertencem os fungos que geram corpos de frutificação, os cogumelos.

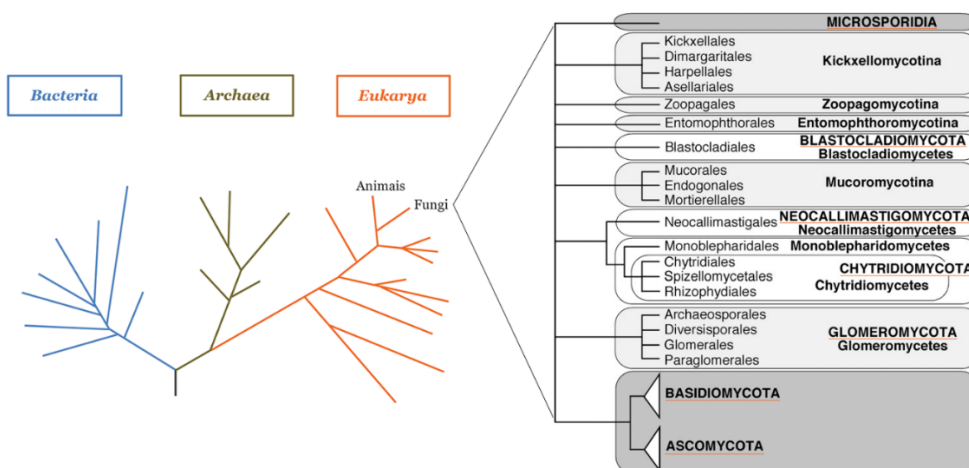


Figura 1.1: Árvore filogenética universal, destacando a classificação filogenética do Reino *Fungi*. A letra maiúscula e sublinhado a laranja estão os filamentos pertencentes ao reino *Fungi*. Adaptado de ^{5,6}.

Ascomycota: (denominados ascomicetes) patogêneos de plantas e de animais, alguns cogumelos comestíveis, leveduras e bolores. O ciclo de vida inclui uma etapa de reprodução assexuada bem como uma etapa de reprodução sexuada^{2,3}.

Basidiomycota: (denominados basiomicetes) fungos filamentosos, algumas leveduras, cogumelos e patógenos de plantas. O ciclo de vida inclui unicamente a reprodução sexuada. Inclui a maioria dos cogumelos existentes, sendo que a maioria são saprófitas³.

Os fungos saprofitos distinguem-se pela sua capacidade de decomposição de matéria orgânica, transformando compostos orgânicos complexos em compostos mais simples, enquanto simultaneamente disponibilizam elementos inorgânicos anteriormente integrados na matéria decomposta, assegurando desta forma que elementos essenciais (carbono, azoto, fósforo) estejam disponíveis para outros organismos, particularmente as plantas³.

Aquilo que normalmente é designado por “cogumelos” é apenas a parte reprodutora (e visível à superfície do solo) dos fungos, podendo esta ser comestível ou não comestível (porque apresentam toxicidade que, em casos extremos, pode apresentar letalidade)^{1,7,8}.

Os cogumelos selvagens são muito apreciados e procurados em várias regiões do mundo e fazem parte da alimentação humana desde há milhares de anos, tendo a procura e consumo vindo a aumentar, sobretudo pelo retomar e renascer de tradições populares⁹⁻¹¹.

Esta procura advém também em boa parte do seu valor nutricional, constituindo fontes alternativas de nutrientes essenciais (e.g. proteínas, hidratos de carbono, fibras, vitaminas e minerais). O reconhecimento da dieta como um dos fatores com maior relevância no equilíbrio saúde/doença acresce a esta questão, uma vez que os cogumelos são praticamente desprovidos de gorduras consideradas indesejáveis (como o colesterol) e por possuírem um teor calórico baixo. De destacar também as suas propriedades antifúngicas, antibacterianas, antioxidantes e antivirais que ajudam a reduzir o risco de certas doenças¹²⁻¹⁴. Foi também reportado que certas espécies de cogumelos, sobretudo quando comparadas com vegetais, são uma excelente fonte de vários elementos essenciais tais como potássio (K), fósforo (P), zinco (Zn) e cobre (Cu), bem como algumas vitaminas e minerais¹⁵.

Os cogumelos são importantes constituintes da biomassa florestal, uma vez que o seu crescimento é feito por meio da síntese de uma biomolécula muito comum nesta parte da biosfera, a celulose. São considerados como macrofungos por possuírem o corpo de frutificação visível a olho nu e, por consequência, possibilitando a recolha à mão. A restante

parte do cogumelo - o micélio - permanece, virtualmente invisível, permanece no subsolo¹⁶.

1.1.1 Estrutura e Morfologia

Os corpos de frutificação resultantes do crescimento dos cogumelos, apesar de apresentarem características morfológicas equivalentes, apresentam amplas variações destas características consoante a espécie considerada. É com base nesta variação que se estabeleceu a identificação das diferentes espécies de cogumelos existentes.

Seguidamente são indicadas algumas características morfológicas (ou outras) e variações com valor taxonómico¹⁷ (ver Figura 1.2).

Chapéu/”pileus”: Varia em estrutura, cor e dimensão entre estágios jovem e adulto, a cutícula (camada que reveste o chapéu) pode também variar em termos de textura e aderência, a cor pode também sofrer alterações com o crescimento¹⁸.

Himénio: Localizado na parte inferior do chapéu, onde ocorre a produção de esporos¹⁸.

Pé: As suas características como dimensão, diâmetro, forma, aspeto e cor, variam consoante as diferentes espécies de cogumelos¹⁸.

Anel e Volva: Nos casos de espécies que os possuam, a ocorrência destas estruturas depende da natureza da morfogénese do desenvolvimento do corpo de frutificação¹⁸.

Micélio: Crescimento de filamentos, as hifas, frequentemente presente na base dos cogumelos, onde ocorre a absorção de elementos químicos¹⁸.

Esporada: Diferentes cores dos esporos, consoante as diferentes espécies de cogumelos, visível quando estes são depositados sobre uma superfície¹⁸.

Látex: Também designado por ”leite”, é um líquido espesso exsudado por alguns cogumelos (“*milky mushrooms*”) como consequência de autodigestão (quebra de algumas estruturas)¹⁸.

Ecologia: Informação relativa à época do ano em que o corpo de frutificação surge, às condições climáticas ideais ao seu crescimento, e ao meio que possui as melhores condições de desenvolvimento, crescimento e obtenção dos nutrientes¹⁸.

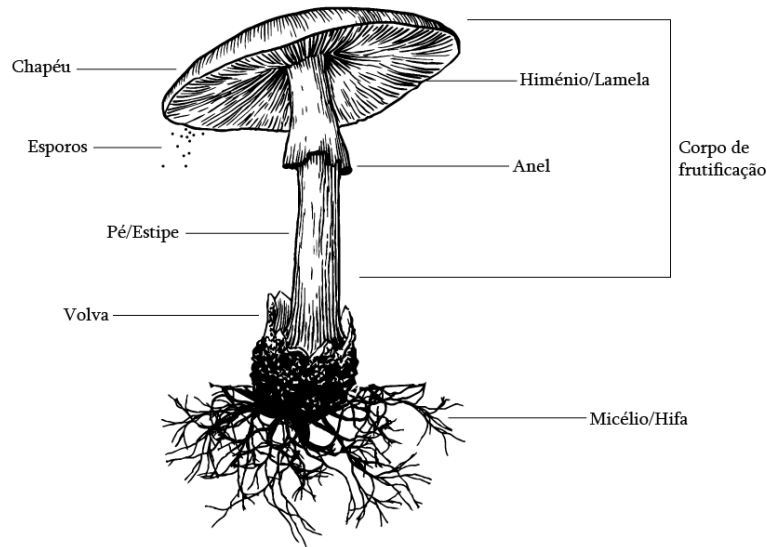


Figura 1.2: Diagrama dos diferentes constituintes que compõem um cogumelo. Adaptado de ya-webdesign.com.

1.1.2 Reprodução

A reprodução de fungos que geram cogumelos ocorre através de esporos (que se encontram no himénio), de forma assexuada (em que um esporo dá origem a um indivíduo completo, haploide), ou de forma sexuada, envolvendo a fusão de duas células ou de dois órgãos compatíveis sexualmente dando origem a um zigoto diplóide^{1,7,8}.

Como já mencionado anteriormente, o Filo *Ascomycota* tem um ciclo de vida diferente do Filo *Basidiomycota*. Os ascomicetes têm uma etapa de reprodução assexuada e também uma etapa de reprodução sexuada (Figura 1.3). Por outro lado, os basidiomicetes apenas apresentam reprodução sexuada (Figura 1.4)³.

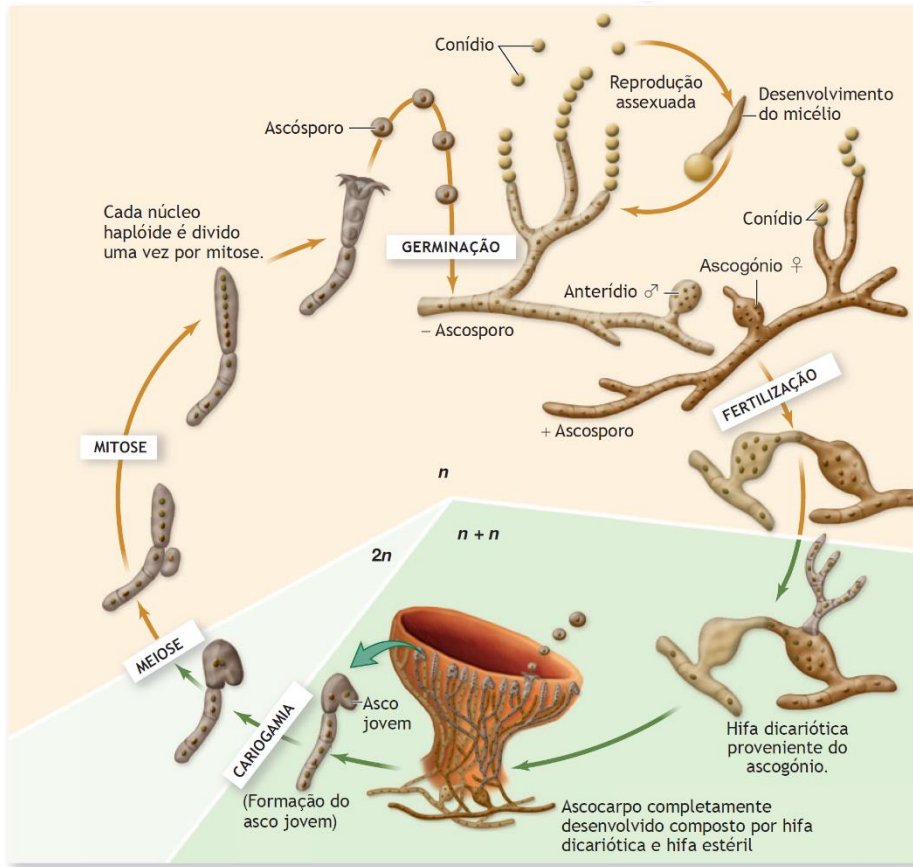


Figura 1.3: Esquema representativo do ciclo de vida de um Ascomicete. Adaptado de ¹.

Analisando a Figura 1.3, relativa ao ciclo de vida *Ascomycota*, a etapa de reprodução assexuada consiste na produção de esporos assexuais (conídeos) externamente, ou seja, uma célula divide-se em duas células idênticas à célula mãe³.

A etapa de reprodução sexuada do ciclo de vida é por sua vez mais complexa. Esta começa com a formação de duas estruturas (Ascogônio e Anterídio) que originam de duas estruturas reprodutivas opostas (+Ascosporo e -Ascosporo), respetivamente. Posto isto, dá-se uma troca de citoplasma, denominada de plasmogamia, onde o núcleo do anterídio migra para o ascogônio. De seguida, dá-se a replicação dos pares de núcleos. A esta altura ocorre a fertilização do ascogônio, donde resultam hifas denominadas de hifas ascógenas que se desenvolvem com auxílio de hifas estéreis formando o ascocarpo. É neste ponto do ciclo que ocorre a fusão nuclear, fenómeno denominado de cariogamia, onde o zigoto (diploide) resultante sofre o processo de meiose, resultando em quatro núcleos haploides. Estes vão sofrer mitose, resultando oito novos núcleos em cada ascósporo em desenvolvimento. Cada um destes núcleos dará origem a um ascósporo. A formação de um ascocarpo resulta da aglomeração de milhares de ascos. Quando o ascocarpo atinge o estado de maturação liberta

ascósporos que irão germinar e aqui o ciclo de vida começa novamente ³.

Analisando a Figura 1.4, relativa ao ciclo de vida *Basidiomycota*, verifica-se que inicialmente existe um basidiósporo que se desenvolve e dá origem a um micélio monocariótico, ou seja, só possui um núcleo em cada célula. O micélio cresce e espalha-se pelo solo até encontrar outro micélio compatível, ou seja, ambos têm de ter estrutura reprodutiva oposta (+Basidiosporo e -Basidiosporo). Estes fundem e geram um micélio dicariótico. Este micélio sofre divisão e dá origem a células, cada uma com dois núcleos correspondentes a cada uma das estruturas reprodutivas. Este micélio irá produzir basidiocarpos. Forma-se então uma massa de hifas que resulta num “botão” que irá desenvolver-se e alongar-se, dando origem ao chapéu (que contém basídios), característico dos cogumelos. Ambos os núcleos em cada basídio fundem e dão origem a um núcleo diploide zigoto. Posteriormente este sofre meiose, dando origem a quatro núcleos haploides, que vão dar origem a basidiósporos e são libertados quando atingem o estado de maturação ³.

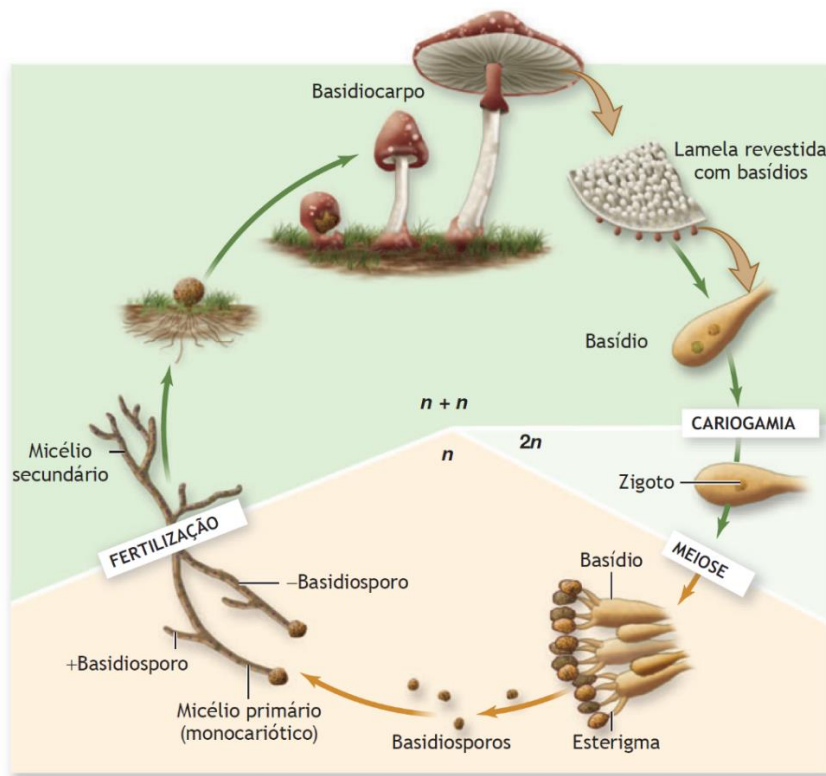


Figura 1.4: Esquema representativo do ciclo de vida de um Basidiomicete. Adaptado de ¹.

1.1.3 Nutrição

Sendo os cogumelos organismos heterotróficos, necessitam obter energia através da oxidação e absorção de compostos orgânicos, para isto existem métodos de obtenção destes compostos, que variam consoante o fungo em questão^{3,7}.

Com base na sua estratégia de nutrição, podemos classificar os fungos em três categorias^{1,7}:

Saprófitas: São a grande maioria dos fungos, obtêm energia de matéria orgânica em decomposição, através da libertação para o exterior de enzimas com a capacidade de degradação de compostos orgânicos procedendo seguidamente à sua absorção, denominando-se neste caso de osmotrofia.

Parasitas: Constituem uma minoria, obtêm energia e desenvolvem-se à custa de outro organismo, ao qual esta associação causa danos.

Micorrizas/Simbiontes: Obtêm energia através de uma associação mutualista que estabelecem com outro organismo, maioritariamente plantas. Ao contrário dos fungos parasitas, nesta associação, ambos os organismos beneficiam. Os fungos vão utilizar compostos derivados da atividade de fotossíntese do hospedeiro, em troca, o hospedeiro recebe auxílio para a sobrevivência em diferentes meios em que se possam encontrar. As Micorrizas podem ser classificadas em duas categorias:

1. **Endomicorriza:** Fungos entram nas células das raízes.
2. **Ectomicorriza:** Fungos permanecem no meio extracelular, formando hifas (rede de filamentos) à volta das raízes.

1.1.4 Utilização

A alimentação é a principal utilização dos cogumelos selvagens desde há muitos anos, as primeiras civilizações do Egito e Roma, consideravam uma iguaria especial, conhecida como a iguaria dos deuses^{14,19}.

Como descrito mais à frente na secção 1.1.7, os cogumelos podem ser utilizados como potenciais bioindicadores de poluição ou contaminação por metais (e xenobióticos).

A faloidina é uma toxina produzida por uma espécie mortal de cogumelos (*Amanita*

phalloides), sendo muito utilizada no mundo da microscopia, que quando estabilizada e marcada com fluoróforos, permite visualizar F-actina^{20,21}.

Na China incentivam ao consumo de cogumelos para promover longevidade e saúde. Um estudo menciona que glicanos fúngicos isolados a partir de cogumelos, têm efeitos promotores saudáveis desejados como por exemplo antitumorais, antienvhecimento, antioxidantes²².

Um outro estudo, menciona que no Japão, usam-se “Reishi”, cogumelos, com o propósito de ganhar energia, imunidade, tratamento para doenças algumas doenças inflamatórias como artrite, asma, bronquite, hepatite e nefrite, e novamente, neste estudo também mencionam a utilização de cogumelos para o tratamento de vários tipos de cancro²³.

Relativamente a um caso específico de cancro, o cancro da mama, foi relatado que o consumo de chá verde e cogumelos diminui o risco de desenvolvimento de cancro da mama, também são referidas as várias propriedades que os cogumelos têm, como: antifúngicas, antibacterianas, antivirais, anticancerígenas e atenuante de tumores. É também relatado que o consumo de cogumelos como parte de uma dieta saudável, tem benefícios durante o tratamento de cancro^{24,25}.

Num estudo relativo a cancro da próstata ²⁶, também é mencionado que incluir cogumelos na alimentação, resultará em benefícios para a saúde. Também mencionam as propriedades antitumorais dos cogumelos.

Nestes estudos quando falam em cogumelos com propriedades medicinais, referem-se maioritariamente a cogumelos shiitake (*Lentinus edodes*), maitake (*Grifola frondosa*), reishi (*Ganoderma lucidum*) e “yun zhi” (*Trametes versicolor*)^{22–26}.

1.1.5 Identificação

Para identificar um cogumelo que potencialmente não se conhece é necessário fazer uma análise de algumas características do cogumelo, mencionadas na secção 1.1.1

Para uma identificação ser bem-sucedida, é necessário observar e anotar alguns parâmetros no local onde se encontra o cogumelo, tais como as características físicas do cogumelo, como por exemplo, a sua cor e outras já mencionadas em 1.1.1, bem como a recolha de esporos e

do micélio para analisar as suas características e morfologia. Em alguns casos, pode ser necessário recorrer a uma análise de outros parâmetros, tais como o seu ciclo de vida, periodicidade da frutificação, enzimas secretadas, propriedade comestível/não comestível. Analisando todos estes parâmetros, deverá ser possível atribuir o nome ao cogumelo em questão, identificando a sua classe, ordem, família e género. Em algumas localidades existem nomes vulgares que foram atribuídos a certas espécies de cogumelos, a identificação de um cogumelo por este nome vulgar, tem desvantagens, já que para a mesma espécie de cogumelo, este nome vulgar pode variar de localidade para localidade¹⁸.

1.1.6 Cogumelos e Mercúrio

No que diz respeito a cogumelos, sabe-se que estes têm a particularidade de serem bioacumuladores, ou seja, têm potencial de acumulação, nomeadamente de metais como o mercúrio^{11,15,27}. A bioacumulação é um “Aumento progressivo na quantidade de uma substância num organismo, ou parte de um organismo, que ocorre porque a taxa de ingestão de todas as fontes contribuintes e por todas as rotas possíveis, excede a capacidade do organismo de eliminar a substância de seu corpo²⁸. No contexto da presente dissertação, a substância considerada é um metal, o mercúrio, e o organismo em questão, os cogumelos selvagens. A bioacumulação depende de vários fatores, nomeadamente o “uptake”, isto é, a eficiência da internalização do contaminante; excreção e a biodisponibilidade do contaminante, a fração da quantidade total da substância na matriz de exposição que se encontra disponível para “uptake” por parte do organismo (geralmente denominada como fração biodisponível)^{29,30}.

A capacidade de Bioacumulação de mercúrio varia entre espécies (levando a uma variação das concentrações detetáveis) variando também, dentro da mesma espécie, nas diferentes partes que constituem os cogumelos, sendo por norma as concentrações superiores na zona do chapéu do cogumelo comparativamente com o pé^{27,31}.

Para além da capacidade diferencial de bioacumulação entre espécies, a idade e o tamanho do corpo de frutificação, são também fatores que influenciam a capacidade de acumulação dos metais. Outros fatores que têm muita influência na concentração de mercúrio nos cogumelos são a sua morfologia e as propriedades físico-químicas do solo, tal como a composição e pH³².

O fator de bioconcentração (BCF) descreve a disponibilidade de uma substância química

para ser captada por organismos quando um dos seus compostos está presente no ambiente. Quanto maior for o valor do BCF, significa que, uma maior quantidade de contaminante é assimilada³³. O BCF é também um parâmetro ecotoxicológico necessário para a regulação química³⁴. É uma ferramenta que nos permite averiguar se um contaminante é assimilado em muita ou pouca quantidade e se estamos perante uma espécie bioacumuladora, que, neste caso, acumula mercúrio, ou uma espécie bioexcludora (que excluirá mercúrio). O fator de bioconcentração é calculado através do quociente entre dois compartimentos em estudo como por exemplo, entre o cogumelo e o solo subjacente, de acordo com a seguinte expressão matemática^{9,11,27,31,33,35-38}:

$$BFC = \frac{[Hg]_{num\ organismo\ (cogumelos)}}{[Hg]_{meio\ onde\ está\ inserido\ (solo\ subjacente)}}$$

Após o cálculo do BCF se:

- BCF>1: Há acumulação de Hg nos cogumelos. Espécie acumuladora.
- BCF<1: Cogumelos excluem Hg. Espécie excludora.

1.1.7 Cogumelos como (Potenciais) Bioindicadores

Existem vários estudos que demonstram a capacidade de acumulação de metais nos corpos de frutificação de cogumelos de várias espécies, como mercúrio, cádmio, chumbo e cobre. Esta particularidade de conseguirem acumular metais, prova que os cogumelos são candidatos a serem um potencial bioindicador de contaminação de mercúrio^{11,27,35,39,40}.

Estes bioindicadores permitem fazer a distinção de zonas poluídas e zonas não poluídas, já que em zonas poluídas as concentrações vão ser muito superiores comparativamente a zonas não poluídas⁴⁰.

Poluição e contaminação são dois fenómenos distintos.

A **poluição** ocorre quando há a introdução de um poluente. Um poluente é qualquer material indesejável, sólido, líquido ou gasoso, que ocorre, como resultado de atividades antropogénicas, em meio ambiente sólido, líquido ou gasoso, que causa efeitos adversos no ambiente, no biota ou na saúde humana²⁸.

Por outro lado, a **contaminação** ocorre quando há a presença de um contaminante. Um

contaminante pode ser uma impureza presente numa substância, ou, qualquer matéria sólida, líquida ou gasosa indesejável que ocorra, como resultado das atividades antropogénicas, em meio ambiental sólido, líquido ou gasoso, sem a observação de efeitos adversos²⁸.

1.1.8 Cogumelos e Biorremediação

Os metais são poluentes ambientais, já que causam/podem causar efeitos nocivos nos humanos, vida selvagem e plantas, ou seja, têm o potencial de causar estes efeitos⁴¹⁻⁴³.

Uma boa abordagem para resolver este problema é a microrremediação, a utilização de macrofungos (cogumelos) como agentes biorremediadores. A biorremediação é uma técnica utilizada para remover, transformar, destoxificar contaminantes do solo e/ou outros meios⁴⁴. Esta técnica, é realizada com base em microrganismos, plantas, e neste caso particular, com base em fungos. Esta abordagem tem vantagens como não causar poluição secundária, é uma abordagem económica e ecológica⁴⁴⁻⁴⁶. A utilização de fungos para descontaminação de solos tem também a vantagem de não ser necessário transportar o solo para outro local para se proceder à descontaminação, esta dá-se no próprio local, dispensando mão de obra e outros custos associados ao transporte e deslocação do solo para outro local⁴⁴.

Como descrito em 1.1.7, sabe-se que os cogumelos são possíveis bioindicadores de poluição de metais, por exemplo, devido à sua capacidade de acumulação de metais¹⁷. É esta característica que torna a utilização destes fungos, os cogumelos, uma boa abordagem para a biorremediação e descontaminação de solos contaminados. Tudo isto indica que a utilização de cogumelos para descontaminar o solo é uma abordagem alternativa e mais económica em comparação com a incineração, um processo mais dispendioso a nível económico e pouco ecológico^{9,41,42}.

1.2 Mercúrio - Descrição geral

O mercúrio é um elemento líquido à temperatura ambiente, inodoro e ubíquo, que ocorre naturalmente no meio ambiente. Por meio da ação humana, este metal tóxico transformou-se num contaminante ambiental global, com o potencial de atuar como poluente ao produzir

efeitos adversos na quase totalidade dos ecossistemas terrestres, afetando de igual forma humanos e a biota. A sua permanência na atmosfera após volatilização (a partir da forma elementar) pode ser contabilizada em períodos de meses a anos, tendo, por consequência, a propensão para ser transportado e redistribuído para zonas do globo longe das fontes de emissão⁴⁷⁻⁴⁹.

O mercúrio é um metal, logo, não é biodegradável, ou seja, uma substância persistente. Pode ser encontrado em diferentes formas químicas, na água, no solo, na biota, bem como no ar, como consequência das emissões resultantes de atividades antropogênicas (atividade humana mencionadas na seção 1.4) ou de fenômenos naturais (e.g., vulcanismo). Como resultado destas emissões, o mercúrio (nas suas diferentes formas químicas) é transportado para a atmosfera e conseqüentemente depositado na água e posteriormente em sedimentos, como está descrito na Figura 1.5⁵⁰⁻⁵².

A Figura 1.5 mostra o que sucede após uma emissão de mercúrio. Este é transportado para atmosfera e conseqüentemente vai depositar-se no meio aquático e nos sedimentos que se encontram abaixo. O mercúrio na forma de Hg^{2+} é internalizado por bactérias presentes nos sedimentos sendo convertido em metilmercúrio (MeHg), que vai sofrer biomagnificação na cadeia alimentar⁵².

O destino de contaminantes inorgânicos tais como o mercúrio, é controlado por alguns fatores³³:

1. Localização: Quando a concentração de uma substância contaminante ultrapassa o valor limite num determinado compartimento (organelos celulares; células; todo o planeta), torna-se tóxica.
2. Persistência: Os metais não são biodegradáveis, logo, têm longos tempos de residência no solo e em sedimentos até, eventualmente, serem mobilizados, podendo ocorrer, entretanto, a formação de metilmercúrio por meio da ação microbiana.
3. Fatores de bioconcentração e bioacumulação: O fator de bioconcentração, é um rácio que indica em que quantidade um contaminante é assimilado relativamente ao ambiente circundante. Um elemento que tenha uma capacidade de assimilação (“uptake”) elevada e uma taxa de excreção baixa, vai estar presente no organismo em concentrações mais elevadas do que no meio a que está exposto. Quanto à bioacumulação, a extensão da permanência a longo prazo de substâncias inorgânicas num determinado organismo (ou num dos seus compartimentos),

depende essencialmente da sua taxa de excreção.

4. Biodisponibilidade: Representa o potencial para internalização (“uptake”) de uma determinada substância, por norma um a fração do total dessa substância presente na matriz de exposição. Um valor alto do fator de bioconcentração pode ser explicado, quando uma determinada substância é mais biodisponível em comparação a outra que apresente um fator de bioconcentração baixo. Um exemplo, é o metilmercúrio, este é assimilado muito mais rapidamente, do que mercúrio na forma não metilada. A biodisponibilidade pode ser afetada por vários fatores: flutuações de temperatura; interações com outros poluentes; tipo de solo e sedimento; precipitação; pH e salinidade. Uma diminuição do pH, causa alterações na solubilidade dos metais, podendo estes tornar-se mais solúveis, ou seja, mais biodisponíveis.

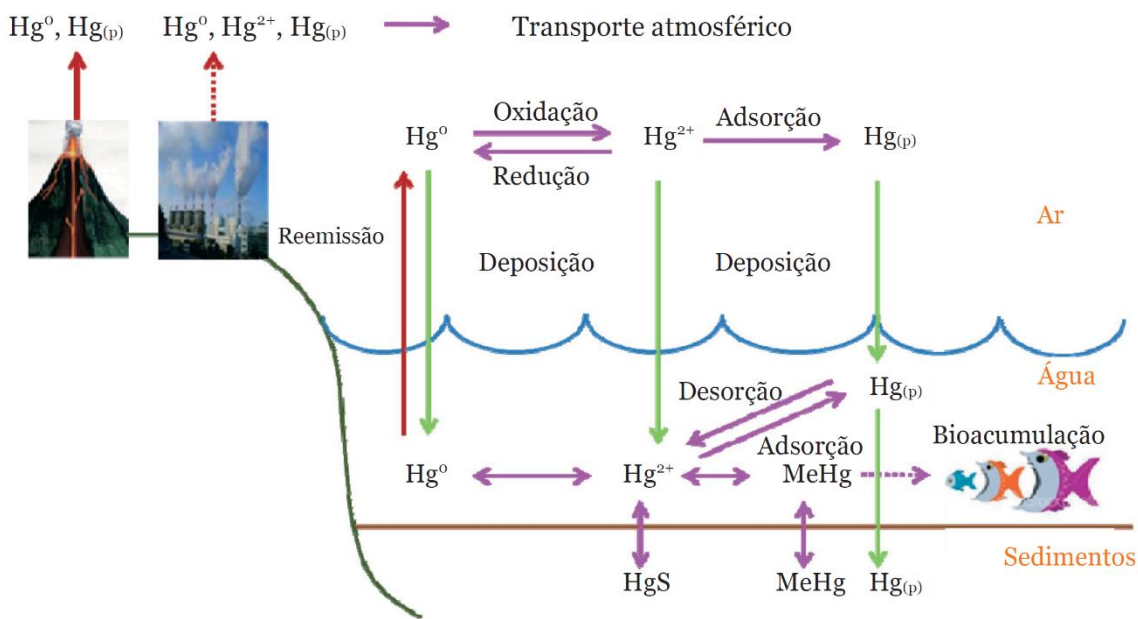


Figura 1.5: Destino e transporte das diferentes espécies de mercúrio no ar, água e sedimentos. **Hg⁰**: Mercúrio elemental; **Hg_(p)**: Mercúrio particulado; **Hg²⁺**: Mercúrio inorgânico; **MeHg**: Metilmercúrio; **HgS**: Sulfeto de mercúrio. Adaptado de⁵².

O mercúrio pode apresentar-se sob três formas químicas distintas (conhecidas como espécies químicas, cujo processo de transformação química se denomina especiação). Todas estas representam riscos variáveis para a saúde humana: elemental, orgânica e inorgânica^{48,53}:

Elementar (metálica) (Hg⁰) - Volátil, permanecendo na atmosfera durante tempo suficiente para viajar globalmente. Esta é a forma predominante no meio atmosférico, permanecendo de seis meses até um ano⁵⁴.

Orgânica - Maioritariamente sob a forma de metilmercúrio (MeHg), a mais tóxica, tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, bem como a capacidade de biomagnificação (fenómeno em que a concentração num organismo (de mercúrio, neste caso) tem uma concentração superior à do seu alimento, quando a principal via de exposição ocorre a partir da dieta⁵⁵, sendo muito mais rápida comparativamente às outras formas^{53,54}.

Inorgânica (Hg²⁺) - O mercúrio inorgânico em meio aquático sob condições anaeróbias e presença de bactérias, sofre metilação, um processo microbiano natural sendo convertido numa forma muito mais tóxica, o metilmercúrio. Na atmosfera permanece apenas curtos períodos de tempo (dias a semanas)^{56,57}.

1.3 Absorção/Acumulação de Mercúrio

A absorção de mercúrio está por vezes associada à absorção de selénio. Mais recentemente sabe-se que há vários fatores que influenciam a absorção de mercúrio pelos cogumelos como, fatores bio e geoquímicos tais como a biodisponibilidade do elemento, o período de crescimento, a idade do micélio, a densidade e profundidade a que o micélio se encontra no solo. Apesar de se saber da influência destes fatores na absorção do mercúrio, continua sem se saber concretamente o papel de todos estes fatores no processo da absorção em si. Pode calcular-se o potencial de acumulação através do cálculo do fator de bioconcentração (BCF), descrito na secção 1.1^{31,32,58,59}.

No que diz respeito aos mecanismos de absorção do mercúrio pelos cogumelos, há pouca informação relativamente ao assunto. Há alguns anos, segundo ⁵⁸, o processo estará relacionado com uma reação de quelatação do mercúrio com os grupos sulfidrilo presentes nos aminoácidos constituintes das proteínas (tais como a metionina) nos tecidos do cogumelo⁵⁹.

O mecanismo de absorção de metais, é novamente mencionado, relatando que continua a existir pouca informação relativamente ao assunto, no entanto é referido que esta ocorrerá por intermédio de uma estrutura do cogumelo, o micélio, a absorção depende

maioritariamente da natureza do composto metálico. Os micélios colonizam o solo, onde produzem compostos químicos como, por exemplo, enzimas. Estas enzimas têm um papel importante na transformação de outras substâncias presentes no solo e também na mobilização e mineralização de metais. Os rizomorfos são outras estruturas semelhantes a raízes, são também mencionadas no que diz respeito à absorção de elementos minerais. É também mencionado que o facto de os rizomorfos são um bom meio para a captação de água e compostos minerais, isto explica a presença de mercúrio numa espécie utilizada no estudo (*Armillaria solidipes*)^{32,60}.

Kulshreshtha *et al.*⁶¹ referem que para um cogumelo absorver um poluente ocorrem dois fenómenos: bioacumulação e bioissorção.

Bioacumulação – Transporte para as células, bem como a divisão entre componentes intracelulares;

Bioissorção – Processo de remoção de metais (no caso presente, mercúrio) pelos cogumelos. Ocorre ligação do poluente à biomassa (cogumelo), por meio de adsorção, troca iónica ou estabelecimento de ligações covalentes com biomoléculas.

Após a absorção de mercúrio, este é distribuído de forma desigual, as maiores concentrações apresentam-se sempre na zona superior do cogumelo, o chapéu, e verificam-se concentrações inferiores na zona do pé^{11,27,31,35,40,62}. Isto deve-se ao facto de a zona do chapéu ser uma zona de maior proliferação celular em relação à zona do pé.

1.4 Ciclo Global do Mercúrio e Emissões de Mercúrio

Os metais como o mercúrio, são contaminantes ambientais, uma vez que têm uma elevada persistência no meio ambiente, bem como potencial para toxicidade⁶³. Diariamente, centenas de toneladas de mercúrio são libertadas para o meio ambiente, provenientes de várias fontes, naturais e antropogénicas, ou seja, resultado da atividade humana, principalmente atividade industrial.

O ciclo global de mercúrio (representando na Figura 1.6) engloba os meios terrestre, aquático e atmosférico, pelos quais o mercúrio viaja assim que entra no ambiente até eventualmente ser retido por sedimentos de lagos ou oceânicos profundos, ou pelo aprisionamento em compostos minerais estáveis. Uma vez no meio aquático, este será

internalizado por organismos através de mecanismos já descritos anteriormente, entrando assim na cadeia alimentar e afetando todo o ecossistema envolvente, nomeadamente, os humanos e a sua saúde^{54,64,65}.

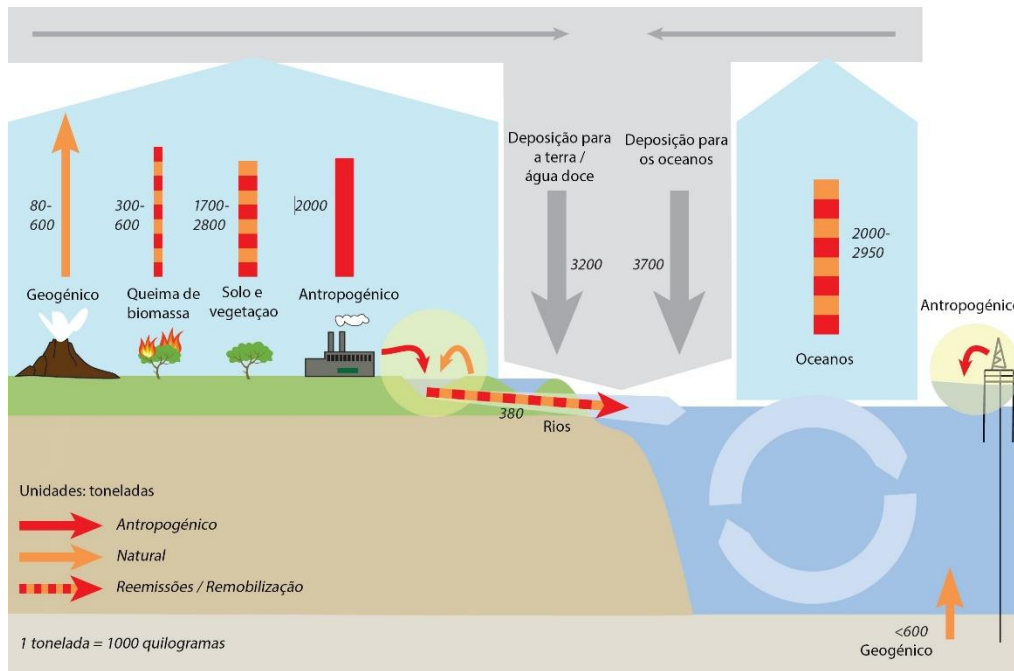


Figura 1.6: Esquema representativo do ciclo global do mercúrio. Adaptado de ⁵⁴.

Cerca de $5,5-8,9 \times 10^6$ kg mercúrio são emitidos anualmente para a atmosfera, globalmente. Este mercúrio origina de fontes naturais e fontes antropogênicas (atividade humana)^{54,64}:

- **Fontes Naturais** - Responsáveis por 10% das emissões anuais. As principais fontes de emissão a atividade vulcânica, atividade geotérmica que emite mercúrio do solo para a atmosfera e também o liberta nos oceanos, o desgaste natural de rochas que têm mercúrio na sua composição, libertando mercúrio para os meios terrestre, aquático e para a atmosfera.
- **Fontes Antropogênicas** - Responsáveis por 30% das emissões anuais. As principais fontes de emissão são a mineração de ouro em larga escala, a utilização de combustíveis fósseis, como é o carvão, e indústrias que utilizam e processam minérios para a produção de outros materiais para a produção de cimento.

As fontes antropogênicas incluem atividades geradoras de emissões não intencionais (e.g., queima de carvão para geração de energia elétrica) ou outro tipo de setores e atividades em que o mercúrio é utilizado intencionalmente, por ser necessário para extrair e obter um produto final.

Segundo o relatório *Global Mercury Assessment* de 2018⁶⁶, as atividades humanas que resultam na liberação de mercúrio e a respectiva percentagem de contribuição são as seguintes:

1. **Mineração de ouro artesanal e de pequena escala (ASGM) (37,7%):** O mercúrio é utilizado pelos mineiros para separar o ouro de outros materiais, como rochas, solos e sedimentos. As emissões resultantes deste setor resultam do uso intencional do mercúrio;
2. **Queima de biomassa (doméstica, industrial e centrais elétricas) (2,33%);**
3. **Produção de cimento (matérias-primas e combustível, não considerando aqui o carvão) (10,5%):** Existe a necessidade de queima de combustíveis fósseis, como via de aquecimento de materiais que são necessários para a produção de cimento⁵⁴;
4. **Emissões de cremação (0,17%);**
5. **Produção de cloro (indústria cloroalcalina) (processo de mercúrio) (0,68%):** O mercúrio é utilizado na produção de cloro e soda cáustica. As emissões resultantes deste setor resultam do uso intencional do mercúrio⁵⁴;
6. **Produção de metais não-ferrosos (Al, Cu, Pb e Zn) (10,3%):** Este setor gera grandes emissões e liberações, resultantes do grande volume de minérios e metais utilizados. Este setor pode também, criar uma associação entre as fontes antropogênicas e o uso intencional do mercúrio, já que no processamento destes metais, grande parte do mercúrio utilizado é capturado/armazenado/vendido⁵⁴;
7. **Produção de ouro em larga escala (3,8%);**
8. **Produção de mercúrio (0,62%);**
9. **Refinaria de Petróleo (0,65%):** Geralmente, os depósitos de petróleo contêm mercúrio em baixas concentrações, este é removido antes da combustão, logo, no que diz respeito às emissões por combustão, neste parâmetro, são relativamente baixas⁵⁴;
10. **Produção de ferro-gusa e aço (primária) (1,34%);**
11. **Combustão estacionária de carvão (doméstica/residencial, transporte) (2,51%);**
12. **Combustão estacionária de gás (doméstica/residencial, transporte) (0,01%);**
13. **Combustão estacionária de petróleo (doméstica/residencial, transporte) (0,12%);**
14. **Combustão estacionária de carvão (industrial) (5,67%);**

15. **Combustão estacionária de gás (industrial)** (0,01%);
16. **Combustão estacionária de petróleo (industrial)** (0,06%);
17. **Combustão estacionária de carvão (Centrais elétricas)** (13,1%);
18. **Combustão estacionária de gás (Centrais elétricas)** (0,02%);
19. **Combustão estacionária de petróleo (Centrais elétricas)** (0,11%);
20. **Produção secundária de aço** (0,46%);
21. **Produção de Monómeros de cloreto de vinilo (VCM)** (2,6%): O mercúrio é utilizado como catalisador na produção deste monômero, a partir de acetileno. As emissões resultantes deste setor resultam do uso intencional do mercúrio⁵⁴;
22. **Resíduos de mercúrio** (6,6%);
23. **Incineração de Resíduos (queima controlada)** (0,67%).

Algumas destas atividades que têm como consequência a emissão de mercúrio porque este está presente como uma impureza/contaminante, como são a combustão de carvão, mineração, atividades que processam minérios para a produção de metais e o processamento de matérias-primas para produzir cimento, supramencionadas. Neste tipo de situações as emissões são consideradas **não intencionais**⁵⁴.

No que diz respeito à **combustão de carvão**, este em si não tem elevadas concentrações de mercúrio, no entanto devido ao grande volume que é queimado, resulta então numa grande fonte de emissão⁵⁴.

Para além de todas estas principais fontes de mercúrio, existem ainda uma série de produtos em que o mercúrio é utilizado, como baterias, tintas, dispositivos elétricos e eletrónicos, lâmpadas, medidores de pressão arterial, pesticidas, cosméticos etc⁵⁴.

Reemissões - As reemissões de mercúrio são o principal contribuinte para a circulação e deposição de mercúrio a nível global, responsáveis pelos restantes 60% das emissões anuais, à exceção da Ásia Oriental, onde a deposição de mercúrio é dominada pelas emissões diretas de fontes antropogénicas⁵⁴.

Estas podem ocorrer através da queima de biomassa e como consequência de emissões naturais ou antropogénicas passadas. O mercúrio proveniente de atividades humanas, presente em solos e oceanos, que atuam como um reservatório, já que o mercúrio está disponível para ser reemitido para o ar, como resultado, as concentrações de mercúrio atmosférico estão em níveis mais altos do que seria o caso apenas das emissões atuais ^{54,64,66}.

A Figura 1.7 ilustra as diferentes vias de entrada de mercúrio no ambiente.

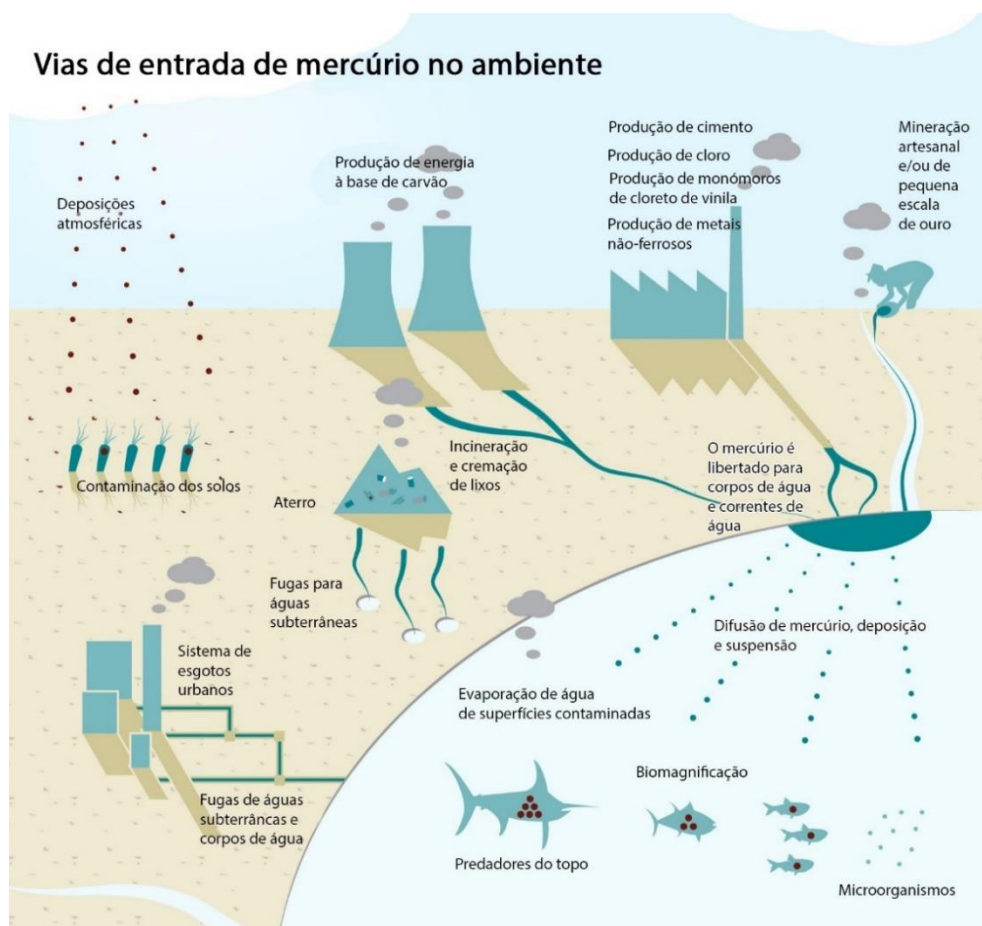


Figura 1.7: Vias de entrada de mercúrio no meio ambiente. Adaptado de⁶⁷.

1.5 Mercúrio e Fontes de Exposição para Humanos

As principais fontes de exposição a mercúrio para humanos, são várias, para além das mais conhecidas como por exemplo o consumo de peixe (predadores de topo de cadeia), na Figura 1.8 estão representadas outras fontes de mercúrio provenientes de outros meios.

A utilização de produtos cosméticos e de higiene bem como a exposição accidental/involuntária a lâmpadas (após quebra), pilhas, baterias ou alguns equipamentos médicos bem como o consumo de alimentos que se desconhece que estão contaminados, expõe os utilizadores ou consumidores a mercúrio.

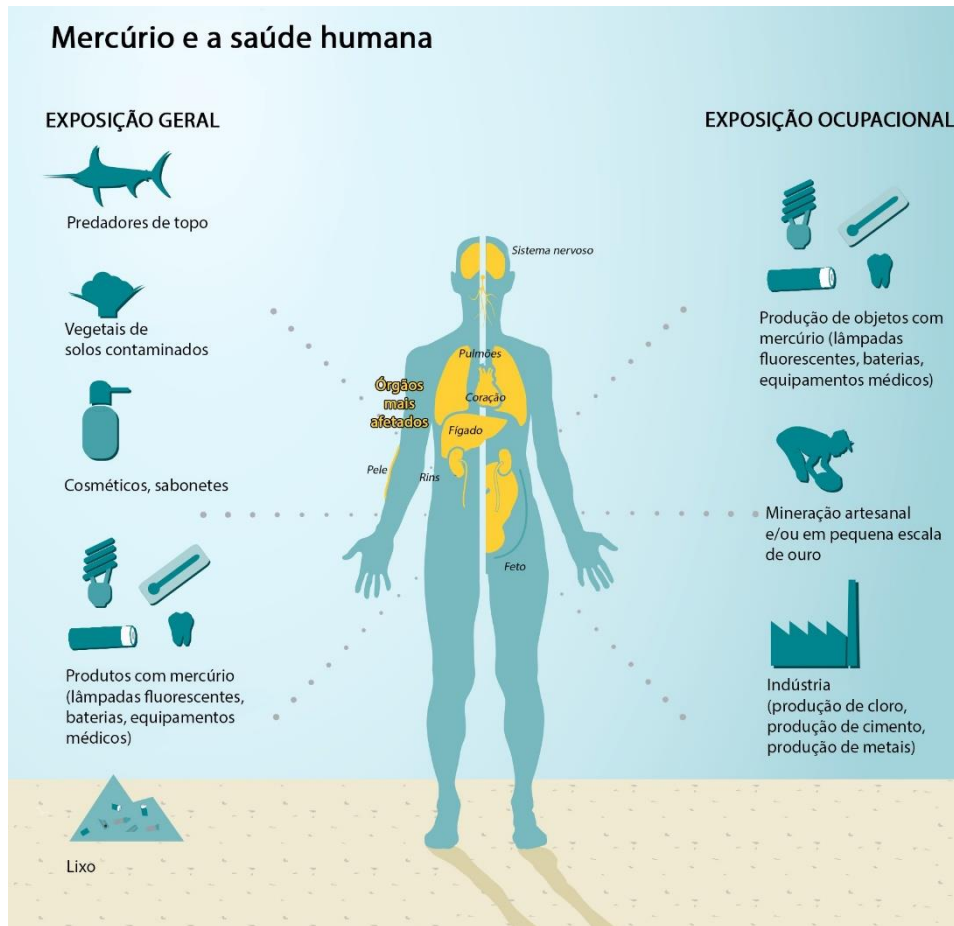


Figura 1.8: Principais fontes de exposição a mercúrio para humanos. Adaptado de ⁶⁷.

1.6 Mercúrio e Efeitos na Saúde

Inevitavelmente os humanos são expostos a mercúrio, seja a níveis baixos num quadro de exposição crónica (prolongada ou intermitente, durante longos períodos de tempo) ou a níveis elevados, configurando uma exposição aguda (curtos períodos de tempo)^{68,69}.

Existem alguns fatores que determinam a severidade dos efeitos que possam ocorrer na saúde humana, são estes^{68,69}:

- Espécie de mercúrio em questão;
- Dose;
- Idade ou fase de desenvolvimento, sendo um feto o mais suscetível;
- Duração da exposição;

- Via de exposição
- Saúde do indivíduo.

Um feto é muito sensível ao mercúrio, está mais suscetível aos efeitos, devido ao processo de desenvolvimento, a exposição do feto a metilmercúrio pode ocorrer como consequência da alimentação da mãe (maioritariamente presente no peixe e marisco) e afetar o seu cérebro ainda em desenvolvimento. A exposição do feto a mercúrio pode causar danos no sistema nervoso do bebé, como ter o seu desenvolvimento neurológico comprometido ou enfraquecido. Esta exposição pode também afetar o feto a nível da sua memória, atenção, coordenação motora fina e o processamento espacial visual^{68,69}.

Na Tabela 1.1 estão sumariadas as diferentes fontes de mercúrio, vias de exposição, bem como os efeitos causados e ainda as vias de eliminação.

Tabela 1.1: Fontes e vias de exposição a mercúrio, efeitos causados e vias de eliminação. Adaptado de⁵².

Mercúrio	Elementar (metálico)	Inorgânico	Orgânico
Fonte de exposição	Ambiental Explosões vulcânicas, desgaste de rochas, desgaseificação Antropogénica inadvertida Combustão: combustíveis fósseis (carvão); incineração de resíduos Industrial: mineração de ouro / prata, indústria cloroalcalina, baterias, interruptores, lâmpadas fluorescentes, termómetros, esfigmomanómetros Antropogénica intencional Amalgamas dentárias Rituais e remédios populares	Ambiental Nenhuma Produtos industriais Desinfetantes, antimicrobianos Medicamentos alternativos, cosméticos Lâmpadas de vapor Embalsamamento Fotografia Tinta látex (antes de 1990) Exemplo: cloreto mercúrico	Conversão ambiental Peixes e mariscos (por exemplo, metilmercúrio) Produção industrial Fungicidas, bactericidas (por exemplo, fenilmercúrio) Conservantes de vacinas (por exemplo, tiomersal - composto organometálico)
Vias de exposição	Inalação (volátil à temperatura ambiente): 75% a 85% de absorção Ingestão e pele: quase nenhuma absorção	Ingestão: 10% absorvido Pele: pode ser alta e mortal	Gastrointestinal: absorção rápida e completa Parenteral: 100% absorvido Transplacentária (concentrada no sangue do cordão umbilical)
Eliminação	Urina e fezes	Renal	Fezes: T _{1/2} 45 a 70 dias em adultos
Toxicidade	Pulmões, olhos, gengiva e pele. Sistema nervoso central, rins, sistema imunológico.	Primária: rins, trato gastrointestinal Secundária: sistema nervoso central	Primária: sistema nervoso central Secundária: cardiovascular

1.7 Gestão de Mercúrio

O mercúrio é um contaminante ambiental, persiste no meio ambiente e circula entre o ar, a água, os sedimentos, o solo e os seres vivos. Uma vez que este atinge a atmosfera, pode viajar longas distâncias até locais que não são considerados contaminados, não existem áreas de qualquer produção ou uso. Existe, portanto, necessidade de tomar medidas para a eliminação do mercúrio proveniente de indústrias e do uso de produtos que contêm mercúrio⁶⁷.

Para gerir este mercúrio é necessário fazer uma recolha, estabilização e uma eliminação que permita o isolamento do mercúrio de modo a que não esteja em contacto com a biosfera⁶⁷. A Figura 1.9 exemplifica opções de gestão de mercúrio.

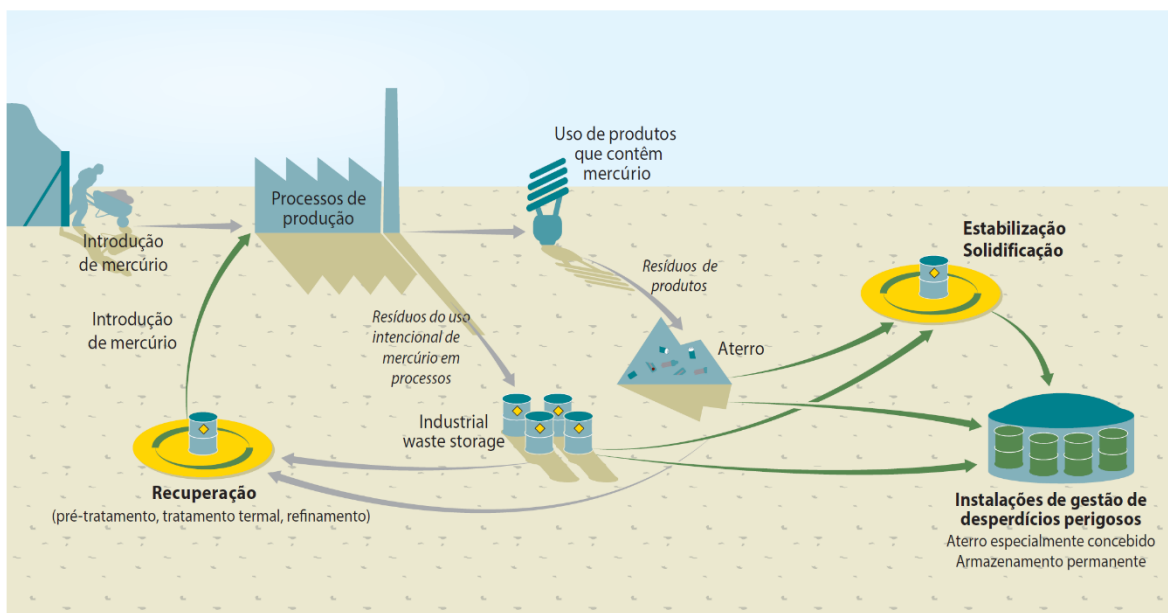


Figura 1.9: Opções de gestão de mercúrio. Adaptado de ⁶⁷.

Relativamente à estabilização, pode ser conseguida por diferentes abordagens:

- Transformação química num composto químico mais estável e menos móvel;
- Microencapsulação (incorporação de partículas numa matriz impermeável, cimento, por exemplo);
- Macroencapsulação (cobertura de resíduos com um material impermeável, polietileno por exemplo).

Associado à estabilização, não há risco de derrames, a pressão de vapor usada nos métodos

de estabilização está a níveis seguros os lixiviados têm concentrações de mercúrio inferiores ao limite permitido para o descarte. Contrariamente ao mercúrio líquido, que apenas pode ser armazenado em aterros sanitários ou em locais subterrâneos, o mercúrio estabilizado facilita significativamente a procura de locais de armazenamento adequados⁶⁷.

1.8 Solo

O solo é uma região da crosta terrestre, lar para todas as formas de vida: vegetal, animal e microbiana. Este está repleto de vida microscópica: bactérias, fungos, algas e protozoários. A flora microbiana do solo é muito abundante e diversificada⁸.

O maior reservatório de mercúrio nos ecossistemas terrestres é o solo, sendo as transferências deste metal, de extrema importância no ciclo do mesmo (entre a vegetação, a atmosfera, e toda a água: subterrânea, de superfície e dos oceanos)⁷⁰.

Atualmente vive-se um período de crescente industrialização e continuam, também, a praticar-se certos tipos de atividades, como indústrias de mineração e utilização de combustíveis fósseis, por exemplo, que contribuem para as crescentes emissões de mercúrio e por consequência, deposição de mercúrio no solo⁷⁰.

Uma fração do mercúrio presente no solo estará biodisponível para ser acumulado por certos organismos como os cogumelos, refletindo estes a contaminação do solo. Como já mencionado nas secções 1.1.6 e 1.1.7, há vários fatores que têm influência na captação de mercúrio do solo pelos corpos de frutificação dos cogumelos como por exemplo o seu tempo de vida útil, ou seja, a capacidade de acumulação do elemento está militada a este tempo de vida útil e de contacto com o solo⁹.

O solo está intimamente ligado com os cogumelos, este é a base do seu desenvolvimento. É no solo que o micélio dos cogumelos se espalha atingindo grandes profundidades e alcançando grande distâncias. O solo sustenta os cogumelos, é lá que se encontram compostos inorgânicos, necessários ao seu desenvolvimento³⁹.

As concentrações de mercúrio que se têm vindo a verificar nos cogumelos, são consequência de um solo contaminado, esta contaminação pode originar das diferentes fontes de mercúrio, sendo a principal, atividades antropogénicas⁷¹.

Sabe-se que o armazenamento de mercúrio no solo aumentou 20% desde 1840 como consequência da deposição atmosférica resultante de emissões consequentes de atividades humanas⁷⁰.

Existem vários métodos para a remoção de metais do solo, precipitação química, coagulação com sais de alumínio ou ferro, filtração por membrana, osmose reversa, troca iônica e adsorção. Estes métodos não são economicamente viáveis⁹.

Uma alternativa mais econômica a estes métodos é a biossorção, esta consiste na remoção de metais do solo por intermediário de organismos como algas, bactérias e fungos como cogumelos, estes têm a capacidade de atuar como biossorvente de metais do solo, como estes crescem naturalmente, não há a necessidade de implantar qualquer tipo de instrumentos ou aparelhos para remover os metais, que seriam necessários caso fossem utilizadas as outras abordagens mencionadas para a remoção dos metais⁹.

1.9 Vegetação

A utilização de agulhas de pinheiro, como bioindicadores de mercúrio, é referido em vários estudos, bem como o uso de outras árvores e plantas: *Pinus halepensis* L. (Pinheiro-de-alepo); *Pinus sylvestris* (Pinheiro-da-escócia); *Picea abies* (Abeto-falso); *Quercus ilex* (Azinheira); *Pinus pinea* L. (Pinheiro-manso); *Allium tuberosum* Rottler (cebolinho chinês); *Lactuca sativa* L. (Alface); *Spinacia oleracea* L. (Espinafre); *Amaranthus mangostanus* L. (Tampala); *Brassica campestris* L. (Nabo); *Artemisia dracunculus* L. (Estragão); *Vaccinium* spp. e *Gaylussacia* spp. (Mirtilo); *Juniperus deppeana* (Zimbreiro); *Robinia pseudoacacia* (acácia-bastarda)^{63,72-77}. À semelhança dos cogumelos, as agulhas de Pinheiro, são também, uma boa abordagem para averiguar a existência/inexistência de mercúrio na zona de estudo, isto é possível através da quantificação de mercúrio, já que à semelhança dos cogumelos, as agulhas de pinheiro também têm a capacidade de absorção de mercúrio. Quando se quer quantificar apenas o mercúrio que as plantas absorveram e não aquele que resulta da deposição atmosférica, é importante fazer uma lavagem das agulhas antes de fazer a quantificação de mercúrio, de modo a garantir que só está a ser quantificado aquilo que é sistêmico, ou seja, aquilo que as agulhas absorveram, excluindo qualquer mercúrio que se encontre na superfície das agulhas, resultante da deposição atmosférica do mercúrio^{63,72}.

1.10 Fogos Florestais

Atualmente há cada vez mais fogos florestais, globalmente, o que causa perturbações aos ecossistemas. As cinzas resultantes destes incêndios são pouco estudadas, mas recentemente foi relatado que a formação de cinzas, pode sequestrar formas de mercúrio pouco biodisponíveis, atenuando a potencial adversidade dos efeitos da erosão do mercúrio e consequente transporte para outros meios, como é o caso do meio aquático, juntamente com as cinzas⁷⁸.

A libertação de mercúrio depende e varia consoante fatores como a espécie e composição da floresta, este fator dita também a severidade das consequências do fogo. Isto causa um fluxo de mercúrio do meio terrestre para a atmosfera bem como o sequestro deste mercúrio pelo solo e vegetação⁵⁷.

Existem três mecanismos que podem ser o motivo da associação do mercúrio à queima de biomassa⁷⁹:

- Adsorção de mercúrio gasoso nas partículas resultantes de queima de biomassa.
- Libertação direta de mercúrio da vegetação para a atmosfera, durante fogos florestais.
- Evaporação de mercúrio do solo durante a queima da floresta (reemissão).

Locais onde se façam fogos controlados ou prescritos (queimadas) e locais recentemente afetados por incêndios florestais, são caracterizados por uma quantidade significativamente inferior de mercúrio total no solo. Quanto mais severo o incêndio, maior a percentagem de mercúrio libertado para atmosfera, já que ocorre a reemissão do mesmo.

Estes fogos prescritos têm interesse principalmente económico, são necessários para preparar terrenos para certos tipos de agricultura, controlo de ervas daninhas entre outros e de facto, a aplicação de fogos controlados tem o efeito desejado. Estes fogos são de uma intensidade muito inferior comparativamente a incêndios (não controlados), também porque geralmente praticam-se fora da época de calor, quando o clima tende de ameno para frio (outono, primavera e finais de inverno) de modo a que o risco de gerar um incêndio seja o mínimo possível. No entanto, apesar de serem de intensidade inferior, tem como consequência a deposição de mercúrio. A figura 1.6 é um esquema representativo do que acontece quando se faz uma queimada.

Estes fogos controlados ou prescritos são uma prática muito comum no nosso país, bem

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

como na Espanha, nos Estados Unidos da América, Brasil e também na Austrália^{57,78}.

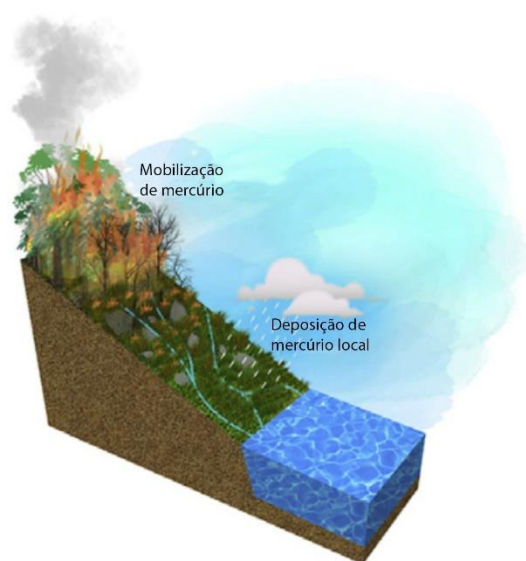


Figura 1.10: Representação da mobilização do mercúrio em situações de queimada. Adaptado de⁷⁸.

1.11 Objetivo

O principal objetivo deste estudo é descrever os níveis de mercúrio de cogumelos selvagens usados na alimentação humana, solo e vegetação circundante a estes, na zona da Cova da Beira, bem como averiguar se as espécies amostradas são bioacumuladoras. Tendo estes dados, um objetivo secundário deste estudo é avaliar se o consumo destes cogumelos acarreta riscos para os humanos, e caso seja uma realidade, criar uma lista de recomendações relativas ao consumo das espécies amostradas nestes locais, com o intuito de alertar para os níveis de mercúrio e assim, tentar ajudar a diminuir a ingestão deste metal potencialmente tóxico.

Capítulo 2 Materiais e Métodos

2.1 Locais de amostragem

Na Tabela 2.1 está a informação relativa aos locais de amostragem e a data em que foram recolhidas as amostras nesse local.

Tabela 2.1: Locais de amostragem.

Local de amostragem	Data
Alcaide	22-11-2018
Terlamonte	01-12-2018
Capinha	08-12-2018
Moreirinha	27-12-2018

Estas quatro freguesias pertencem à zona em estudo, a Cova da Beira (que engloba os concelhos da Covilhã, Fundão e Belmonte).

Os apêndices A.1, A.2, A.3 e A.4 mostram a zona de amostragem para cada local de recolha, os pontos azuis indicam os pontos específicos dos locais de recolha das amostras (obtidos por georreferenciação).

47 amostras de cogumelos em conjugação com amostras de solo e vegetação circundantes foram recolhidas de 4 diferentes áreas florestais na Cova da Beira, Portugal, durante novembro e dezembro de 2018. Procedeu-se também à análise de 4 espécies de cogumelos comerciais, num total de 9 amostras (cinco da espécie *Agaricus bisporus*, uma de *Pleurothus ostreatus*, duas de *Hypsizygyus marmoreus* e uma de *Lentinula edodes*) adquiridas em superfícies comerciais. Estas variedades estão descritas na Tabela 2.2.

Tabela 2.2: Espécies de cogumelos comerciais estudadas.

Espécie	Nome
Agaricus bisporus	Portobello
Agaricus bisporus	Cogumelo branco
Agaricus bisporus	Portobello biológico
Agaricus bisporus	Cogumelo marron biológico
Agaricus bisporus	Cogumelo branco biológico

Pleurothus ostreatus	Pleurothus
Hypsizygus marmoreus	Shimeji Branco (China)
Hypsizygus marmoreus	Shimeji Castanho (China)
Lentinula edodes	Shiitake

O processo de seleção de espécies a recolher, foi determinado por uma primeira recolha de campo no Alcaide com o objetivo de registar as espécies em presença na área de estudo.

No entanto, a prevalência de fatores climatéricos adversos ao desenvolvimento de estruturas de frutificação que se faziam sentir ao tempo desta amostragem resultou na recolha de um conjunto limitado de espécies. Depois de estabelecido um inventário, foi determinado que a recolha tinha obtido exemplares das espécies *Lycoperdon perlatum*, *Russula vesca*, *Macrolepiota procera*, *Hydnum repandum*, *Tricholoma colossus* e uma espécie que não identificada. Todas estas espécies registaram densidades populacionais muito baixas. Os apêndices B.1, B.2, B.3, B.4 e B.5 ilustram esta primeira amostragem.

Em face desta primeira amostragem, tornou-se evidente que uma mudança de estratégia de amostragem seria necessária. Dada a anomalia de condições climatéricas, a orientação das recolhas teria de favorecer espécies: i) normalmente abundantes (mesmo em condições adversas); ii) com uma distribuição espacial que incluísse toda a zona de estudo. Uma vez que estas características se alinham com as espécies mais conhecidas e consumidas pelas populações locais, foi decidido recolher essas espécies, o que além de cumprir os objetivos basilares do estudo, adicionou a dimensão de avaliação de risco associado ao consumo destas espécies para humanos.

Neste sentido, a recolha dirigiu-se assim a quatro espécies: *Tricholoma equestre*, *Tricholoma portentosum*, *Lactarius deliciosus* e *Russula vesca*, cujas imagens se encontram nos apêndices B.6, B.7, B.8 e B.9.

Na Tabela 2.3 estão apresentados nomes comuns dados a estas espécies.

Tabela 2.3: Nomes científicos das espécies de cogumelos selvagens selecionadas e correspondentes nomes comuns associados.

Nome científico	Nome comum
Tricholoma equestre	Míscaro amarelo
Tricholoma portentosum	Míscaro branco
Lactarius deliciosus	Sancha; Seta

Russula vesca	Russula
---------------	---------

A zona da Cova da Beira abrangida na amostragem está representada no apêndice A.5.

Todas as amostras de cogumelos, solo e vegetação, recolhidas nas saídas de campo foram armazenadas em “kits” especificamente criados para facilitar o seu transporte para o laboratório de uma forma concertada. Cada “kit” recebeu um código de identificação único, sendo constituído por um saco de polietileno grande que atua como recipiente direto para a parte de frutificação do cogumelo (e transportador para as restantes amostras); um tubo Falcon *metal free* de 50 mL para recolha do solo subjacente ao cogumelo; outro saco de polietileno (mais pequeno) para a vegetação e uma etiqueta com o código impresso, para registar e facilitar a futura identificação da localização e espécie do cogumelo recolhido, sendo registada por meio de fotografia, como está representado na Figura 2.1. Todo o material recolhido é assim transportado e identificado em conjunto.

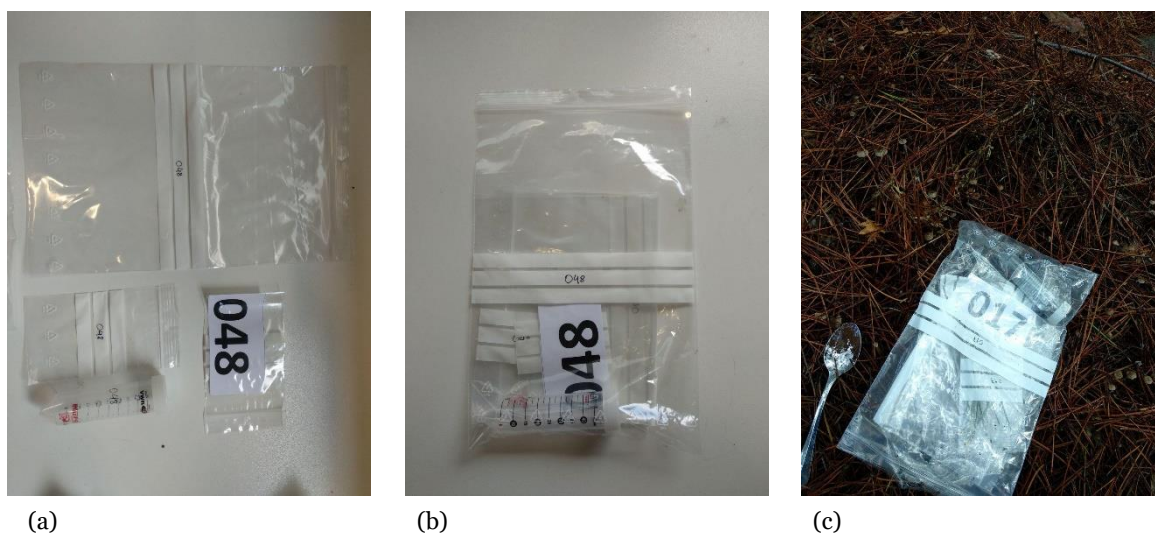


Figura 2.1: Kit utilizado para a amostragem e transporte para o laboratório. (a) Kit completo para recolha de uma amostra. (b) Componentes individualizados do kit de recolha para uma amostra (a partir de cima e no sentido dos ponteiros do relógio: Cogumelo, etiqueta, solo e vegetação). (c) Kit e colher no local de recolha.

Os locais onde se procedeu à recolha de amostras foram georreferenciados por meio da aplicação “Os meus mapas” da Google, o que permite registar a distribuição espacial da amostragem.

Todos os corpos de frutificação dos cogumelos foram colhidos utilizando luvas e depois colocados nos sacos de polietileno. O solo subjacente aos cogumelos foi recolhido até cerca

de 10 centímetros de profundidade, com o auxílio de uma colher de inox, para o Falcon após remoção da camada superficial de material orgânico depositado.

Amostras da parte aérea da vegetação arbórea da área (na maioria dos casos constituída por pinheiros), correspondente a cada amostra de cogumelo foi recolhida, e armazenadas nos sacos de polietileno de menor dimensão.

2.1.1 Tratamento das amostras

2.1.1.1 Cogumelos

No laboratório, todas as amostras de cogumelos recolhidas foram colocadas em pratos de plástico para secagem ao ar.

Depois de secos, os cogumelos foram limpos com uma faca de plástico, para prevenir a possibilidade de interferência de resíduos de solo nas quantificações de mercúrio. Fotografias do material utilizado para a preparação encontram-se na Figura 2.2.



Figura 2.2: Material utilizado na preparação das amostras de cogumelos (Faca de plástico e superfície de corte.)

Após limpeza, os cogumelos foram separados em duas partes (chapéu e pé) sobre uma base de corte. Cada uma destas partes foi subdividida em pedaços de menores dimensões e colocadas em Falcons *metal free* de 15 mL devidamente identificados.

Os falcons contendo a amostra foram tapados com parafilm e colocados num liofilizador

durante 24 a 48 horas.

Após liofilização as amostras foram homogeneizadas com auxílio de um almofariz e pilão e posteriormente armazenadas a -20°C até à quantificação de mercúrio.

Os Falcons foram pesados antes da colocação da amostra, contendo a amostra e após a liofilização, sempre sem tampa, permitindo-nos isto calcular o conteúdo em água destas.

2.1.1.2 Solo

Os solos foram colocados em barquinhas de plástico e fechados numa caixa hermética contendo sílica para secagem. Seguidamente, as amostras foram peneiradas por um crivo de 2 mm, que se pode ver na Figura 2.3.



Figura 2.3: Crivo (2 mm) utilizado na preparação das amostras de solo.

Entre amostras, o crivo foi lavado com água corrente, com detergente e com água destilada.

Depois de crivadas as amostras foram homogeneizadas com o auxílio de um almofariz e um pilão. As amostras ficaram assim preparadas para a quantificação de mercúrio.

O pH das amostras foi medido em triplicado, de acordo com a norma ISO 10390:2005.

2.1.1.3 Vegetação

As amostras da parte aérea de vegetação arbórea (maioritariamente agulhas de pinheiro e também folhas de carvalho) foram divididas em dois grupos para da mesma amostra. Num dos grupos, a amostra foi lavada três vezes com água destilada de modo a remover todos os materiais adsorvidos, i.e., não sistémicos. No outro grupo a amostra não foi lavada, ou seja,

a quantificação reflete, para além da matriz da amostra, os materiais adsorvidos.

Seguidamente as amostras foram colocadas em Falcons de 15 mL e colocadas num liofilizador durante 24 a 48 horas.

Após liofilização as amostras foram homogeneizadas com auxílio de um almofariz e pilão e posteriormente armazenadas a -20°C até à quantificação de mercúrio.

Os Falcons foram pesados antes da colocação da amostra, contendo a amostra e após a liofilização, sempre sem tampa, permitindo-nos isto calcular o conteúdo em água destas.

2.2 Quantificação de mercúrio

A quantificação de mercúrio de todas as amostras foi efetuada, em triplicado, por espetrometria de absorção atómica com decomposição térmica e amálgama de ouro, utilizando um analisador direto de mercúrio (NIC-MA-3000 - *Nippon Instruments Corporation, Japan*) (Figura 2.4). As análises de mercúrio total foram efetuadas de acordo com os protocolos da USEPA 7473 e ASTM D-6722-01.

Este equipamento apresenta numerosas vantagens, tais como:

- Dispensa o pré-tratamento da amostra, ou seja, dispensa o uso de reagentes.
- É um método preciso e com elevada sensibilidade.
- A utilização deste equipamento é relativamente simples e não requer treino especializado para a sua operação.
- Comparativamente a outros métodos anteriormente usados, é um processo de quantificação bastante rápido, já que cada amostra demora apenas 7 minutos a processar.
- O limite de deteção é extremamente baixo (0,001 ng).

As amostras são colocadas em barquinhas de cerâmica (termicamente estáveis), tendo sido utilizados, por análise, 40 mg de cogumelos, 50 mg de vegetação e 30-40 mg de solo.



Figura 2.4: Analisador direto de mercúrio NIC-MA-3000.

No aparelho, as amostras sofrem decomposição térmica num forno de decomposição, em ambiente de aquecimento e oxigenação controlados (o O_2 é utilizado como gás de carreamento) onde ocorre a libertação do mercúrio presente na amostra. Tendo em conta o tipo de amostra a analisar (cogumelo, vegetação, solo) um programa específico pré-define as condições específicas do aparelho. Certos gases libertados da amostra podem coabsorver mercúrio, criando interferências que influenciam a sua determinação. Estes gases são removidos por combustão num tubo desenhado para o efeito. O mercúrio volatilizado é concentrado e recolhido num tubo coletor, por meio de uma amálgama de ouro, removendo desta forma, outro tipo de potenciais interferências elementares.

Finalmente, o tubo coletor é reaquecido e o mercúrio revolatilizado, sendo quantificado por absorvância medida a um comprimento de onda de 253,7 nm.

2.3 Controlo de qualidade

O programa de controlo de qualidade incluiu:

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

- Calibração do analisador com solução de referência de mercúrio ultra pura (1000 ppm, Spectro ECON; Chem-Lab) estabilizada numa solução de L-Cisteína (> 98%, TCI Chemicals).
- A utilização de dois materiais de referência, *Mussel Tissue*, *ERM-CE278k* (Sample No: 0479) para as amostras de cogumelos e de vegetação e *SQC001-30G*, (Lot #LRAA8753) para as amostras de solo. O material de referência *Mussel Tissue* foi utilizado 8 vezes por cada 80 amostras analisadas, com duas adicionais (início e fim). O *SQC001-30G* foi utilizado 8 vezes por cada 80 amostras, com duas adicionais (início e fim).
- Análise em triplicado de todas as amostras (cogumelos, vegetação e solo), para a quantificação de mercúrio, com a exceção de duas amostras de cogumelos, uma vez que a reduzida quantidade da amostra não permitiu replicação.

Capítulo 3 Resultados

3.1 QA/QC & Otimização do método de análise de cogumelos, Solo e Vegetação

3.1.1 Materiais de Referência (CRMs)

A utilização destes materiais destina-se à determinação da exatidão do processo analítico, sendo esta quantificável pelas percentagens de recuperação. Pode também ser secundariamente utilizadas, quando várias amostras são analisadas em paralelo, para determinar a precisão (reprodutibilidade) do método, sendo esta quantificada pelo coeficiente de variação.

A gama de concentrações certificada para os materiais utilizados é de 64 – 78 *ppb* para o *Mussel Tissue* é de 15432 - 16368 *ppb* para o *SQCO01-30G*.

No material de referência para as amostras de cogumelos e vegetação, a concentração média de mercúrio nas 28 medições foi de 70,88 *ppb* correspondendo a uma percentagem de recuperação de 99,83%. O coeficiente de variação de todas as réplicas foi de 1,59%.

Quanto ao material de referência para as amostras de solo, a recuperação foi de 100,26% e o coeficiente de variação correspondente foi de 2,17%.

As tabelas com os resultados das concentrações de mercúrio e percentagens de recuperação, para os materiais de referência, encontram-se nos apêndices C.1 e C.2.

3.1.2 Otimização da quantidade de cogumelos, solo e vegetação a utilizar

O primeiro passo para a quantificação de mercúrio é a otimização da quantidade de amostra a analisar. Amostras ambientais são, tal como no caso presente, limitadas em termos de massa, pelo que esta otimização permite que um maior número de análises da mesma amostra seja realizado. Pretende-se que o coeficiente de variação (CV) entre resultados destas análises seja inferior a 5%, permitindo-nos assim ter confiança nos resultados obtidos face à quantidade de amostra utilizada.

Para as amostras de cogumelos, a otimização da quantidade de amostra consistiu em fazer quantificações de três réplicas de 10, 15, 20, 30 e 40 *mg* da mesma amostra. A quantificação foi feita utilizando 40 *mg* de amostra, já que o valor de CV mais baixo obtido foi para 40 *mg* de amostra como podemos confirmar na Tabela 3.1, o que permite obter resultados com maior precisão.

Tabela 3.1: Quantidade de amostra de cogumelos utilizada na medição e coeficiente de variação obtido após análise em triplicado.

mg de amostra	Coeficiente de variação (%)
10	8,74
15	7,18
20	0,56
30	1,58
40	0,52

Para a vegetação, fizeram-se réplicas de 10, 15, 20, 25, 30 e 40, 90 e 150 *mg*. A quantificação foi feita com 50 *mg*, já que os coeficientes de variação obtidos para 40 e 90 *mg* foram baixos (como podemos verificar na Tabela 3.2), usou-se um valor intermédio. Usaram-se 50 *mg* porque a quantidade de amostra existente o permitiu, não era muita, então tentou-se maximizar-se a amostra usada na medição tendo em conta a quantidade existente.

Tabela 3.2: Quantidade de amostra de vegetação utilizada na medição e coeficiente de variação obtido após análise em triplicado.

mg de amostra	Coeficiente de variação (%)
10	4,33
15	8,50
20	2,26
25	3,85
30	1,36
40	1,81
90	2,92
150	6,15

Para as amostras de solo utilizaram-se entre 30 e 40 *mg* de amostra, com base em informação obtida a partir de um trabalho a decorrer em paralelo, realizado dentro do grupo de investigação.

3.2 Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos

3.2.1 Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos comerciais

Na Figura 3.1 estão representados os resultados obtidos na quantificação do mercúrio nos vários cogumelos comerciais que foram estudados.

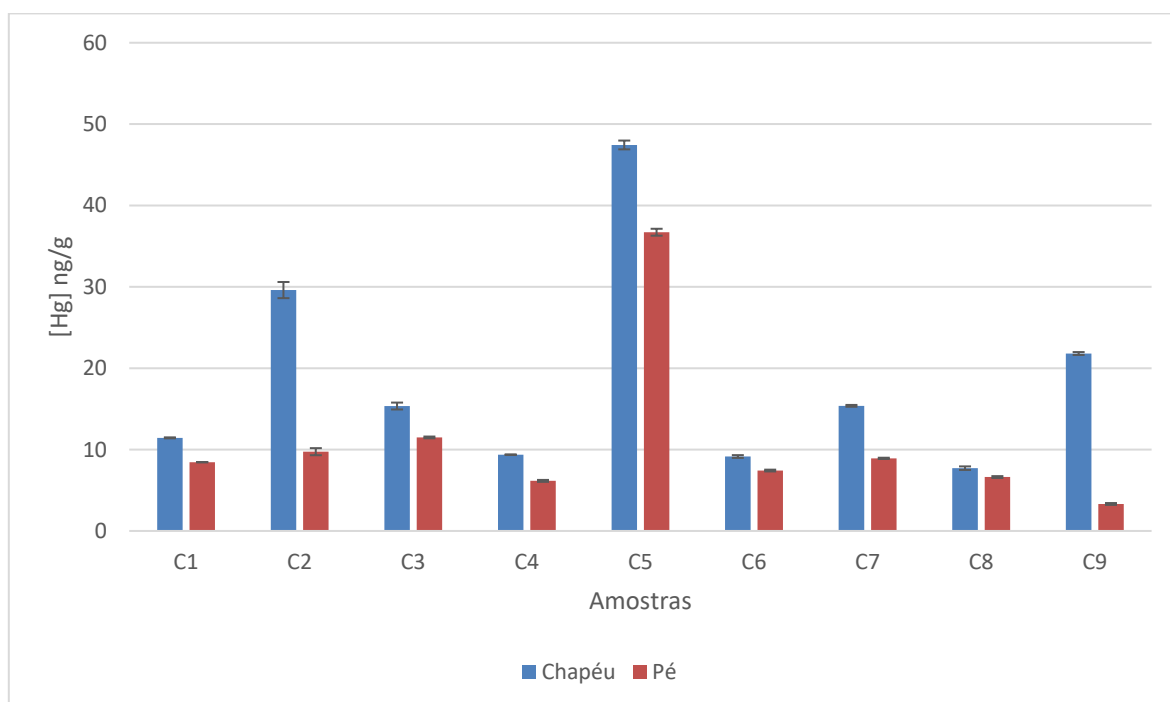


Figura 3.1: Concentrações de mercúrio total nas diferentes amostras de cogumelos comercialmente disponíveis.

3.2.2 Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos selvagens

A Figura 3.2 permite ver a distribuição das concentrações de mercúrio por espécie. A espécie para a qual se obtiveram as concentrações mais elevadas de mercúrio, foi a *Tricholoma equestre*, em contrapartida a espécie *Russula vesca* apresentou os valores de concentração de mercúrio mais baixos.

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

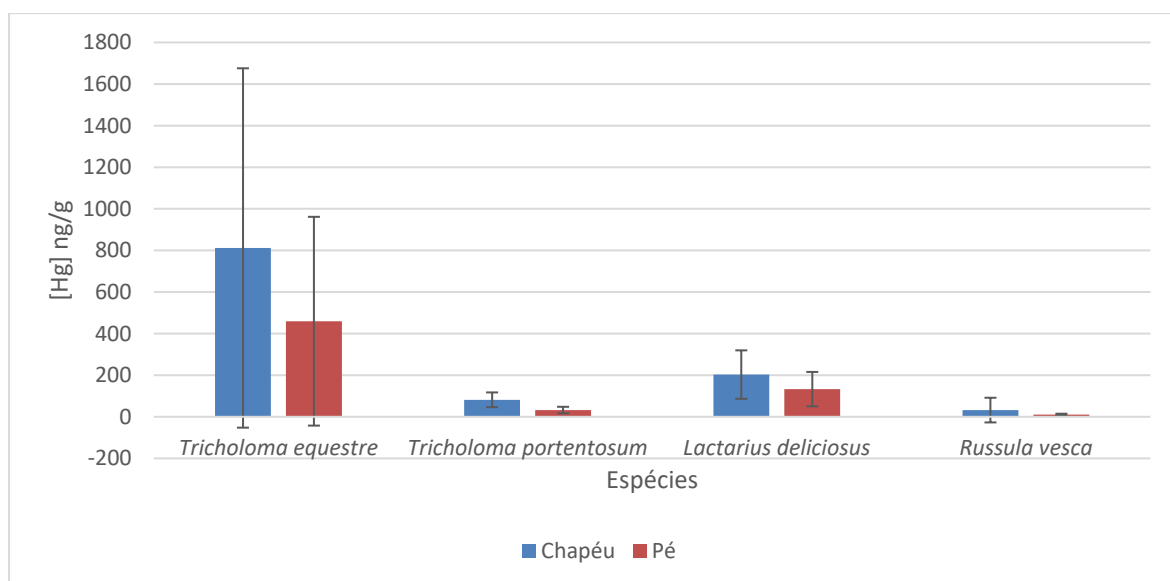


Figura 3.2: Concentrações de mercúrio total médias, por espécie de cogumelos selvagens.

Na Figura 3.3 estão descritas as concentrações de mercúrio total, médias, das amostras de cogumelos selvagens, por local de amostragem (tendo em conta as espécies recolhidas na amostragem inicial).

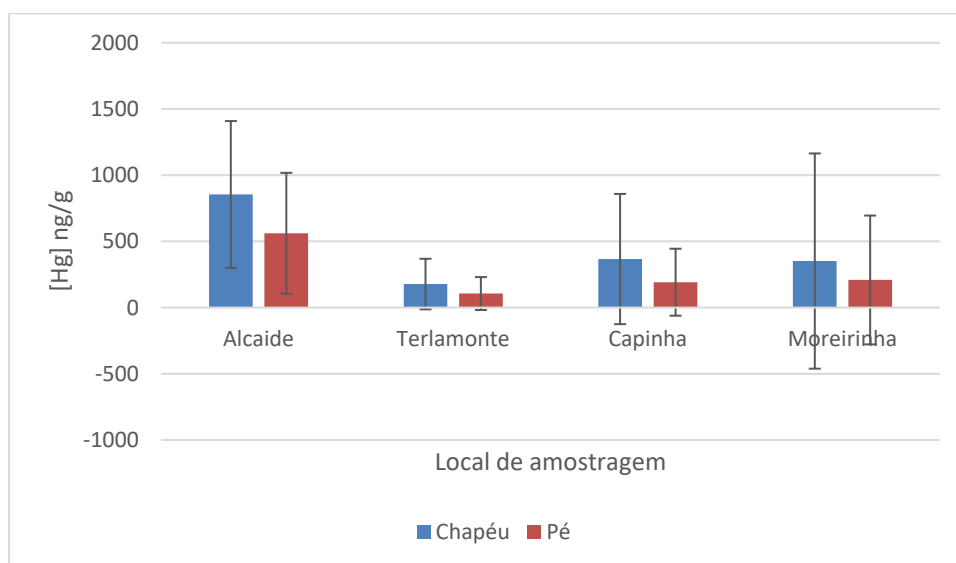


Figura 3.3: Concentrações de mercúrio total médias das amostras de cogumelos selvagens, por local de amostragem (considerando as espécies recolhidas na amostragem inicial).

A Figura 3.4 apresenta as concentrações de mercúrio total médias das amostras de cogumelos selvagens, por local de amostragem (não considerando as espécies recolhidas na

campanha inicial). Neste gráfico vemos que as concentrações médias na Capinha e em Moreirinha, são muito próximas e as mais elevadas. O Alcaide apresenta concentrações baixas, já que aqui só se está a ter em conta a espécie *Russula vesca* lá recolhida (que foi a espécie que apresentou valores e concentração mais baixos neste estudo.)

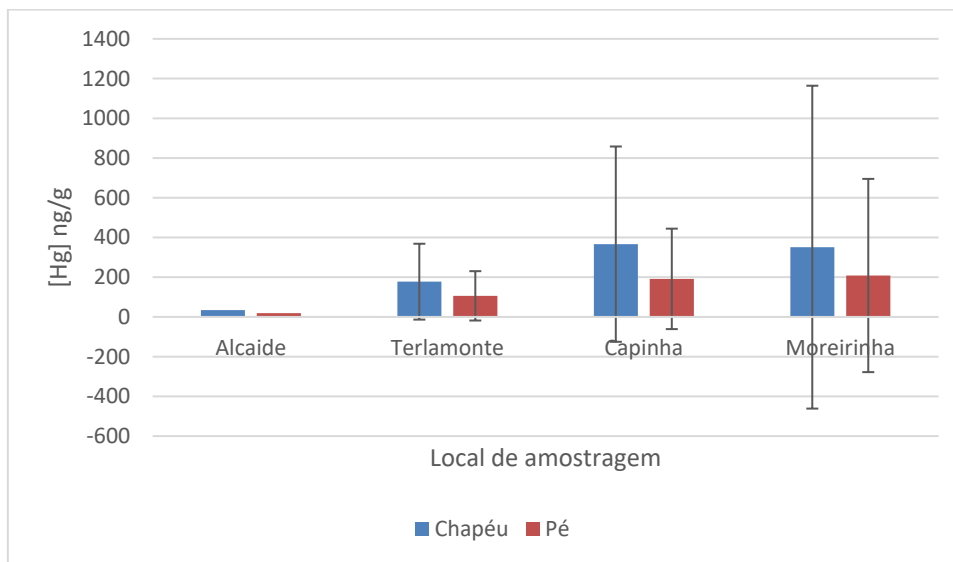


Figura 3.4: Concentrações de mercúrio total médias das amostras de cogumelos selvagens, por local de amostragem (não considerando as espécies recolhidas na campanha inicial).

Na Figura 3.5 estão representadas as concentrações de mercúrio total médias, das amostras de cogumelos selvagens, por local de amostragem das espécies *Tricholoma equestre*, *Tricholoma portentosum*, *Lactarius deliciosus* e *Russula vesca*.

Este gráfico permite observar, para cada espécie de cogumelo amostrado, quais foram os locais que registaram concentrações maiores e menores de mercúrio. Consequentemente, é possível selecionar os locais preferenciais para apanhar uma determinada espécie, bem como, os locais a evitar, de acordo com os valores de concentração, de mercúrio, registados.

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

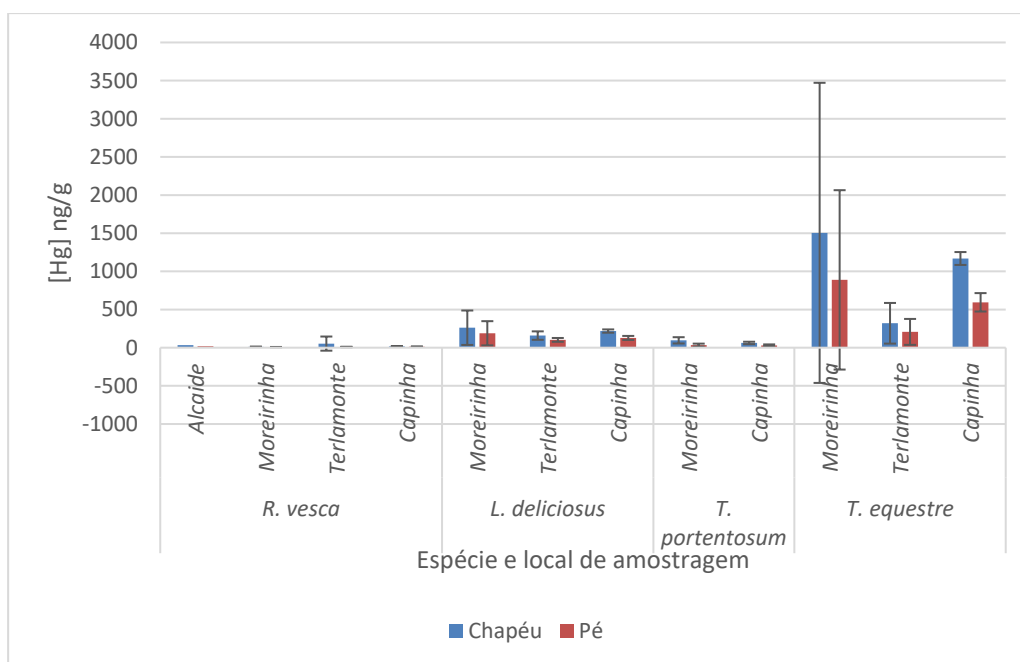


Figura 3.5: Concentrações de mercúrio total obtidas, por espécie de cogumelo, por local de amostragem.

3.3 Concentrações de mercúrio total nas amostras de solo

3.3.1 Valores de mercúrio total obtidos para solos crivados e solos não crivados

Na Figura 3.6 estão descritas as concentrações de mercúrio obtidas para as amostras de solo que foram crivadas e as suas correspondentes que não foram crivadas.

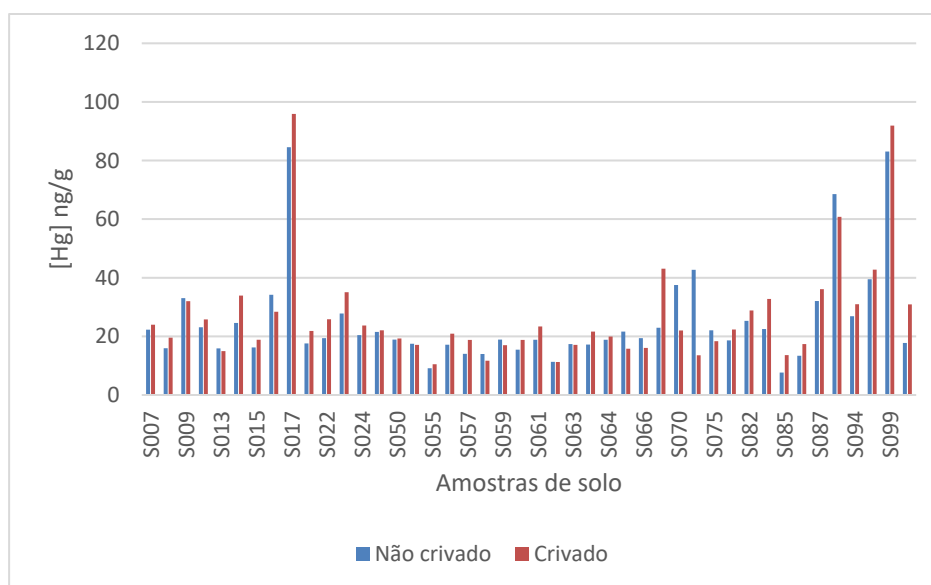


Figura 3.6: Concentrações de mercúrio total obtidas para solos crivados e solos não crivados.

Relativamente à Figura 3.7, esta mostra as concentrações de mercúrio obtidas para as amostras de solo, crivadas e não crivadas, para cada local de amostragem.

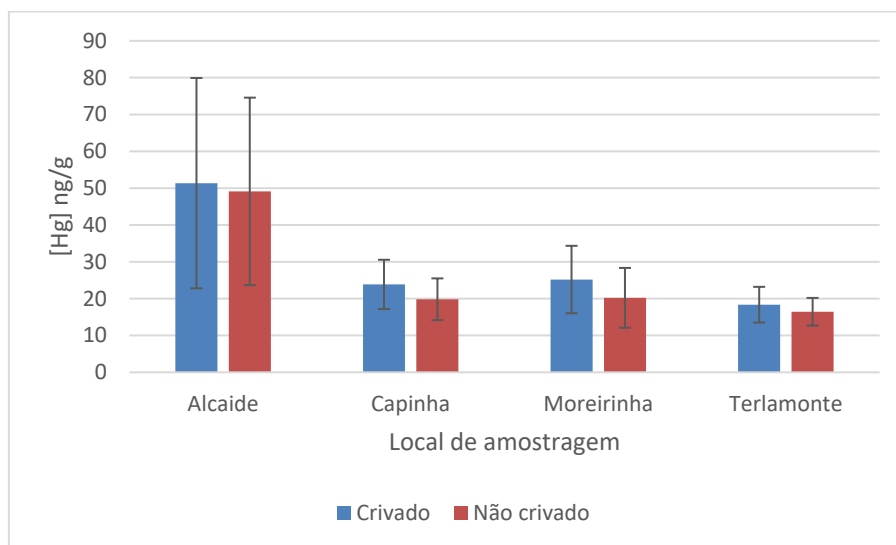


Figura 3.7: Concentrações médias de mercúrio total obtidas para solos crivados e não crivados em cada local de amostragem.

Analisando o gráfico da Figura 3.8 podem analisar-se as concentrações de mercúrio obtidas para as amostras de solos recolhidas. Os solos crivados apresentam concentrações mais elevadas do que os seus correspondentes não crivados. No geral, as concentrações que se verificaram são próximas, entre locais. Terlamonte foi o local que apresentou níveis mais baixos de mercúrio no solo.

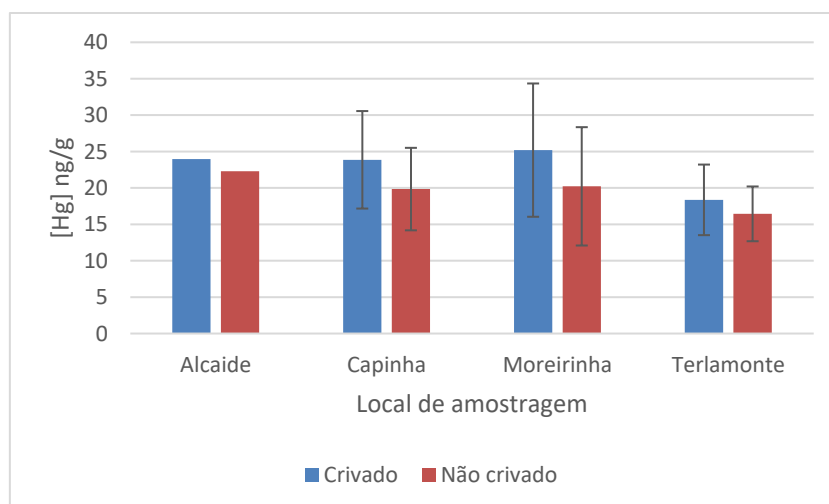


Figura 3.8: Concentrações médias de mercúrio total obtidas para amostras de solo crivadas e não crivadas, em cada local de amostragem (não considerando as amostras de solo correspondentes às espécies de cogumelos da primeira campanha).

3.3.2 Concentração de mercúrio total em cogumelos selvagens VS concentração do solo subjacente correspondente

Na Tabela 3.3 é possível comparar as concentrações de mercúrio obtidas nas amostras de cogumelos recolhidas, com as concentrações do solo correspondente, recolhido no local subjacente ao cogumelo e respetivos fatores de bioconcentração.

Tabela 3.3: Concentrações de mercúrio total (ng/g) em cogumelos e no seu solo subjacente correspondente e respetivos fatores de bioconcentração (BCF).

Amostra	[Hg] Cogumelo (ng/g)		[Hg] Solo (ng/g)	BCF	
	Chapéu	Pé		Chapéu	Pé
005	77,75	37,11	17,82	4,36	2,08
006	1170,41	653,19	22,80	51,33	28,65
007	33,96	19,23	23,96	1,42	0,80
008	224,87	142,62	19,58	11,48	7,28
009	744,48	660,19	32,03	23,24	20,61
012	46,02	16,10	25,81	1,78	0,62
013	241,78	143,01	14,98	16,14	9,55
014	1087,26	457,46	33,94	32,03	13,48
015	1257,73	677,62	18,87	66,64	35,90
016	1068,95	770,38	28,40	37,64	27,13
017	444,36	56,63	95,89	4,63	0,59
018	9,87	5,73	21,85	0,45	0,26
022	103,17	99,23	25,85	3,99	3,84
023	1855,78	1537,69	35,08	52,90	43,84
024	62,93	38,53	23,71	2,65	1,63
049	125,78	44,11	22,06	5,70	2,00
050	162,32	94,72	19,28	8,42	4,91
051	791,10	505,14	17,08	46,30	29,57
055	66,78	17,68	10,50	6,36	1,68
056	216,35	141,29	20,90	10,35	6,76
057	129,06	93,35	18,80	6,86	4,96
058	192,30	154,76	11,68	16,47	13,25
059	9,35	6,34	16,97	0,55	0,37
060	11,57	13,09	18,78	0,62	0,70
061	87,23	94,44	23,36	3,73	4,04
062	149,08	78,67	11,27	13,22	6,98
063	20,96	14,28	17,08	1,23	0,84
064	113,85	56,29	18,85	6,04	2,99
065	56,60	17,35	21,62	2,62	0,80
066	196,60	144,26	19,37	10,15	7,45

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

069	17,61	9,82	22,95	0,77	0,43
070	519,34	372,19	37,53	13,84	9,92
074	15,26	7,19	42,72	0,36	0,17
075	2890,60	1716,72	18,34	157,58	93,59
076	222,59	6,95	22,35	9,96	0,31
082	230,46	98,62	28,83	7,99	3,42
084	134,67	57,27	32,76	4,11	1,75
085	266,58	170,59	13,60	19,60	12,54
085X	9,48	9,96	13,60	0,70	0,73
086	136,68	67,86	17,36	7,87	3,91
086X	9,06	7,67	17,36	0,52	0,44
087	20,88	16,44	36,13	0,58	0,45
093	644,86	399,54	60,77	10,61	6,57
094	196,69	98,07	30,99	6,35	3,16
098	1287,45	439,93	42,77	30,10	10,29
099	740,83	513,60	91,93	8,06	5,59
100	9,62	9,89	30,93	0,31	0,32

3.3.3 Valores obtidos na medição do pH dos solos

Os valores obtidos na medição do pH dos solos correspondentes às amostras de cogumelos, estão na Tabela 3.4.

Tabela 3.4: Valores médios de pH correspondentes a cada amostra de solo.

Amostra	pH		
5	5,5	49	5,8
6	6,1	50	5,9
7	5,4	51	5,9
8	5,6	55	5,5
9	5,7	56	5,5
12	5,7	57	6,0
13	5,7	58	5,9
14	5,8	59	6,0
15	6,4	60	5,9
16	6,4	61	5,8
17	4,7	62	5,9
18	5,7	63	5,5
22	5,3	64	5,1
23	6,1	65	5,5
24	6,0	66	5,9
		69	5,7

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

70	4,7	86	5,6
74	5,6	87	5,7
75	5,2	93	4,5
76	5,7	94	5,6
82	5,6	98	5,5
84	5,3	99	5,4
85	5,3	100	5,6

3.4 Concentrações de mercúrio total nas amostras de vegetação

Na Figura 3.9 estão descritas as concentrações de mercúrio total nas amostras de vegetação, quando se têm em conta as amostras recolhidas na primeira campanha.

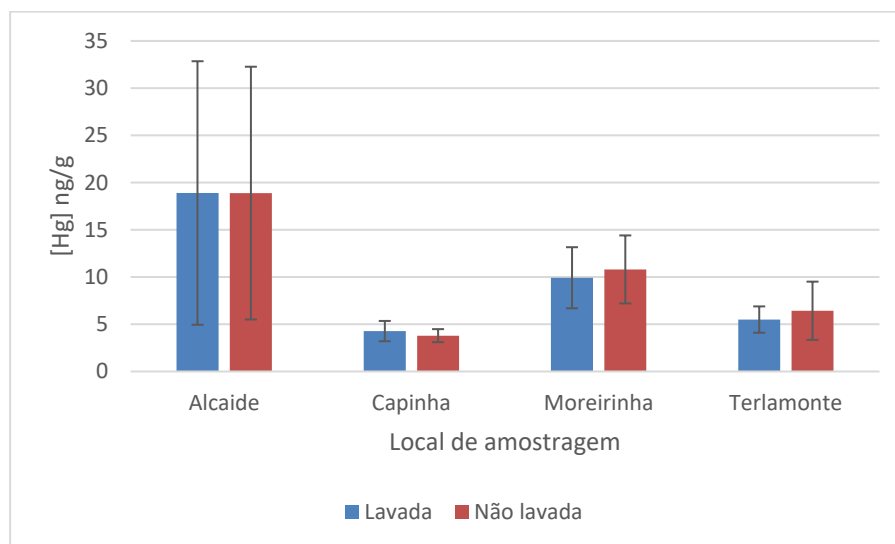


Figura 3.9: Concentrações médias de mercúrio total obtidas para amostras de vegetação lavadas e não lavadas, em cada local de amostragem.

Por sua vez, na Figura 3.10 estão descritas, não contemplando as amostras da primeira campanha.

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

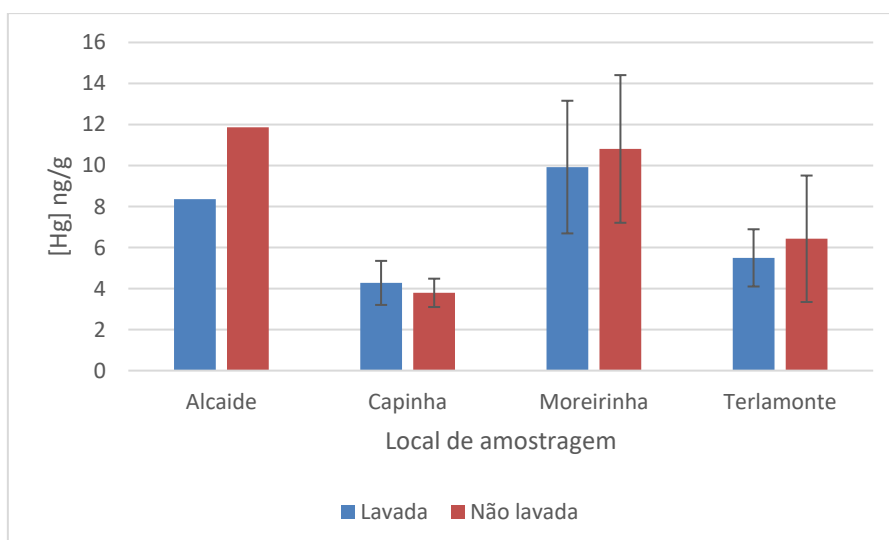


Figura 3.10: Concentrações médias de mercúrio total obtidas para amostras de vegetação lavadas e não lavadas, em cada local de amostragem (não considerando as amostras de vegetação correspondentes às espécies de cogumelos que posteriormente foram desconsideradas).

Na Tabela 3.5 é possível comparar as concentrações de mercúrio obtidas nas amostras de cogumelos recolhidas, bem como a concentração da vegetação e solo recolhidos em associação.

Tabela 3.5: Concentrações de mercúrio total (ng/g) em cogumelos, no seu solo subjacente e na sua vegetação correspondente.

Amostra	[Hg] Cogumelo (ng/g)		[Hg] Solo (ng/g)		[Hg] Vegetação (ng/g)	
	Chapéu	Pé	Não crivado	Crivado	Lavada	Não lavada
005	77,75	37,11	13,66	17,82	5,75	4,89
006	1170,41	653,19	17,69	22,80	3,89	3,96
007	33,96	19,23	22,29	23,96	8,36	11,87
008	224,87	142,62	15,95	19,58	4,25	4,07
009	744,48	660,19	33,07	32,03	6,26	8,10
009carv					44,77	42,54
012	46,02	16,10	23,12	25,81		
013	241,78	143,01	15,90	14,98	4,28	3,71
014	1087,26	457,46	24,61	33,94	6,30	4,79
015	1257,73	677,62	16,23	18,87	3,49	3,01
016	1068,95	770,38	34,20	28,40	4,55	3,56
017	444,36	56,63	84,56	95,89	27,12	26,74
018	9,87	5,73	17,61	21,85	15,69	13,67
022	103,17	99,23	19,37	25,85	6,87	8,28

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

023	1855,78	1537,69	27,78	35,08	11,09	18,36
024	62,93	38,53	20,45	23,71	31,30	26,75
049	125,78	44,11	21,54	22,06	3,06	2,94
050	162,32	94,72	18,89	19,28	17,82	9,65
051	791,10	505,14	17,49	17,08	11,36	11,72
055	66,78	17,68	9,13	10,50	3,69	3,70
056	216,35	141,29	17,18	20,90	7,71	13,23
057	129,06	93,35	14,05	18,80	5,68	5,19
058	192,30	154,76	13,98	11,68	6,13	7,25
059	9,35	6,34	18,92	16,97	5,72	4,91
060	11,57	13,09	15,48	18,78	3,57	4,36
061	87,23	94,44	18,86	23,36	5,20	4,54
062	149,08	78,67	11,30	11,27	7,57	10,34
063	20,96	14,28	17,39	17,08	3,63	4,68
064	113,85	56,29	17,19	18,85	7,51	13,18
065	56,60	17,35	19,97	21,62	7,90	7,83
066	196,60	144,26	15,79	19,37	5,89	5,90
069	17,61	9,82	16,06	22,95	5,88	9,17
070	519,34	372,19	43,12	37,53	2,64	3,02
074	15,26	7,19	21,99	42,72	10,19	5,45
075	2890,60	1716,72	13,56	18,34	9,64	12,07
076	222,59	6,95	18,63	22,35	11,04	12,72
082	230,46	98,62	25,27	28,83	5,65	4,38
084	134,67	57,27	22,53	32,76	3,97	3,78
085	266,58	170,59	7,66	13,60	12,35	12,37
085X	9,48	9,96			5,75	3,50
086	136,68	67,86	13,38	17,36	7,63	8,89
086X	9,06	7,67				
087	20,88	16,44	32,09	36,13	4,37	3,35
093	644,86	399,54	68,56	60,77	5,50	5,04
094	196,69	98,07	26,87	30,99	3,55	3,57
098	1287,45	439,93	39,47	42,77	4,29	4,20
099	740,83	513,60	83,08	91,93	29,02	31,09
100	9,62	9,89	17,73	30,93	7,22	12,13

3.5 Análise Estatística

Nesta secção encontra-se a análise estatística dos dados obtidos neste estudo.

As correlações de Pearson realizadas intralocal não revelaram ligação entre as concentrações de mercúrio nas variáveis solo (crivado e não crivado), vegetação (lavada e

não lavada) e cogumelos (chapéu e pé), com a exceção de elevadas correlações dentro da mesma matriz (isto é, vegetação lavada vs. não lavada, solo crivado vs. não crivado e; Chapéu vs. Pé) cujo r foi sempre superior a 0.8 e com p sempre inferior a 0.01. Uma exceção ocorreu para o Local D (Moreirinha) em que não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre as folhas lavadas e não lavadas ($r=0.232$, $p=0.469$). O outro resultado fora da norma foi a existência de uma correlação negativa ($r=-0.674$, $p=0.016$), estatisticamente significativa entre o solo crivado e as folhas não lavadas no local C (Capinha).

A análise com recurso a Correlação de Spearman do pH determinado nas amostras de solo revelou a inexistência de correlações entre a média de pH e o local ($\rho=-0.05$; $p=0.744$) e entre esta e as diferentes espécies ($\rho=-0.041$; $p=0.790$). Ainda no tocante ao pH, a análise por meio de ANOVA de uma via, demonstrou a inexistência de diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios determinados para cada local ($p=0.057$).

Seguidamente apresentam-se os resultados da análise estatística para cada local por meio de ANOVA de uma via, com teste *post-hoc* de Student-Newman-Keuls, ou teste-t (quando adequado).

3.5.1 LOCAL A: Alcaide

(Chave: *Hydnum repandum* – Hr; *Lycoperdon perlatum* – Lp; *Macrolepiota procera* – Mp; Não Identificados – Pu; *Russula vesca* – Rv; *Tricholoma colossus* – Tc)

3.5.1.1 Chapéu

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.

Tabela 3.6: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	5	12201667.580	2440333.516	21.517	<0.001
Residual	54	6124251.539	113412.066		
Total	59	18325919.119			

As diferenças nos valores médios, entre os grupos, de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparações por fator:

Tabela 3.7: Comparações por fator relativo à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	$P < 0.050$
Lp vs. Rv	1274.813	6	11.971	<0.001	Sim
Lp vs. Pu	868.787	5	8.158	<0.001	Sim
Lp vs. Hr	647.871	4	6.084	<0.001	Sim
Lp vs. Mp	403.320	3	3.787	0.026	Sim
Lp vs. Tc	39.797	2	0.374	0.793	Não
Tc vs. Rv	1235.016	5	11.597	<0.001	Sim
Tc vs. Pu	828.990	4	7.784	<0.001	Sim
Tc vs. Hr	608.074	3	5.710	<0.001	Sim
Tc vs. Mp	363.523	2	3.414	0.019	Sim
Mp vs. Rv	871.493	4	8.183	<0.001	Sim
Mp vs. Pu	465.467	3	4.371	0.009	Sim
Mp vs. Hr	244.551	2	2.296	0.110	Não
Hr vs. Rv	626.942	3	5.887	<0.001	Sim
Hr vs. Pu	220.916	2	2.074	0.148	Não
Pu vs. Rv	406.026	2	3.813	0.009	Sim

Nesta tabela pode ver-se que as diferenças de concentrações para estas espécies, são em quase todos os casos, estatisticamente significativas (valor de $p < 0,05$).

3.5.1.2 Pé

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.

Tabela 3.8: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

recolhidas no Alcaide.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	5	7088144.556	1417628.911	20.976	<0.001
Residual	54	3649529.149	67583.873		
Total	59	10737673.705			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparações por fator:

Tabela 3.9: Comparações por fator relativo à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas no Alcaide.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Lp vs. Rv	1066.208	6	12.969	<0.001	Sim
Lp vs. Pu	915.531	5	11.137	<0.001	Sim
Lp vs. Hr	689.462	4	8.387	<0.001	Sim
Lp vs. Tc	644.049	3	7.834	<0.001	Sim
Lp vs. Mp	438.987	2	5.340	<0.001	Sim
Mp vs. Rv	627.222	5	7.630	<0.001	Sim
Mp vs. Pu	476.545	4	5.797	<0.001	Sim
Mp vs. Hr	250.476	3	3.047	0.089	Não
Mp vs. Tc	205.062	2	2.494	0.084	Não
Tc vs. Rv	422.160	4	5.135	0.004	Sim
Tc vs. Pu	271.483	3	3.302	0.060	Não
Tc vs. Hr	45.414	2	0.552	0.698	Não
Hr vs. Rv	376.746	3	4.583	0.006	Sim
Hr vs. Pu	226.069	2	2.750	0.057	Não
Pu vs. Rv	150.677	2	1.833	0.201	Não

Na tabela acima estão descritas as diferenças das concentrações de mercúrio para a zona do pé. Aqui em sensivelmente metade das comparações entre espécies, as diferenças não são significativas.

3.5.1.3 Vegetação lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo, recolhida no Alcaide.

Tabela 3.10: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas no Alcaide.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	5	4202.402	840.480	15.970	<0.001
Residual	54	2841.904	52.628		
Total	59	7044.306			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparações por fator:

Tabela 3.11: Comparações por fator relativo à vegetação (que sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas no Alcaide.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Mp vs. Tc	23.780	6	10.366	<0.001	Sim
Mp vs. Hr	22.574	5	9.840	<0.001	Sim
Mp vs. Rv	19.714	4	8.593	<0.001	Sim
Mp vs. Pu	12.380	3	5.397	0.001	Sim
Mp vs. Lp	9.293	2	4.051	0.006	Sim
Lp vs. Tc	14.487	5	6.315	<0.001	Sim
Lp vs. Hr	13.280	4	5.789	<0.001	Sim
Lp vs. Rv	10.421	3	4.542	0.006	Sim
Lp vs. Pu	3.087	2	1.346	0.346	Não
Pu vs. Tc	11.399	4	4.969	0.005	Sim
Pu vs. Hr	10.193	3	4.443	0.008	Sim
Pu vs. Rv	7.333	2	3.197	0.028	Sim
Rv vs. Tc	4.066	3	1.772	0.428	Não
Rv vs. Hr	2.860	2	1.247	0.382	Não
Hr vs. Tc	1.206	2	0.526	0.712	Não

As comparações entre as diferentes amostras de vegetação que sofreu lavagem, na maioria dos casos são significativas.

3.5.1.4 Vegetação não lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo, recolhida no Alcaide.

Tabela 3.12: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas no Alcaide.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	5	4136.950	827.390	27.035	<0.001
Residual	54	1652.631	30.604		
Total	59	5789.581			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparações por fator:

Tabela 3.13: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas no Alcaide.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Mp vs. Tc	24.713	6	14.126	<0.001	Sim
Mp vs. Hr	23.873	5	13.646	<0.001	Sim
Mp vs. Rv	17.047	4	9.744	<0.001	Sim
Mp vs. Pu	15.242	3	8.713	<0.001	Sim
Mp vs. Lp	11.491	2	6.568	<0.001	Sim
Lp vs. Tc	13.222	5	7.558	<0.001	Sim
Lp vs. Hr	12.382	4	7.078	<0.001	Sim
Lp vs. Rv	5.556	3	3.176	0.073	Não
Lp vs. Pu	3.752	2	2.144	0.135	Não
Pu vs. Tc	9.471	4	5.414	0.002	Sim
Pu vs. Hr	8.631	3	4.934	0.003	Sim

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Pu vs. Rv	1.804	2	1.031	0.469	Não
Rv vs. Tc	7.666	3	4.382	0.009	Sim
Rv vs. Hr	6.826	2	3.902	0.008	Sim
Hr vs. Tc	0.840	2	0.480	0.736	Não

No que toca à vegetação não lavada, as comparações demonstram na maioria dos casos diferenças significativas.

3.5.1.5 Solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhido no Alcaide.

Tabela 3.14: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas no Alcaide.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	5	28727.018	5745.404	28.335	<0.001
Residual	54	10949.463	202.768		
Total	59	39676.480			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparações por fator:

Tabela 3.15: Comparações por fator relativo ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas no Alcaide.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Pu vs. Rv	62.266	6	13.828	<0.001	Sim
Pu vs. Lp	54.137	5	12.022	<0.001	Sim
Pu vs. Tc	45.093	4	10.014	<0.001	Sim
Pu vs. Mp	25.920	3	5.756	<0.001	Sim
Pu vs. Hr	16.000	2	3.553	0.015	Sim

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Hr vs. Rv	46.265	5	10.274	<0.001	Sim
Hr vs. Lp	38.137	4	8.469	<0.001	Sim
Hr vs. Tc	29.092	3	6.461	<0.001	Sim
Hr vs. Mp	9.920	2	2.203	0.125	Não
Mp vs. Rv	36.346	4	8.072	<0.001	Sim
Mp vs. Lp	28.217	3	6.266	<0.001	Sim
Mp vs. Tc	19.173	2	4.258	0.004	Sim
Tc vs. Rv	17.173	3	3.814	0.025	Sim
Tc vs. Lp	9.044	2	2.009	0.161	Não
Lp vs. Rv	8.129	2	1.805	0.207	Não

Aqui vemos que as comparações das concentrações de solos crivados correspondentes às diferentes espécies de cogumelos, na sua grande maioria, são significativas.

3.5.2 LOCAL B: Terlamonte

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos no segundo local de amostragem.

(Chave: *Lactarius deliciosus* – Ld; *Russula vesca* – Rv; *Tricholoma equestre* - Te)

3.5.2.1 Chapéu

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.

Tabela 3.16: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	293113.761	146556.881	4.998	0.014
Residual	27	791725.682	29323.173		
Total	29	1084839.443			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa (P = 0.014).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-

Keuls):

Comparações por fator:

Tabela 3.17: Comparações por fator relativo à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Te vs. Rv	236.980	3	4.376	0.012	Sim
Te vs. Ld	161.470	2	2.982	0.045	Sim
Ld vs. Rv	75.511	2	1.394	0.333	Não

Verifica-se que, quando o conteúdo em mercúrio das amostras de *L. deliciosus* são comparadas com as de *R. vesca*, não existe uma diferença estatisticamente significativa no que toca ao chapéu.

3.5.2.2 Pé

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.

Tabela 3.18: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	195761.413	97880.706	9.949	<0.001
Residual	27	265627.519	9838.056		
Total	29	461388.932			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.19: Comparações por fator relativo à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Terlamonte.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Te vs. Rv	197.761	3	6.305	<0.001	Sim
Te vs. Ld	104.542	2	3.333	0.026	Sim
Ld vs. Rv	93.219	2	2.972	0.045	Sim

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre todas as espécies para o pé.

3.5.2.3 Vegetação lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida em Terlamonte.

Tabela 3.20: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Terlamonte.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	0.334	0.167	0.0588	0.943
Residual	27	76.513	2.834		
Total	29	76.846			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.943$) entre as amostras de vegetação lavada.

3.5.2.4 Vegetação não lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida em Terlamonte.

Tabela 3.21: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem)

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Terlamonte

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	104.389	52.194	5.480	0.010
Residual	27	257.161	9.524		
Total	29	361.550			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.010$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.22: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas em Terlamonte.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Rv vs. Ld	4.316	3	4.422	0.011	Sim
Rv vs. Te	3.457	2	3.543	0.019	Sim
Te vs. Ld	0.858	2	0.879	0.539	Não

Verifica-se que quando as amostras recolhidas na canópia que cobre as zonas de recolha de amostras de *T. equestre* e *L. deliciosus* são comparadas não existe uma diferença estatisticamente significativa no que toca à vegetação não lavada.

3.5.2.5 Solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhido em Terlamonte.

Tabela 3.23: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Terlamonte.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	90.549	45.274	2.122	0.139
Residual	27	575.956	21.332		
Total	29	666.505			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.139$) entre os solos recolhidos em associação com os cogumelos para este local.

3.5.3 LOCAL C: Capinha

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos no terceiro local de amostragem.

(Chave: *Lactarius deliciosus* – Ld; *Russula vesca* – Rv; *Tricholoma equestre*- Te; *Tricholoma portentosum* - Tp)

3.5.3.1 Chapéu

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.

Tabela 3.24: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	8811553.318	2937184.439	1496.100	<0.001
Residual	36	70676.198	1963.228		
Total	39	8882229.515			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.25: Comparações por fator relativo à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
------------	---------------------	---	---	---	---------

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Te vs. Rv	1152.434	4	82.249	<0.001	Sim
Te vs. Tp	1106.930	3	79.001	<0.001	Sim
Te vs. Ld	950.882	2	67.864	<0.001	Sim
Ld vs. Rv	201.552	3	14.385	<0.001	Sim
Ld vs. Tp	156.048	2	11.137	<0.001	Sim
Tp vs. Rv	45.504	2	3.248	0.028	Sim

Verifica-se a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações de mercúrio para o chapéu de todas as espécies recolhidas neste local.

3.5.3.2 Pé

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.

Tabela 3.26: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	2243230.895	747743.632	194.267	<0.001
Residual	36	138565.889	3849.052		
Total	39	2381796.784			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.27: Comparações por fator relativo à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Capinha.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	$P < 0.050$
Te vs. Rv	581.560	4	29.643	<0.001	Sim
Te vs. Tp	564.144	3	28.755	<0.001	Sim
Te vs. Ld	466.743	2	23.790	<0.001	Sim
Ld vs. Rv	114.818	3	5.852	<0.001	Sim

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Ld vs. Tp	97.401	2	4.965	0.001	Sim
Tp vs. Rv	17.417	2	0.888	0.534	Não

Verifica-se que, ao contrário das restantes comparações, quando as amostras do pé de *T. equestre* e *R. vesca* são comparadas não existe uma diferença estatisticamente significativa.

3.5.3.3 Vegetação lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida em Capinha.

Tabela 3.28: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Capinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	3.194	1.065	0.726	0.543
Residual	36	52.788	1.466		
Total	39	55.982			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.543$) entre as amostras de vegetação lavada.

3.5.3.4 Vegetação não lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida em Capinha.

Tabela 3.29: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Capinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	5.088	1.696	3.787	0.019
Residual	36	16.120	0.448		

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Total	39	21.207
-------	----	--------

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.019$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.30: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas em Capinha.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Ld vs. Tp	0.994	4	4.699	0.011	Sim
Ld vs. Te	0.625	3	2.954	0.107	Não
Ld vs. Rv	0.471	2	2.224	0.125	Não
Rv vs. Tp	0.524	3	2.475	0.201	Não
Rv vs. Te	0.154	2	0.730	0.609	Não
Te vs. Tp	0.369	2	1.745	0.225	Não

Todas as comparações são estatisticamente não significativas no que toca à vegetação não lavada, com a exceção da comparação entre *L. deliciosus* e *T. portentosum*.

3.5.3.5 Solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhido em Capinha.

Tabela 3.31: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Capinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	122.286	40.762	0.714	0.550
Residual	36	2053.958	57.054		
Total	39	2176.244			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem

aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.550$) entre os solos recolhidos em associação com as diferentes espécies de cogumelos.

3.5.4 LOCAL D: Moreirinha

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos no quarto local de amostragem.

(Chave: *Lactarius deliciosus* – Ld; *Russula vesca* – Rv; *Tricholoma equestre*– Te; *Tricholoma portentosum* – Tp)

3.5.4.1 Chapéu

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.

Tabela 3.32: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	14643241.201	4881080.400	4.981	0.005
Residual	36	35280290.587	980008.072		
Total	39	49923531.788			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.005$) entre o chapéu das diferentes espécies.

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.33: Comparações por fator relativo à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Te vs. Rv	1493.420	4	4.771	0.009	Sim

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Te vs. Tp	1408.612	3	4.500	0.008	Sim
Te vs. Ld	1243.257	2	3.971	0.008	Sim
Ld vs. Rv	250.163	3	0.799	0.839	Não
Ld vs. Tp	165.355	2	0.528	0.711	Não
Tp vs. Rv	84.809	2	0.271	0.849	Não

O chapéu da espécie *T. equestre* demonstra diferenças estatisticamente significativas para qualquer uma das restantes espécies, já não se verificando o mesmo entre estas.

3.5.4.2 Pé

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.

Tabela 3.34: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	5138135.185	1712711.728	4.869	0.006
Residual	36	12662113.612	351725.378		
Total	39	17800248.797			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.006$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.35: Comparações por fator relativo à zona do pé do cogumelo, de todas as amostras recolhidas em Moreirinha.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Te vs. Rv	881.246	4	4.699	0.011	Sim
Te vs. Tp	855.079	3	4.559	0.008	Sim
Te vs. Ld	699.884	2	3.732	0.012	Sim
Ld vs. Rv	181.361	3	0.967	0.774	Não
Ld vs. Tp	155.195	2	0.828	0.562	Não

Tp vs. Rv	26.167	2	0.140	0.922	Não
-----------	--------	---	-------	-------	-----

Verifica-se o mesmo cenário para o pé que o verificado para as comparações relativamente ao conteúdo de mercúrio presente no chapéu.

3.5.4.3 Vegetação lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida em Moreirinha.

Tabela 3.36: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Moreirinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	61.710	20.570	2.286	0.095
Residual	36	323.987	9.000		
Total	39	385.697			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.095$) entre as amostras de vegetação recolhidas e posteriormente lavadas.

3.5.4.4 Vegetação não lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida em Moreirinha.

Tabela 3.37: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Moreirinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	290.806	96.935	10.242	<0.001
Residual	36	340.733	9.465		
Total	39	631.539			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.38: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas em Moreirinha.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Tp vs. Te	6.647	4	6.832	<0.001	Sim
Tp vs. Rv	1.398	3	1.437	0.572	Não
Tp vs. Ld	0.227	2	0.233	0.870	Não
Ld vs. Te	6.420	3	6.599	<0.001	Sim
Ld vs. Rv	1.171	2	1.203	0.401	Não
Rv vs. Te	5.249	2	5.396	<0.001	Sim

Mais uma vez a espécie *T. equestre* se destaca das restantes espécies ao ser a única que apresenta, para a vegetação lavada recolhida na canópis suprajacente, diferenças estatisticamente significativas para as restantes amostras correspondentes às outras espécies presentes neste local.

3.5.4.5 Solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida em Moreirinha.

Tabela 3.39: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos, recolhidas em Moreirinha.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	1048.204	349.401	5.031	0.005
Residual	36	2500.003	69.445		
Total	39	3548.207			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa (P = 0.005).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-

Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.40: Comparações por fator relativo ao solo, correspondente a todas as amostras de cogumelos recolhidas em Moreirinha.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
Rv vs. Te	13.236	4	5.023	0.006	Sim
Rv vs. Tp	10.095	3	3.831	0.027	Sim
Rv vs. Ld	4.280	2	1.624	0.258	Não
Ld vs. Te	8.955	3	3.398	0.055	Não
Ld vs. Tp	5.814	2	2.206	0.128	Não
Tp vs. Te	3.141	2	1.192	0.405	Não

Maioritariamente não se registam diferenças estatisticamente significativas no tocante aos solos. A exceção é a espécie *R. vesca*, que possui diferenças para as duas espécies do género *Tricholoma* presentes no local.

3.5.5 ANOVA: *Lactarius deliciosus*

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos para a espécie *Lactarius deliciosus* nos diferentes locais de amostragem e a comparação de resultados entre eles.

(Chave: B- Terlamonte; C- Capinha; D- Moreirinha)

3.5.5.1 Chapéu

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, das amostras recolhidas em todos os locais, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Tabela 3.41: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, das amostras recolhidas em todos os locais, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	53589.616	26794.808	1.477	0.246
Residual	27	489718.346	18137.717		

Total	29	543307.962
-------	----	------------

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.246$) para a concentração de mercúrio no chapéu da espécie *L. deliciosus* entre os espécimes recolhidos nos diferentes locais de amostragem.

3.5.5.2 Pé

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Tabela 3.42: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, das amostras recolhidas em todos os locais, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	39567.708	19783.854	2.238	0.126
Residual	27	238729.061	8841.817		
Total	29	278296.769			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há à semelhança do chapéu, uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.126$) para o pé, entre amostras da espécie recolhidas nos diferentes locais.

3.5.5.3 Vegetação Lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Tabela 3.43: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	228.081	114.040	67.387	<0.001

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Residual	27	45.693	1.692
Total	29	273.774	

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.44: Comparações por fator relativo à vegetação (que sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de *Lactarius deliciosus*, recolhidas nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
D vs. C	6.183	3	15.030	<0.001	Sim
D vs. B	5.445	2	13.237	<0.001	Sim
B vs. C	0.738	2	1.793	0.216	Não

No tocante à vegetação lavada verificou-se a inexistência de uma diferença estatisticamente significativa entre Terlamonte e Capinha.

3.5.5.4 Vegetação não lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Tabela 3.45: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	368.053	184.026	17.276	<0.001
Residual	27	287.611	10.652		
Total	29	655.663			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.46: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de *Lactarius deliciosus*, recolhidas nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
D vs. C	7.788	3	7.545	<0.001	Sim
D vs. B	7.012	2	6.794	<0.001	Sim
B vs. C	0.776	2	0.752	0.600	Não

De forma semelhante à vegetação lavada verificou-se a inexistência de uma diferença estatisticamente significativa entre Terlamonte e Capinha para as amostras de vegetação não lavada recolhidas sobre a espécie *L. deliciosus*.

3.5.5.5 Solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Tabela 3.47: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Lactarius deliciosus*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	289.992	144.996	2.229	0.127
Residual	27	1756.658	65.061		
Total	29	2046.649			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.127$) entre os solos adjacentes à espécie *L. deliciosus* nos diferentes locais de amostragem.

3.5.6 ANOVA: *Russula vesca*

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos para a espécie *Russula vesca* nos diferentes locais de amostragem e a comparação de resultados entre eles.

(Chave: A- Alcaide; B- Terlamonte; C- Capinha; D- Moreirinha)

3.5.6.1 Chapéu

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Russula vesca*.

Tabela 3.48: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Russula vesca*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	31955.702	10651.901	3.052	0.041
Residual	36	125646.989	3490.194		
Total	39	157602.692			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.041$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.49: Comparações por fator relativo à zona do chapéu, correspondente a todas as amostras recolhidas, da espécie *Russula vesca* nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
B vs. D	71.536	4	3.829	0.048	Sim
B vs. C	66.507	3	3.560	0.042	Sim
B vs. A	49.062	2	2.626	0.072	Não
A vs. D	22.473	3	1.203	0.674	Não
A vs. C	17.444	2	0.934	0.513	Não
C vs. D	5.029	2	0.269	0.850	Não

Maioritariamente, o chapéu da espécie *R. vesca* não registou diferenças estatisticamente significativas para a concentração de mercúrio entre os diferentes locais. No entanto o inverso registou-se ao comparar Terlamonte com Capinha e Moreirinha.

3.5.6.2 Pé

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Russula vesca*.

Tabela 3.50: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Russula vesca*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	802.501	267.500	31.409	<0.001
Residual	36	306.602	8.517		
Total	39	1109.103			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.51: Comparações por fator relativo à zona do pé, correspondente a todas as amostras recolhidas, da espécie *Russula vesca* nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
A vs. D	11.607	4	12.577	<0.001	Sim
A vs. B	10.034	3	10.872	<0.001	Sim
A vs. C	6.081	2	6.589	<0.001	Sim
C vs. D	5.526	3	5.988	<0.001	Sim
C vs. B	3.953	2	4.283	0.005	Sim
B vs. D	1.573	2	1.705	0.236	Não

Ao invés do ocorreu para o chapéu, o pé da espécie *R. vesca* registou diferenças

estatisticamente significativas para a concentração de mercúrio entre os diferentes locais, com a única exceção a ocorrer ao comparar Terlamonte com Moreirinha.

3.5.6.3 Vegetação Lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Russula vesca*.

Tabela 3.52: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Russula vesca*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	122.008	40.669	20.580	<0.001
Residual	36	71.143	1.976		
Total	39	193.151			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls).

Comparação por fator:

Tabela 3.53: Comparações por fator relativo à vegetação (que sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de *Russula vesca*, recolhidas nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
A vs. C	4.289	4	9.649	<0.001	Sim
A vs. B	2.785	3	6.265	<0.001	Sim
A vs. D	0.451	2	1.014	0.478	Não
D vs. C	3.838	3	8.635	<0.001	Sim
D vs. B	2.334	2	5.251	<0.001	Sim
B vs. C	1.504	2	3.384	0.022	Sim

No caso da vegetação lavada só não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre o Alcaide e Moreirinha.

3.5.6.4 Vegetação não lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Russula vesca*.

Tabela 3.54: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Russula vesca*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	2251.324	750.441	14.937	<0.001
Residual	36	1808.678	50.241		
Total	39	4060.002			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.55: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de *Russula vesca*, recolhidas nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
D vs. A	19.965	4	8.907	<0.001	Sim
D vs. B	13.030	3	5.813	<0.001	Sim
D vs. C	5.881	2	2.624	0.072	Não
C vs. A	14.084	3	6.283	<0.001	Sim
C vs. B	7.149	2	3.189	0.030	Sim
B vs. A	6.935	2	3.094	0.035	Sim

No caso da vegetação não lavada, somente na comparação entre Moreirinha e a Capinha não se registou uma diferença estatisticamente significativa.

3.5.6.5 Solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Russula vesca*.

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Tabela 3.56: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Russula vesca*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	3	1799.501	599.834	87.778	<0.001
Residual	36	246.007	6.834		
Total	39	2045.508			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.57: Comparações por fator relativo ao solo, correspondentes a cogumelos da espécie *Russula vesca*, nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
A vs. C	18.458	4	22.329	<0.001	Sim
A vs. B	12.896	3	15.600	<0.001	Sim
A vs. D	11.371	2	13.755	<0.001	Sim
D vs. C	7.088	3	8.574	<0.001	Sim
D vs. B	1.526	2	1.845	0.200	Não
B vs. C	5.562	2	6.728	<0.001	Sim

No caso dos solos, somente na comparação entre Moreirinha e Terlamonte não se registou uma diferença estatisticamente significativa.

3.5.7 ANOVA: *Tricholoma equestre*

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos para a espécie *Tricholoma equestre* nos diferentes locais de amostragem e a comparação de resultados entre eles.

(Chave: B- Terlamonte; C- Capinha; D- Moreirinha)

3.5.7.1 Chapéu

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Tricholoma equestre*.

Tabela 3.58: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Tricholoma equestre*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	7458587.255	3729293.628	2.836	0.076
Residual	27	35509881.245	1315180.787		
Total	29	42968468.500			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.076$) para o chapéu de *T. equestre* entre os diferentes locais de amostragem.

3.5.7.2 Pé

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Tricholoma equestre*.

Tabela 3.59: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé, de todas as amostras recolhidas, da espécie *Tricholoma equestre*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	2339614.569	1169807.285	2.463	0.104
Residual	27	12822463.308	474906.048		
Total	29	15162077.878			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.104$) para o pé de *T. equestre* entre os diferentes locais de amostragem.

3.5.7.3 Vegetação Lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Tricholoma equestre*.

Tabela 3.60: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Tricholoma equestre*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	157.917	78.958	33.094	<0.001
Residual	27	64.418	2.386		
Total	29	222.335			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = <0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.61: Comparações por fator relativo à vegetação (que sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de *Tricholoma equestre*, recolhidas nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
D vs. C	5.493	3	11.246	<0.001	Sim
D vs. B	3.774	2	7.726	<0.001	Sim
B vs. C	1.719	2	3.520	0.019	Sim

Verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre todos os locais de amostragem de vegetação lavada que se encontrava na cobertura de *T. equestre*.

3.5.7.4 Vegetação não lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Tricholoma equestre*.

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

Tabela 3.62: Análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Tricholoma equestre*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	30.486	15.243	5.199	0.012
Residual	27	79.165	2.932		
Total	29	109.651			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.012$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.63: Comparações por fator relativo à vegetação (que não sofreu lavagem), correspondente a todas as amostras de *Tricholoma equestre*, recolhidas nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P < 0.050
B vs. C	2.259	3	4.172	0.017	Sim
B vs. D	0.266	2	0.491	0.731	Não
D vs. C	1.993	2	3.681	0.015	Sim

Não se verifica uma diferença estatisticamente significativa quando se procede à comparação de vegetação não lavada recolhida em Terlamonte e Moreirinha.

3.5.7.5 Solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Tricholoma equestre*.

Tabela 3.64: Análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *Tricholoma equestre*.

Fonte de Variação	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	440.648	220.324	8.924	0.001
Residual	27	666.607	24.689		
Total	29	1107.255			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado ao acaso; há uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0.001$).

Todos os procedimentos de comparação múltipla de pares (Método Student-Newman-Keuls):

Comparação por fator:

Tabela 3.65: Comparações por fator relativo ao solo, correspondentes a cogumelos da espécie *Tricholoma equestre*, nos diferentes locais.

Comparação	Diferença de médias	p	q	P	P<0.050
C vs. B	9.079	3	5.778	0.001	Sim
C vs. D	6.608	2	4.206	0.006	Sim
D vs. B	2.471	2	1.572	0.276	Não

À semelhança da vegetação não lavada, não se verifica uma diferença estatisticamente significativa quando se procede à comparação de solos recolhidos em associação com *T. equestre* em Terlamonte e Moreirinha.

3.5.8 ANOVA: *Tricholoma portentosum*

(Chave: C - Capinha; D - Moreirinha)

3.5.8.1 Chapéu

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do chapéu, de todas as amostras recolhidas, da espécie *T. portentosum* para o qual foi utilizado o teste-t, uma vez que a espécie só foi recolhida em dois locais (Capinha e Moreirinha).

O valor de P bilateral foi de 0.0242, e o unilateral 0.0121, o que indica uma diferença estatisticamente significativa entre os níveis de mercúrio nos chapéus de espécimes recolhidos nos dois locais.

3.5.8.2 Pé

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à zona do pé, de todas as amostras recolhidas, da espécie *T. portentosum*.

O valor de P bilateral foi de 0.664, e o unilateral 0.332, o que indica não haver uma diferença estatisticamente significativa entre os níveis de mercúrio nos pés de espécimes recolhidos nos dois locais.

3.5.8.3 Vegetação Lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *T. portentosum*.

O valor de P bilateral foi de 0.001, e o unilateral 0.0006, o que indica uma diferença estatisticamente significativa entre os níveis de mercúrio na vegetação recolhida nos dois locais e depois lavada.

3.5.8.4 Vegetação não lavada

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos à vegetação (que não sofreu lavagem) associada a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *T. portentosum*.

À semelhança da vegetação lavada, a não lavada registou uma diferença estatisticamente significativa (unilateral: $P < 0.0001$ e bilateral: $P < 0.0001$) entre os níveis de mercúrio presentes nas amostras.

3.5.8.5 Solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados obtidos, relativos ao solo, associado a cada amostra de cogumelo recolhida, da espécie *T. portentosum*.

Os solos não registaram diferenças estatisticamente significativas entre amostras dos dois locais (unilateral: $P = 0.413$ e bilateral: $P = 0.826$).

3.5.9 pH do solo

Aqui encontra-se a análise estatística dos dados relativos ao pH das amostras de solo recolhidas.

(Chave: A – Alcaide; B – Terlamonte; C – Capinha; D – Moreirinha)

“One Way” ANOVA

Tabela 3.66: Dados estatísticos relativos ao pH das amostras de solo recolhidas nos diferentes locais.

Grupo	N	Em falta	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão
Local A	8	0	5.457	0.654	0.231
Local B	13	0	5.740	0.222	0.0617
Local C	12	0	5.820	0.245	0.0708
Local D	12	0	5.440	0.346	0.0999

Tabela 3.67: Análise estatística dos dados relativos ao pH das amostras de solo recolhidas.

Fonte de variação	DF	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	1.264	0.421	3.103	0.057
Residual	41	5.567	0.136		
Total	44	6.831			

As diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são grandes o suficiente para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória; não há diferença estatisticamente significativa ($P = 0,037$).

Correlações

Não existe correlação (Spearman’s Rho) entre o local e o pH médio ($\rho = -0.05$; $p = 0.744$).

Não existe correlação (Spearman’s Rho) entre espécies e pH médio ($\rho = -0.041$; $p = 0.790$).

Capítulo 4 Discussão

Como dito anteriormente, o objetivo central deste estudo é descrever os níveis de mercúrio de cogumelos selvagens, bem como amostras de solo e vegetação, recolhidas em associação com essas amostras. À luz dos resultados obtidos, nesta secção, são discutidos estes mesmos resultados, enquadrando o problema em estudo.

4.1.1 Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos comerciais

Verifica-se facilmente, olhando para o gráfico da Figura 3.1, que tal como vastamente reportado na literatura^{11,27,31,35,40,62}, todas as amostras de cogumelos apresentaram uma concentração de mercúrio superior na zona do chapéu, em relação à zona do pé. A diferença para além de notória, seria expectável, já que a zona do chapéu é uma zona de divisão celular muito mais ativa do que a zona do pé^{11,27,31,35,40,62,80}.

Observando o gráfico da Figura 3.1, de entre todas as amostras estudadas, a C5 e a C8 encontram-se em extremos opostos. A amostra C5 (correspondente a cogumelos marron biológico - *Agaricus bisporus*), para os quais se obtiveram os níveis de mercúrio mais baixos (chapéu: 47,4 ng/g; pé: 36,7 ng/g). Por outro lado, a amostra C8 (correspondente a cogumelos Shimeji Castanho - *Hypsizyguis marmoreus* - provenientes da China), apresenta os níveis de mercúrio mais baixos (chapéu: 7,7 ng/g; pé: 6,6 ng/g).

Tabela 4.1: Quantidade (em kg em peso húmido peso húmido) de cada espécie de cogumelos comercialmente disponíveis que um adulto de 70 kg necessitaria de consumir para atingir o consumo semanal tolerável (TWI= 4 µg/kg).

Código da espécie	Chapéu (kg em peso húmido)	Pé (kg em peso húmido)
C1	279,28	346,26
C2	92,10	285,95
C3	220,93	239,96
C4	392,15	616,64
C5	62,96	78,05
C6	373,45	339,96
C7	211,11	356,98
C8	373,84	462,04
C9	93,62	445,31

Apesar da amostra C5 ter apresentado os níveis mais elevados de mercúrio, seria necessário consumir uma grande quantidade daqueles cogumelos para atingir consumo semanal

tolerável (TWI – *Tolerable Weekly Intake*), que é de 4 µg/kg. Isto é possível de observar na Tabela 4.1, onde são apresentadas as quantidades (kg em peso húmido) de cada espécie de cogumelo que um adulto de 70 kg necessita consumir para atingir este consumo semanal tolerável.

Posto isto, pode dizer-se que a menos que se ultrapassem as quantidades descritas nesta tabela, o consumo destas espécies não deverá acarretar riscos para o consumidor, mesmo no caso da espécie C5 que apresentou a concentração de mercúrio mais alta de todas as amostras analisadas.

4.1.2 Concentrações de mercúrio total nas amostras de cogumelos selvagens

Na Figura 3.2, facilmente se identifica a espécie que apresentou concentrações de mercúrio mais altas, i.e., *Tricholoma equestre*. Esta espécie, muito conhecida e apreciada localmente, apresenta por comparação com as restantes, níveis muito elevados de mercúrio (chapéu: 812 ng/g; pé: 460 ng/g). Dadas as concentrações registadas, a ingestão de *Tricholoma equestre* leva a que mais facilmente se atinja o valor de TWI, para tal bastando a ingestão de 3,40 kg da zona do chapéu ou 6,53 kg da zona do pé, como pode ser verificado na Tabela 4.2. Ainda assim esta facilidade é relativa uma vez que a massa a consumir (mais de 3 kg de chapéu e mais de 6kg de pé) é apreciável. Em termos comparativos, uma embalagem comercial contém, em média, 300g de cogumelos.

Nesta tabela podemos ainda verificar que para as restantes espécies (*Tricholoma portentosum*, *Lactarius deliciosus* e *Russula vesca*) as quantidades necessárias para atingir a dose de referência são muito superiores às indicadas para *Tricholoma equestre*.

A Tabela 4.2 mostra a quantidade que é necessário ingerir de cada espécie de cogumelos selvagens para atingir o consumo semanal tolerável (TWI) de 4 µg/kg.

Tabela 4.2: Quantidade (em kg em peso húmido) de cada espécie de cogumelos selvagens amostrados que um adulto de 70 kg necessitaria de consumir para atingir o consumo semanal tolerável (TWI= 4 µg/kg).

Espécie	Chapéu (kg em peso húmido)	Pé (kg em peso húmido)
<i>Tricholoma equestre</i>	3,40	6,53
<i>Tricholoma portentosum</i>	31,24	89,39
<i>Lactarius deliciosus</i>	10,45	16,82
<i>Russula vesca</i>	76,86	262,34

Pode assim afirmar-se que, a menos que as quantidades descritas na Tabela 4.2 sejam ultrapassadas, o consumo destas espécies não deverá acarretar riscos para o consumidor (considerando que estas seja esta a única fonte alimentar de mercúrio). Torna-se evidente que a espécie *Tricholoma equestre* deve ser encarada de forma diferente, e o seu consumo deve ser limitado ou até mesmo cessado, já que uma quantidade relativamente pequena é suficiente para atingir o valor da dose de referência.

Ainda na Figura 3.2, observa-se que a espécie para a qual se obtiveram os níveis mais baixos de mercúrio foi a *Russula vesca*, uma espécie pouco conhecida localmente. Um bom conselho para os apreciadores de cogumelos selvagens seria o de optarem por esta espécie em detrimento de *Tricholoma equestre*, por forma a reduzir a exposição a mercúrio.

Para a espécie *Russula vesca*, foi em Moreirinha que se obtiveram amostras com a concentração mais baixa de mercúrio, apesar de no geral as concentrações desta espécie serem todas baixas. Pode dizer-se que, apreciadores desta espécie poderão futuramente apanhar esta espécie para consumo, em qualquer um dos quatro locais de recolha aqui reportados.

No que diz respeito à espécie *Lactarius deliciosus*, foi em Terlamonte que se obtiveram amostras com a concentração mais baixa de mercúrio. Para futuras recolhas para consumo é aconselhável optar por recolher esta espécie em Terlamonte, apesar de os níveis reportados em Moreirinha e em Capinha não serem muito superiores aos de Terlamonte, é sempre preferível optar por onde a concentração de mercúrio é mais baixa.

No que toca à espécie *Tricholoma portentosum*, as amostras com as concentrações mais baixas de mercúrio foram recolhidas em Capinha. A melhor opção para recolher esta espécie para consumo será então, Capinha, em alternativa, recolher em Moreirinha, já que os níveis de mercúrio são apenas, ligeiramente superiores.

Tal como se obteve para os cogumelos comerciais e em concordância com o descrito na literatura, também para estas quatro espécies de cogumelos selvagens, a concentração de mercúrio foi sempre superior na zona do chapéu em relação à zona do pé.

Na Figura 3.3 pode observar-se a distribuição do mercúrio por local de amostragem, apurada através da determinação da concentração média de todas as amostras de todas as espécies recolhidas naquele local.

Por uma questão de exercício, no gráfico da Figura 3.3 foram incluídas as espécies

recolhidas na campanha inicial (*Lycoperdon perlatum*, *Macrolepiota procera*, *Hydnum repandum*, *Tricholoma colossus* e uma espécie que não foi possível identificar) e que, como anteriormente explicado, não tiveram seguimento no estudo. Quando estas espécies, recolhidas no Alcaide, são tidas em conta, observa-se que é neste local de amostragem que se verificam os níveis de mercúrio mais elevados.

Se a análise for realizada sem estas espécies (o que é lógico, dada a ausência de amostragem noutros locais), esta realidade deixa de se verificar. Isto deve-se ao facto de só as amostras de *Russula vesca*, lá recolhidas, passarem a ser consideradas. Sendo que esta espécie é aquela que apresenta os níveis mais baixos de mercúrio de entre todas as analisadas, a variação drástica fica explicada.

Desta forma, o local de amostragem com níveis de mercúrio mais elevados é Capinha, seguido de Moreirinha que tem os níveis médios de mercúrio muito próximos, tal como se pode observar no gráfico da Figura 3.4.

Relativamente espécie *Tricholoma equestre*, a que apresentou níveis mais altos de mercúrio de todas as espécies deste estudo, o ideal seria não consumir de todo, não sendo isso possível, os apreciadores deverão optar por apanhar esta espécie em Terlamonte, onde os níveis de mercúrio foram mais baixos, e limitar bastante o seu consumo.

Regra geral para qualquer cogumelo de qualquer espécie: será sempre preferível optar por consumir o pé dos cogumelos em vez do chapéu, já que o chapéu tem sempre (salvo raras exceções) concentrações superiores, como se pode comprovar pelo gráfico da Figura 3.5.

4.1.3 Valores de mercúrio total obtidos para solos crivados e não crivados

Analisando a Figura 3.6 verificamos que a maioria das amostras apresenta uma concentração de mercúrio superior quando é crivada a 2 mm. No entanto há algumas amostras em que isso não se verifica, nessas amostras a diferença não é muita, salvo três amostras (S070; S074; S093) em que a diferença já é mais notória, sendo a concentração da amostra não crivada, superior à correspondente amostra crivada.

Quando se criva uma amostra de solo, ocorre uma exclusão de pequenas pedras e partículas de maiores dimensões. Estas têm uma capacidade inferior de sequestrar metais, comparativamente, às partículas de menores dimensões, também presentes na amostra e

com as quais a parte micelar dos cogumelos irá estabelecer relações prioritariamente em termos de troca. Após crivar a amostra, esta fica constituída por partículas menores, que possuindo maior capacidade de sequestração de metais conduzem ao aumento das concentrações das amostras.

Crivar as amostras traz uma vantagem adicional: permite uma comparação mais correta, das amostras recolhidas em diferentes locais, já que se obtêm amostras uniformes, logo, comparáveis entre locais.

No que diz respeito às amostras em que a concentração na fração não crivada é superior à da fração crivada, nestes casos o que poderá ter ocorrido será a recolha conjuntamente com as amostras de solo de materiais (nomeadamente matéria orgânica (húmus), que possui também uma elevada capacidade de sequestração), com índices de contaminação mais elevados devido a possuírem uma capacidade de sequestração de metais superior, resultando numa concentração de mercúrio superior à do material crivado.

As amostras de solo para as quais se obtiveram concentrações de mercúrio mais elevadas (S017, S093, S099) dizem respeito às amostras de cogumelos correspondentes: C017 - espécie que não foi possível identificar; C093 - *Hydnum repandum*; C099 - *Macrolepiota procera* (ainda juvenil).

Todas estas espécies correspondem a amostras recolhidas no Alcaide, onde se registaram as concentrações de mercúrio mais elevadas (considerando todos as espécies lá recolhidas), como já foi referido previamente.

Tal como anteriormente, incluíram-se no gráfico da Figura 3.7 as amostras de solo referentes às espécies recolhidas na primeira campanha. Aqui também o Alcaide se mostrou como o local com níveis mais altos de mercúrio, ao passo que Terlamonte apresentou os níveis mais baixos.

O gráfico da Figura 3.8 mostra as concentrações de mercúrio total obtidas para os solos, considerando apenas amostras recolhidas que correspondem às quatro espécies de cogumelos em que o estudo se focou principalmente. Terlamonte apresenta, novamente, os níveis mais baixos, enquanto que em Moreirinha se verificam os valores de maior concentração para solo crivado, enquanto que, no Alcaide se verifica o valor mais elevado para solos não crivados.

4.1.4 Concentração de mercúrio total em cogumelos selvagens VS concentração do solo subjacente correspondente

Na Tabela 3.5 podemos comparar as concentrações de mercúrio obtidas nas amostras de cogumelos recolhidas, com as concentrações do solo correspondente, recolhido no local subjacente ao cogumelo. Esta tabela apresenta, também, os valores referentes ao fator de bioconcentração, este fator, como já foi mencionado na secção 1.1.6, permite diferenciar uma espécie acumuladora ou excludora de metais. Era expectável que, tal como descrito vastamente na literatura^{27,62,71,81-88}, todas (ou praticamente todas) as amostras de cogumelos apresentassem $BCF > 1$ (acumuladores), isto verificou-se neste estudo.

As amostras que apresentam $BCF < 1$ (excludoras) são muito poucas relativamente às que apresentam $BCF > 1$ (acumuladoras), estas estão assinaladas a negrito na Tabela 3.3.

Isto demonstra e confirma o potencial de bioacumulação de metais como o mercúrio, descrito na literatura, por este organismo, os cogumelos.

4.1.5 Valores obtidos na medição do pH dos solos

O valor mínimo de pH obtido foi de 4,5 (ácido) correspondente à amostra de cogumelo C093 (*Hydnum repandum*), e valor máximo foi de 6,4 (ácido) correspondente à amostra de cogumelo C016 (*Macrolepiota procera*). Ambas as amostras foram recolhidas em Alcaide e correspondem às espécies que não foram contempladas para entrar no estudo.

O valor médio de pH de todas as medições feitas, de todas as amostras foi de 5,6. Isto mostra que, maioritariamente, os cogumelos das espécies estudadas, dão-se em solos ácidos, com o valor de pH sempre a rondar os 5.

Na análise estatística, verificou-se que não existe correlação entre o local e o pH médio do solo, bem como entre espécies e o pH médio do solo.

4.1.6 Concentrações de mercúrio total nas amostras de vegetação

Era expectável que as amostras que passassem por uma lavagem prévia à quantificação de

mercúrio apresentassem níveis inferiores relativamente à mesma amostra que não passasse pela lavagem. Isto porque a lavagem com água destilada remove traços de mercúrio que se possam ter depositado no exterior da vegetação, permitindo assim que a quantificação de mercúrio considerasse apenas o mercúrio sistémico da planta, não considerando aquele proveniente da deposição atmosférica do mercúrio. Isto verificou-se em 23 de 46 amostras, em 19 amostras não se verificou, não estando de acordo com o que era esperado. Nas amostras em que isto não se verificou, algumas apresentam valores bastante próximos, no entanto, há outras em que a diferença é maior.

As restantes amostras apresentaram níveis muito próximos entre si, ou seja, nas condições com e sem lavagem com água destilada.

A deposição atmosférica de mercúrio comprovou-se em 23 de 46 casos analisados.

O valor mais alto de mercúrio verificou-se no Alcaide, o valor mais baixo em Capinha, quando se incluem as espécies da primeira campanha, como mostra o gráfico da Figura 3.9.

Quando não se incluem as amostras da primeira campanha, Capinha apresenta novamente os níveis mais baixos, ao passo que o Alcaide apresenta os níveis mais elevados. No entanto é preciso ter em conta que no gráfico da Figura 3.10 a barra correspondente ao Alcaide reflete apenas uma amostra de vegetação correspondente a uma amostra de *Russula vesca* lá recolhida, não podendo considerar isto como válido, o local que a seguir apresenta concentrações mais elevadas é Moreirinha.

4.1.7 Concentração de mercúrio total em cogumelos selvagens VS concentração da vegetação correspondente

Na Tabela 3.5 estão apresentados os valores de concentração de mercúrio das amostras de cogumelos e as suas amostras de vegetação correspondentes. Em todos os casos a vegetação apresentou valores de concentração de mercúrio, inferiores aos cogumelos. Isto demonstra que a vegetação tem um potencial inferior de captação de metais, comparativamente aos cogumelos.

4.2 Visão global dos resultados

Para todas as amostras verificou-se que a concentração de mercúrio de uma amostra de cogumelo selvagem era superior à concentração de mercúrio no solo subjacente, confirmando assim a capacidade de acumulação de metais pelos cogumelos, tendo também em conta que a matéria orgânica e a deposição atmosférica, são fatores determinantes da concentração de mercúrio no solo^{89,90}.

Todos os locais onde foram realizadas as campanhas de recolha, eram florestas, relativamente perto de estradas, mas nenhuma delas estava perto de outras fontes de elevada contaminação, como por exemplo zonas industriais e/ou urbanizações. Desta forma, tendo em conta que o Alcaide foi o local onde as concentrações de mercúrio, foram mais elevadas, leva a crer que, a deposição atmosférica, poderá ter tido um papel na contribuição para as elevadas concentrações de mercúrio, lá registadas.

Verifica-se também, o potencial de biorremediação e descontaminação de mercúrio do solo.

Tal como as concentrações de mercúrio nos solos correspondentes, as concentrações de mercúrio na vegetação também são inferiores às da amostra de cogumelo correspondente.

O gráfico da Figura 3.5 mostra-nos a distribuição das concentrações das várias espécies consoante o local de amostragem. Este gráfico mostra claramente que, tal como vastamente descrito na literatura existente^{11,27,31,35,40,62}, a concentração de mercúrio na zona do chapéu dos cogumelos é superior à concentração na respetiva zona do pé, isto verificou-se em todas as espécies de cogumelos em todos os locais de amostragem.

- Alcaide:

Relativamente ao Alcaide, verificou-se que a espécie dos cogumelos é um fator determinante da concentração de mercúrio na zona do chapéu, visto que as diferenças de concentrações médias, foram estatisticamente significativas. O mesmo não se passa para a zona do pé, já que metade das comparações entre espécie não são significativas. Isto indica que para a zona do pé, a espécie poderá não ser determinante da concentração de mercúrio.

Os dados relativos à vegetação recolhida no Alcaide, indicam que quando eliminamos a fração exterior, que está depositada sobre as folhas (e que inclui mercúrio depositado atmosféricamente), através de uma lavagem, leva a que a concentração de mercúrio nas

amostras de vegetação estar demonstrem concentrações maioritariamente diferentes de acordo com as áreas onde em coordenação com a recolha das espécies de cogumelos. Ao descartar-se o papel da deposição atmosférica, visto que, como dito anteriormente, a fração exterior é removida ressaltamos os conteúdos sistémicos da vegetação, que são obtidos a partir dos solos. Quando não se remove a fração exterior às amostras de vegetação, as comparações mostram diferenças significativas, o que indica também diferenças na deposição atmosférica do metal.

Quanto ao solo, os dados indicam que a concentração de mercúrio, está diretamente relacionada com a espécie de cogumelo junto ao qual foi recolhido. Isto indica e confirma que diferentes espécies de cogumelos têm diferentes potenciais de captação de mercúrio, influenciando as concentrações de metal disponível nas imediações do seu micélio. A isto acresce a observação acima mencionada de que existe também variabilidade intrínseca ao próprio solo em termos de concentrações de mercúrio, sendo esta refletida no conteúdo sistémico da vegetação da área (como comprovado nas análises da vegetação lavada).

- Terlamonte

Relativamente a Terlamonte, no que diz respeito aos chapéus, passa-se o mesmo que no Alcaide, existem diferenças significativas, à exceção de quando o conteúdo em mercúrio das amostras de *L. deliciosus* são comparadas com as de *R. vesca*, aqui não existe uma diferença estatisticamente significativa. Relativamente ao pé, as diferenças são todas estatisticamente significativas, para todas as espécies.

Os dados relativos à vegetação sem a fração exterior, não permitem inferir nada para além de uma uniformidade de concentrações de Hg no solo, já que as diferenças nos valores médios, entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória. Quando não se remove a fração exterior, verifica-se que quando *T. equestre* e *L. deliciosus* são comparadas, não existe uma diferença estatisticamente significativa o que aponta para alguma, mas não muito acentuada variação na deposição atmosférica.

No que diz respeito aos solos recolhidos em Terlamonte, diferenças nos valores médios, entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória, ou seja, não há uma diferença estatisticamente significativa entre os solos recolhidos em associação com os

cogumelos para este local.

- Capinha

Em Capinha, verificou-se que a espécie de cogumelos é determinante na concentração de mercúrio, tanto na zona do chapéu, como na zona do pé. Isto porque todas as comparações foram estatisticamente significativas, à exceção de quando as amostras do pé de *T. equestre* e *R. vesca* são comparadas, aqui não existe uma diferença estatisticamente significativa.

Aqui, a vegetação sem a fração de mercúrio exterior, indica que as diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória, não havendo uma diferença estatisticamente significativa. No que toca à vegetação com a fração exterior de mercúrio, todas as comparações são estatisticamente não significativas, com a exceção da comparação entre *L. deliciosus* e *T. portentosum*.

Relativamente ao solo, as diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória, não há uma diferença estatisticamente significativa.

- Moreirinha

Em Moreirinha, verifica-se que tanto para a zona do chapéu como a do pé, a espécie *T. equestre* demonstra diferenças estatisticamente significativas para qualquer uma das restantes espécies, não se verificando o mesmo entre estas, no entanto as diferenças nos valores médios não são grandes o suficiente para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória.

Quanto à vegetação sem a fração de mercúrio exterior, as diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória, logo, não há uma diferença estatisticamente significativa, entre as amostras de vegetação recolhidas e posteriormente lavadas. Relativamente à vegetação com a fração exterior de mercúrio, a espécie *T. equestre* se destaca das restantes espécies ao ser a única que apresenta, para a vegetação lavada recolhida na canópia suprajacente, diferenças estatisticamente significativas para as restantes amostras correspondentes às outras espécies presentes

neste local.

No que diz respeito ao solo aqui recolhido, na maior parte dos casos, não se registam diferenças estatisticamente significativas no que toca aos solos. A exceção é a espécie *R. vesca*, que possui diferenças estatisticamente significativas, para as duas espécies do género *Tricholoma* presentes no local.

4.2.1 Cogumelos

Na Tabela 4.3 encontram-se valores de mercúrio total reportados na literatura, referentes à espécie *Tricholoma equestre*.

Tabela 4.3: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes à espécie *Tricholoma equestre*.

País	Ano	[Hg] ng/g			Referência bibliográfica
		Chapéu	Pé	Indiferenciado	
Este estudo		812	460	-	
Polónia	2003	120	73	-	Falandysz et al., 2003
Espanha	2004	-	-	726	Alonso et al., 2004
Polónia	2012	960 ± 320	620 ± 230	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	770 ± 210	560 ± 260	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	970 ± 100	690 ± 120	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	850 ± 60	650 ± 100	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	1300 ± 700	1100 ± 800	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	710 ± 110	680 ± 140	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	250 ± 70	170 ± 40	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	810 ± 100	630 ± 60	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	-	-	230 ± 60	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2012	840 ± 420	490 ± 300	-	Maćkiewicz e Falandysz, 2012
Polónia	2003	1900	1100	-	Falandysz et al., 2003
Espanha	2009	910	650	-	Melgar et al., 2009

Os valores reportados neste estudo, para esta espécie, são muito semelhantes àqueles

reportados na literatura^{11,86,91}. Para a zona do chapéu, observou-se valores entre 710-970 ng/g de mercúrio, sendo que neste estudo a concentração média de amostras desta espécie foi de 811,78 ng/g. Numa minoria de estudos⁸⁶, verificam-se concentrações ligeiramente superiores entre 1300-1900 ng/g. Para a zona do pé, as concentrações obtidas neste estudo (459,65 ng/g), são ligeiramente inferiores às reportadas na bibliografia, entre 490-1100 ng/g. O estudo onde foram relatadas as concentrações mais baixas, reportou concentrações de 120 ng/g na zona do chapéu e 73 ng/g na zona do pé³¹.

Tabela 4.4: Concentrações médias de mercúrio por espécie, obtidas neste estudo.

Espécie	Concentração Hg (ng/g)	
	Chapéu	Pé
<i>Tricholoma equestre</i>	811,78	459,65
<i>Tricholoma portentosum</i>	81,72	32,39
<i>Lactarius deliciosus</i>	203,00	132,97
<i>Russula vesca</i>	32,23	10,58

A análise estatística mostra que tanto para a zona do chapéu como para a do pé, as diferenças nos valores médios entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória, não há uma diferença estatisticamente significativa para o chapéu e pé de *T. equestre* entre os diferentes locais de amostragem.

No que diz respeito à vegetação recolhida em associação com todas as amostras de *T. equestre*, quando se remove a fração de mercúrio exterior, verificam-se diferenças estatisticamente significativas, entre todos os locais de amostragem. Quando não se remove a fração de mercúrio exterior, não se verifica uma diferença estatisticamente significativa, apenas, quando se procede à comparação de vegetação não lavada recolhida em Terlamonte e Moreirinha.

Para as amostras de solo recolhidas em associação com as amostras de *T. equestre*, apenas não se verifica uma diferença estatisticamente significativa quando se procede à comparação de solo recolhidos em associação com *T. equestre* em Terlamonte e Moreirinha.

Na Tabela 4.5 encontram-se valores de mercúrio total reportados na literatura, referentes à espécie ***Tricholoma portentosum***.

Tabela 4.5: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes à espécie *Tricholoma portentosum*.

País	Ano	[Hg] ng/g			Referência bibliográfica
		Chapéu	Pé	Indiferenciado	
Este estudo		82	32	-	
Polónia	2003	160	88	-	Falandysz et al., 2003
Espanha	2004	-	-	776	Alonso et al., 2004
Espanha	2009	1100	650	-	Melgar et al., 2009
Croácia	2017	-	-	1170±60	Širić et al., 2017
				820±80	
Croácia	2016	-	-	790	Širić et al., 2016

Neste estudo a concentração média de todas as amostras recolhidas de *Tricholoma portentosum*, foi de 81,72 ng/g para a zona do chapéu e de 32,39 ng/g para a zona do pé. Estes valores são inferiores àqueles descritos na literatura, tanto para a zona do chapéu 160-1170 ng/g, como a zona do pé 88-820 ng/g^{11,32,88,91,92}.

A espécie *T. portentosum*, foi recolhida em apenas dois locais. Relativamente à zona do chapéu, há uma diferença estatisticamente significativa entre os níveis de mercúrio nos chapéus de espécimes recolhidos nos dois locais, contrariamente à zona do pé. Isto indica que o local de amostragem poderá ditar a concentração de mercúrio no chapéu, mas não na zona do pé.

Relativamente à vegetação associada à espécie *T. portentosum*, em ambos os casos, quando se remove a fração exterior e quando não se remove, há uma diferença estatisticamente significativa entre os níveis de mercúrio, nos dois locais, quando a vegetação é lavada, bem como, quando a vegetação não é lavada.

Quanto ao solo aqui recolhido, não existem diferenças estatisticamente significativas, o que poderá indicar que o local de amostragem desta espécie não dita a concentração de mercúrio no solo.

Na Tabela 4.6 encontram-se valores de mercúrio total reportados na literatura, referentes à espécie *Lactarius deliciosus*.

Tabela 4.6: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes à espécie *Lactarius deliciosus*.

País	Ano	[Hg] ng/g			Referência bibliográfica
		Chapéu	Pé	Indiferenciado	
Este estudo		203	133	-	
Eslováquia	2015	-	-	1650 ± 4010 - 2420 ± 5470	Árvey et al., 2015
Polónia	2017	200 ± 60	100 ± 60	-	Jerzy Falandysz, 2017
Espanha	2004	-	-	590	Alonso et al., 2004
Polónia	2002			390 ± 70	Falandysz et al., 2002
Polónia	2003	530	360	-	Falandysz et al., 2003
Espanha	2009	770	510	-	Melgar et al., 2009
Polónia	2016	830	700	-	Falandysz et al., 2016
Eslováquia	2015	-	-	2, 42 × 10 ⁻⁶ 1, 65 × 10 ⁻⁶	Árvey et al., 2015

Para a espécie *Lactarius deliciosus*, obtiveram-se valores de concentração médios de 203,00 ng/g, relativos à zona do chapéu e de 132,97 ng/g para a zona do pé. Quando comparados com os valores reportados na bibliografia (chapéu:200-2420 ng/g; Pé:100-1650 ng/g) os níveis reportados neste estudo, são inferiores.

A análise estatística permite inferir que para a zona do chapéu, as diferenças nos valores médios entre os diferentes locais de amostragem, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória, não há uma diferença estatisticamente significativa para a concentração de mercúrio no chapéu da espécie *L. deliciosus* entre os espécimes recolhidos nos diferentes locais de amostragem. O que poderá indicar que as diferenças de concentração de amostras da mesma espécie, entre locais, podem não ser dependentes do local de amostragem. Quanto à zona do pé, as diferenças nos valores médios, entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória.

No que diz respeito à vegetação lavada, apenas não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre as amostras recolhidas em Terlamonte e Capinha. O mesmo se verifica, relativamente à vegetação não lavada.

Relativamente ao solo associado a amostras de *L. deliciosus*, as diferenças entre valores médios, entre os grupos de tratamento, não são suficientes para excluir a possibilidade de que a diferença seja devida à variabilidade da amostragem aleatória. Não existe uma

diferença estatisticamente significativa entre os solos adjacentes à espécie *L. deliciosus* nos diferentes locais de amostragem.

Na Tabela 4.7 encontram-se valores de mercúrio total reportados na literatura, referentes à espécie *Russula vesca*.

Tabela 4.7: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes à espécie *Russula vesca*.

País	Ano	[Hg] ng/g			Referência bibliográfica
		Chapéu	Pé	Indiferenciado	
Este estudo		32	11	-	
Eslováquia	2016	-	-	2330	Slávik et al., 2016
Eslováquia	2015	-	-	1940 ± 2690 - 3190 ± 4080	Árvay et al., 2015
Polónia	2003	37	23	-	Falandysz et al., 2003
Eslováquia	2015	-	-	3190 ± 4080 1940 ± 2690	Árvay et al., 2015

Neste estudo, a espécie *Russula vesca*, destaca-se pela positiva, sendo a espécie que apresentou níveis mais baixos, 32,23 ng/g para o chapéu e 10,58 ng/g para a zona do pé, contrariamente àquilo que é reportado na bibliografia. Outros estudos reportaram principalmente níveis de mercúrio elevados^{93,94}. Os níveis mais reportados na bibliografia, mais próximos, àqueles, obtidos neste estudo, são de 37 ng/g para a zona do chapéu e 23 ng/g para a zona do pé⁸⁸.

Os valores reportados neste estudo para esta espécie são inferiores aos reportados na literatura.

Na análise estatística referente à espécie *R. vesca*, pode inferir-se que relativamente ao chapéu da espécie *R. vesca*, não registaram diferenças estatisticamente significativas para a concentração de mercúrio entre os diferentes locais. No entanto o inverso registou-se ao comparar Terlamonte com Capinha e Moreirinha. Em contrapartida, para a zona do pé, registou diferenças estatisticamente significativas para a concentração de mercúrio entre os diferentes locais, com a única exceção a ocorrer ao comparar Terlamonte com Moreirinha.

Relativamente à vegetação lavada, sem a fração de mercúrio exterior, só não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre o Alcaide e Moreirinha. Quanto à vegetação não lavada, apenas a comparação entre Moreirinha e a Capinha não registou uma diferença estatisticamente significativa.

No que diz respeito aos solos recolhidos em associação com amostras da espécie *R. vesca*, todas as comparações foram estatisticamente significativas, à exceção da comparação entre Moreirinha e Terlamonte, em que não se registou uma diferença estatisticamente significativa.

4.2.2 Solo

Na Tabela 4.8 encontram-se valores de mercúrio total reportados na literatura, referentes a solos.

Tabela 4.8: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes a solos.

País	Ano	[Hg] ng/g		Referência bibliográfica
		Crivado	Não crivado	
Este estudo		28	24	
Polónia	2017	41 ±15	-	Jerzy Falandysz, 2017
Polónia	2002	10 ± 2	-	Falandysz et al., 2002
Polónia	2012	46 ± 7	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	19 ± 3	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	13 ± 2	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	19 ±3	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	37 ± 2	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	28 ±6	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	36 ± 9	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	35 ± 1	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	59 ± 28	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2012	39 ± 7	-	D. Maćkiewicz e J. Falandysz, 2012
Polónia	2003	30	-	Falandysz et al., 2003
Polónia	2003	30	-	Falandysz et al., 2003
Polónia	2003	17	-	Falandysz et al., 2003
Polónia	2003	39	-	Falandysz et al., 2003
Polónia	2003	3,6	-	Falandysz et al., 2003
Eslováquia	2015	490 ± 280	-	Árvay et al., 2015
Eslováquia	2015	440 ± 260	-	Árvay et al., 2015

O valor médio de concentração obtido foi de 25,84 ng/g. Para além disto, o valor máximo, de concentração em solos, obtido foi de 95,89 ng/g e o valor mais baixo foi de 9.13 ng/g.

Tendo em conta aquilo que está reportado na bibliografia, o valor médio que se obteve neste

estudo, está de acordo com os valores apresentados noutros estudos^{27,71,86,94,95}: 3,6-59 ng/g. Os valores mais elevados reportados na bibliografia são de 440 e 490 ng/g (94).

4.2.3 Vegetação

Na Tabela 4.9 encontram-se valores de mercúrio total reportados na literatura, referentes a vegetação.

Tabela 4.9: Valores de mercúrio total reportados na literatura referentes a vegetação.

País	Ano	[Hg] ng/g			Referência bibliográfica
		Lavada	Não lavada	Indiferenciado	
Este estudo		8,9	9,3	-	
Espanha	2019	-	30 – 6680	-	Barquero et al., 2019
EUA	2019	-	6,5 ± 1	-	Peckham et al., 2019
México	2019	-	2150 ± 1100	-	Osuna-Vallejo et al., 2019
Noruega	2018	-	57	-	Reimann et al., 2018
Portugal	2017	-	5; 7	-	Costa et al., 2017
China	2017	-	36,6 ± 3,2; 65,9 ± 13,7	-	Zhou et al., 2017
Turquia	2016	-	43 -67	-	Odabasi et al., 2016
EUA	2015	-	98±73 282±127	-	Blackwell BD e Driscoll CT, 2015
EUA	2014	-	25,9 ± 3,4; 20,2 ± 3,2; 11,3 ± 2,3	-	Hutnik et al., 2014
Polónia	2007	-	39,3 ± 0,5	-	M. Szyrkowska e A. Pawlaczyk
EUA	2005	-	41.4	-	Richard M. Lindstrom, 2005
EUA	2004	-	14,07	-	B. D. Hall e V. L. St. Louis, 2004
Polónia	2002	-	42; 22	-	Migaszewski et al., 2002
Polónia	2001	-	15-48	-	Migaszewski et al., 2001
Espanha	2017	-	-	56 - 4010	Barquero et al., 2017
EUA	2018	16.3	-	-	Yang et al., 2018

Para as amostras de vegetação o valor máximo obtido, neste estudo, foi de 44,77 ng/g, o valor mais baixo foi de 2,64 ng/g e o valor médio de 9,08 ng/g. Os valores reportados neste

Mercúrio em Cogumelos Selvagens – Níveis e Riscos para Humanos

estudo para vegetação são inferiores aos reportados na literatura, aqui variam entre 5-6680, no entanto a grande maioria do estudos apresenta concentrações entre 3,6-59 ng/g^{72,74,96-107}.

Capítulo 5 Conclusão

Este trabalho teve como objetivo principal, a descrição os níveis de mercúrio dos cogumelos recolhidos na zona da Cova da Beira, para além disso, averiguar se as espécies amostradas são bioacumuladoras, por fim averiguar os potenciais riscos do consumo destes, para os humanos. Posto isto, surgem algumas perguntas de investigação (**PI**), as quais se formulam e respondem (**RI**) a seguir.

PI1: Quais são os níveis de mercúrio de cogumelos selvagens usados na alimentação humana, solo e vegetação circundante a estes, na zona da Cova da Beira?

RI1: As concentrações de mercúrio, médias, obtidas para a espécie *T.esquestre*, foram de 811,78 ng/g para a zona do chapéu e 459,65 ng/g para a zona do pé; para a espécie *T. portentosum*, 81,72 ng/g (chapéu) e 32,39 ng/g (pé); *L. deliciosus*, 203,00 ng/g (chapéu) e 132,97 ng/g (pé) e para a espécie *R. vesca* 32,23 ng/g (chapéu) e 10,58 ng/g (pé).

PI2: As espécies de cogumelos amostradas são bioacumuladoras?

RI2: Todas as espécies amostradas, mostraram potencial bioacumulador. Isto porque o valor do fator de bioconcentração (BCF) foi superior a 1, em praticamente todas as amostras recolhidas, para todas as espécies de cogumelos.

PI3: O consumo destes cogumelos acarreta riscos para os humanos?

RI3: Tendo em conta, os valores de concentração de mercúrio obtidos, de uma forma geral, o consumo de cogumelos não deverá acarretar riscos para os humanos, a menos que se excedam as quantidade indicadas na Tabela 4.2. No caso da *R. vesca* e *T. portentosum*, estas quantidades excederão o que será considerado um consumo normal semanal (*R. vesca*: 76,86 kg de chapéu, 262,34 kg de pé; *T.portentosum*: 31,24 kg de chapéu, 89,39 kg de pé). Por sua vez, as quantidades limite apresentadas para as espécies *T. equestre* e *L. deliciosus* são valores mais possíveis de serem atingidos (*T. equestre*: 3,40 kg de chapéu; 6,53 kg de pé; *L. deliciosus*: 10,45 kg de chapéu, 16,86 kg de pé).

PI4: Que recomendações poderão ser seguidas, relativo ao consumo das espécies amostradas nestes locais, de forma a minimizar a ingestão de mercúrio?

RI4: De uma forma geral, o consumo de *R. vesca* será sempre preferível ao de qualquer outra espécie amostrada, visto que apresentou as concentrações de mercúrio mais baixas em todos os locais. A espécie *T. equestre* requer uma atenção especial. Esta foi a espécie para a qual se obtiveram valores mais elevados de mercúrio, o que significa que é a espécie que mais rapidamente faz atingir a TWI (4 µg/kg), através do seu consumo. O ideal será evitar o consumo desta espécie na zona de estudo, já que existem em alternativa outras espécies com níveis de mercúrio mais baixos, sendo assim mais difícil atingir a TWI. Aconselha-se também o consumo do pé em detrimento da zona do chapéu, já que se verificaram sempre concentrações mais baixas na zona do pé. Mais ainda, será aconselhável evitar recolher cogumelos para consumo na zona do Alcaide, onde se verificaram as concentrações mais elevadas, optando por fazer uma recolha em Terlamonte, onde os níveis de mercúrio registados foram os mais baixos.

Foi possível verificar que as concentrações de mercúrio obtidas, para os solos correspondentes às amostras de cogumelos, apresentaram valores inferiores aos dos cogumelos. Isto indica que os cogumelos têm, de facto, a capacidade de fazer biorremediação do solo. No entanto, é necessário ter em conta a deposição atmosférica, que também contribui para a concentração de mercúrio obtida. A zona da Cova da Beira é muito afetada por incêndios florestais e é zona de queimadas de gestão florestal e agrícola, o que causa a remobilização de mercúrio. Quanto às medições de pH dos solos, o valor médio para todas as amostras foi de 5,6, mostrando que os cogumelos se dão preferencialmente em solos ácidos.

No que diz respeito à vegetação, à semelhança dos que aconteceu com os solos, também os valores de mercúrio se mostraram inferiores à amostra de cogumelo correspondente, demonstrando a vegetação um potencial de acumulação inferior aos cogumelos. Os valores obtidos para as amostras de vegetação lavada não foram de acordo com o que era esperado (inferiores à correspondente não lavada), possivelmente por contaminação laboratorial da amostra, por isso não é possível inferir com toda a certeza que ocorreu deposição atmosférica.

As quantificações de mercúrio feitas a cogumelos comerciais, mostram que à semelhança das espécies *R. vesca* e *T. portentosum*, mas numa escala muito maior, será impossível ingerir a quantidade necessária para atingir o TWI.

Num trabalho futuro, seria interessante abranger mais a zona da Cova da Beira, bem como,

selecionar mais algumas espécies conhecidas e consumidas pelos habitantes locais, de modo a permitir uma lista de recomendações mais completa. Para além disso, sendo a Cova da Beira uma zona muito afetada por incêndios florestais e sendo estas vias de remobilização de mercúrio para a atmosfera, poderá ser objeto de estudo identificar locais que tenham sido afetados por incêndios florestais e comparar os níveis de mercúrio das espécies de cogumelos que nessas zonas frutifiquem, com os de zonas não afetadas por incêndios.

Bibliografia

1. Willey, J. M., Sherwood, L. M., Woolverton, C. J. & Prescott, L. M. *Prescott's Microbiology*. (McGraw-Hill, 2017).
2. fungus. *Encyclopædia Britannica* (2020). Available at: <https://www.britannica.com/science/fungus>. (Accessed: 3rd May 2020)
3. Prescott, L. M., Harley, J. P. & Klein, D. A. *Microbiology*. (McGraw-Hill, 2002).
4. Taxonomy and Classification of Fungi. in *Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition* 1747–1755 (American Society of Microbiology, 2011). doi:10.1128/9781555816728.ch111
5. Hibbett, D. S. *et al.* A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol. Res.* **111**, 509–547 (2007).
6. Sattley, W. M. & Madigan, M. T. Microbiology. in *eLS* 1–10 (John Wiley & Sons, Ltd, 2015). doi:10.1002/9780470015902.a0000459.pub2
7. Ferreira, W. F. C., de Sousa, J. C. F. & Lima, N. *Microbiologia*. (LIDEL, 2010).
8. Pelczar, M. J. (Michael J., Chan, E. C. S. (Eddie C. S. & Krieg, N. R. *Microbiology : concepts and applications*. (McGraw-Hill, 1993).
9. Damodaran, D. & Shetty, V. B. Mushrooms in the Remediation of Heavy Metals From Soil. *Int. J. Environ. Pollut. Control Manag.* **3**, 89–101 (2011).
10. Ouzouni, P. K., Petridis, D., Koller, W. & Riganakos, K. A. Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus , Greece. *Food Chem.* **115**, 1575–1580 (2009).
11. Melgar, M. J., Alonso, J. & García, M. A. Mercury in edible mushrooms and underlying soil: Bioconcentration factors and toxicological risk. *Sci. Total Environ.* **407**, 5328–5334 (2009).
12. Sabaratnam, V., Kah-Hui, W., Naidu, M. & David, P. R. Neuronal Health – Can Culinary and Medicinal Mushrooms Help? *J. Tradit. Complement. Med.* **3**, 62–68 (2013).

13. Bilal, A. W., R, H. B. & A, H. W. Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *J. Med. Plants Res.* **4**, 2598–2604 (2016).
14. Rajarathnam, S. & Shashirekha, M. N. MUSHROOMS AND TRUFFLES | Use of Wild Mushrooms. in *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* 4048–4054 (Academic Press, 2003). doi:10.1016/b0-12-227055-x/00813-0
15. Mattila, P. *et al.* Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 2343–2348 (2001).
16. Chang, S. & Miles, P. Mushroom biology — A new discipline. *Top. Catal.* **6**, 64–65 (1992).
17. Falandysz, J. Mercury bio-extraction by fungus *Coprinus comatus*: a possible bioindicator and mycoremediator of polluted soils? *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23**, 7444–7451 (2016).
18. Rajarathnam, S. & Shashirekha, M. N. MUSHROOMS AND TRUFFLES | Classification and Morphology. in *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* 4040–4048 (Elsevier, 2003). doi:10.1016/B0-12-227055-X/00812-9
19. Chatterjee, S. *et al.* Mushrooms: from nutrition to mycoremediation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **24**, 19480–19493 (2017).
20. Baptista-Ferreira, J. *Guia do Colector de Cogumelos – para os cogumelos silvestres comestíveis com interesse comercial em Portugal.* (2013).
21. Yao, G., Joswig, J.-O., Keller, B. G. & Süßmuth, R. D. Total synthesis of the death cap toxin phalloidin - atropoisomer- selectivity explained by molecular-dynamics simulations. *Chem. - A Eur. J.* (2019). doi:10.1002/chem.201901888
22. Yang, D., Zhou, Z. & Zhang, L. An overview of fungal glycan-based therapeutics. in **163**, 135–163 (Academic Press, 2019).
23. Lawal, T. O., Wicks, S. M., Calderon, A. I. & Mahady, G. B. Bioactive Molecules, Pharmacology and Future Research Trends of *Ganoderma lucidium* as a Cancer Chemotherapeutic Agent. in *New Look to Phytomedicine* 159–178 (Elsevier, 2019). doi:10.1016/B978-0-12-814619-4.00007-0

24. Marchand, L. R. & A. Stewart, J. Breast Cancer. in *Integrative Medicine* 772-784.e7 (Elsevier, 2018). doi:10.1016/B978-0-323-35868-2.00078-5
25. Romm, A. Breast cancer. in *Botanical Medicine for Women's Health* 306–320 (Elsevier Inc., 2010). doi:10.1016/B978-0-443-07277-2.00012-X
26. Katz, A. Alternative Medicine for Prostate Cancer: Diet, Vitamins, Minerals, and Supplements. in *Early Diagnosis and Treatment of Cancer Series: Prostate Cancer* 207–228 (Elsevier, 2010). doi:10.1016/B978-1-4160-4575-5.50017-7
27. Falandysz, J. *et al.* Mercury content and its bioconcentration factors in wild mushrooms at Łukta and Morag, northeastern Poland. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 2832–2836 (2003).
28. Nordberg, M., Templeton, D. M., Andersen, O. & Duffus, J. H. Glossary of terms used in ecotoxicology (IUPAC Recommendations 2009). *Pure Appl. Chem.* **81**, 829–970 (2009).
29. ARAPIS, G. D. FROM MOLECULE TO ECOSYSTEMS: ECOTOXICOLOGICAL APPROACHES AND PERSPECTIVES. in *Ecotoxicology, Ecological Risk Assessment and Multiple Stressors* 25–39 (Kluwer Academic Publishers, 2006). doi:10.1007/1-4020-4476-3_02
30. Graham, M. L., Renner, V. E., Blukacz-Richards, E. A., Constable, M. & Santiago, R. Assessing Ecological Risks at Contaminated Sites. in *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology* 115–124 (Springer Netherlands, 2013). doi:10.1007/978-94-007-5704-2_12
31. Saba, M., Falandysz, J. & Nnorom, I. C. Mercury bioaccumulation by *Suillus bovinus* mushroom and probable dietary intake with the mushroom meal. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23**, 14549–14559 (2016).
32. Širić, I. *et al.* Heavy metal bioaccumulation by wild edible saprophytic and ectomycorrhizal mushrooms. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23**, 18239–18252 (2016).
33. Walker, C. H., Sibly, R. M., Hopkin, S. P. & Peakall, D. B. Principles of ecotoxicology. in (2012). doi:10.1016/B978-0-12-385926-6.00077-6
34. Vračko, M. Mathematical (Structural) Descriptors in QSAR: Applications in Drug

- Design and Environmental Toxicology. in 222–250 (Bentham Science Publishers, 2015). doi:10.1016/B978-1-68108-198-4.50010-2
35. Falandysz, J. Mercury accumulation of three Lactarius mushroom species. *Food Chem.* **214**, 96–101 (2017).
 36. Kalac, P. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms : A review for the period 2000 – 2009. *Food Chem.* **122**, 2–15 (2010).
 37. Peijnenburg, W. J. G. M. & Vijver, M. G. Earthworms and Their Use in Eco(toxico)logical Modeling. in 177–204 (Springer, Boston, MA, 2009). doi:10.1007/978-1-4419-0197-2_7
 38. Nehring, R. B. Aquatic insects as biological monitors of heavy metal pollution. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **15**, 147–154 (1976).
 39. Mędyk, M., Loganathan, B., Bielawski, L. & Falandysz, J. Inorganic elemental concentrations in birch bolete mushroom (*Leccinum scabrum*) and top soil: contamination profiles, bioconcentration and annual variations. *J. Environ. Sci. Heal. Part B* **0**, 1–9 (2018).
 40. Svoboda, L. & Kalac, P. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chem.* **69**, 273–281 (2000).
 41. O., A. C. & R., L. Uses of mushrooms in bioremediation: A review. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* **7**, 62–68 (2012).
 42. Rhodes, C. J. Mycoremediation (bioremediation with fungi) - growing mushrooms to clean the earth. *Chem. Speciat. Bioavailab.* **26**, 196–198 (2014).
 43. Rice, K. M., Walker, E. M., Wu, M., Gillette, C. & Blough, E. R. Environmental mercury and its toxic effects. *Journal of Preventive Medicine and Public Health* **47**, 74–83 (2014).
 44. Gouma, S., Fragoeiro, S., Bastos, A. C. & Magan, N. Bacterial and Fungal Bioremediation Strategies. in *Microbial Biodegradation and Bioremediation* 301–323 (Elsevier, 2014). doi:10.1016/B978-0-12-800021-2.00013-3
 45. Chromium (VI) bioremediation potential of filamentous fungi isolated from Peruvian

- tannery industry effluents. *Brazilian J. Microbiol.* **51**, 271–278 (2020).
46. Kang, W. *et al.* Characterization of the copper resistance mechanism and bioremediation potential of an *Acinetobacter calcoaceticus* strain isolated from copper mine sludge. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **27**, 7922–7933 (2020).
 47. Goldman, L. R. & Shannon, M. W. Technical Report: Mercury in the Environment: Implications for Pediatricians. *Pediatrics* **108**, 197–205 (2001).
 48. Li, W. C. & Tse, H. F. Health risk and significance of mercury in the environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22**, 192–201 (2015).
 49. Fu, X. *et al.* Mercury in the marine boundary layer and seawater of the South China Sea: Concentrations, sea/air flux, and implication for land outflow. *J. Geophys. Res. Atmos.* **115**, 1–11 (2010).
 50. Mon, M. *et al.* Multivariate Metal-Organic Frameworks for the Simultaneous Capture of Organic and Inorganic Contaminants from Water. *J. Am. Chem. Soc.* **141**, 13601–13609 (2019).
 51. Pachana, K., Wattanakornsiri, A. & Nanuam, J. *Heavy Metal Transport and Fate in the Environmental Compartments. NU Science Journal* **7**, (2010).
 52. Kim, M. K. & Zoh, K. D. Fate and transport of mercury in environmental media and human exposure. *J. Prev. Med. Public Heal.* **45**, 335–343 (2012).
 53. Sinicropi, M. S., Amantea, D., Caruso, A. & Saturnino, C. Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning. *Arch. Toxicol.* **84**, 501–520 (2010).
 54. UNEP. Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases, and Environmental Transport. *United Nations Environ. Program.* 42 (2013). doi:DTI/1636/GE
 55. Drouillard, K. G. Biomagnification. *Encycl. Ecol. Five-Volume Set* 441–448 (2008). doi:10.1016/B978-008045405-4.00377-3
 56. Ullrich, S. M., Tanton, T. W. & Abdrashitova, S. A. Mercury in the aquatic environment: A review of factors affecting methylation. *Crit. Rev. Environ. Sci.*

- Technol.* **31**, 241–293 (2001).
57. Biswas, A., Blum, J. D., Klaue, B. & Keeler, G. J. Release of mercury from rocky mountain forest fires. *Global Biogeochem. Cycles* **21**, 1–13 (2007).
 58. Besson, T. S. and R. Mercury, cadmium, lead and selenium content of mushroom species belonging to the genus *Agaricus*. 151–158 (1976).
 59. Lodenius, M.-R. K. and M. Cadmium and Mercury in Macrofungi - Mechanisms of Transport and Accumulation. *Angew. Bot.* 279–292 (1989).
 60. Das, N. Natural Product Radiance Heavy metals biosorption by mushrooms. *Nat. Prod. Radiance* **4**, 454–459 (2005).
 61. Kulshreshtha, S., Mathur, N. & Bhatnagar, P. Mushroom as a product and their role in mycoremediation. *AMB Express* **4**, 29 (2014).
 62. Širić, I. *et al.* Mercury bioaccumulation by wild edible mushrooms. *Proc. 52st Croat. 12th Int. Symp. Agric.* 91 (2017).
 63. Al-Alawi, M. M. & Mandiwana, K. L. The use of Aleppo pine needles as a bio-monitor of heavy metals in the atmosphere. *J. Hazard. Mater.* **148**, 43–46 (2007).
 64. Asaduzzaman, A. *et al.* Environmental Mercury Chemistry – In Silico. *Acc. Chem. Res.* **52**, 379–388 (2019).
 65. Zhao, L. *et al.* Mercury methylation in paddy soil: source and distribution of mercury species at a Hg mining area, Guizhou Province, China. *Biogeosciences* **13**, 2429–2440 (2016).
 66. UNEP. GLOBAL MERCURY ASSESSMENT. (2018).
 67. UNEP. *Mercury time to act.* (2013).
 68. World Health Organization. Mercury and health. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>. (Accessed: 15th February 2020)
 69. US EPA. Health Effects of Exposures to Mercury | Mercury | US EPA. Available at: <https://www.epa.gov/mercury/health-effects-exposures-mercury>. (Accessed: 2nd

March 2020)

70. Burns, D. A., Woodruff, L. G., Bradley, P. M. & Cannon, W. F. Mercury in the Soil of Two Contrasting Watersheds in the Eastern United States. *PLoS One* **9**, 1–15 (2014).
71. Falandysz, J. MERCURY IN MUSHROOMS AND SOIL OF THE TARNOBRZESKA PLAIN, SOUTH-EASTERN POLAND. *J. Environ. Sci. Heal. Part A* **37**, 343–352 (2002).
72. Barquero, J. I., Rojas, S., Esbrí, J. M., García-noguero, E. M. & Higuera, P. Factors influencing mercury uptake by leaves of stone pine (*Pinus pinea* L.) in Almadén (Central Spain). *Environ. Sci. Pollut. Res.* (2017).
73. Bioaccumulation of heavy metals by the leaves of *Robinia pseudoacacia* as a bioindicator tree in industrial zones. *J. Environ. Biol.* **36 Spec No**, 59–63 (2015).
74. Osuna, V. *et al.* Total Mercury in Plant Tissue from a Mining Landscape in Western. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **0**, 0 (2018).
75. Zheng, S., Wu, Z., Chen, C., Liang, J. & Huang, H. Evaluation of leafy vegetables as bioindicators of gaseous mercury pollution in sewage-irrigated areas. 413–421 (2018).
76. Ghasemidehkordi, B., Akbar, A., Nazem, H. & Fazilati, M. Concentration of lead and mercury in collected vegetables and herbs from Markazi province , Iran : a non-carcinogenic risk assessment. *Food Chem. Toxicol.* **113**, 204–210 (2018).
77. Malcolm, K., Dighton, J. & Barkay, T. Mercury affects the phylloplane fungal community of blueberry leaves to a lesser extent than plant age. *Mycology* **9**, 49–58 (2018).
78. Abraham, J., Dowling, K. & Florentine, S. Effects of prescribed fire and post-fire rainfall on mercury mobilization and subsequent contamination assessment in a legacy mine site in Victoria, Australia. *Chemosphere* **190**, 144–153 (2017).
79. Artaxo, P. *et al.* Large scale mercury and trace element measurements in the Amazon basin. *Atmos. Environ.* **34**, 4085–4096 (2000).
80. Pamp, S. J., Gjermansen, M., Johansen, H. K. & Tolker-Nielsen, T. Tolerance to the

antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the *pmr* and *mexAB-oprM* genes. *Mol. Microbiol.* **68**, 223–240 (2008).

81. Falandysz, J., Gucia, M., Skwarzec, B., Frankowska, A. & Klawikowska, K. Total mercury in mushrooms and underlying soil substrate from the Borecka Forest, Northeastern Poland. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **42**, 145–154 (2002).
82. Falandysz, J. & Drewnowska, M. Distribution of mercury in *Amanita fulva* (Schaeff.) Secr. mushrooms: Accumulation, loss in cooking and dietary intake. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **115**, 49–54 (2015).
83. Saba, M., Falandysz, J. & Nnorom, I. C. Mercury bioaccumulation by *Suillus bovinus* mushroom and probable dietary intake with the mushroom meal. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23**, 14549–14559 (2016).
84. Falandysz, J. *et al.* Mercury in Common Chanterelles mushrooms: *Cantharellus* spp. update. *Food Chem.* **133**, 842–850 (2012).
85. Krasieńska, G. & Falandysz, J. Mercury in Orange Birch Bolete *Leccinum versipelle* and soil substratum: bioconcentration by mushroom and probable dietary intake by consumers. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23**, 860–869 (2016).
86. Maćkiewicz, D. & Falandysz, J. Total mercury in Yellow Knights (*Tricholoma equestre*) mushrooms and beneath soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **89**, 755–758 (2012).
87. Falandysz, J. *et al.* Concentrations of mercury in wild growing higher fungi and underlying substrate near Lake Wdzydze, Poland. *Water. Air. Soil Pollut.* **148**, 127–137 (2003).
88. Falandysz, J., Kawano, M., Świeczkowski, A., Brzostowski, A. & Dadej, M. Total mercury in wild-grown higher mushrooms and underlying soil from Wdzydze Landscape Park, Northern Poland. *Food Chem.* **81**, 21–26 (2003).
89. Cheng, Z. *et al.* Mercury accumulation in soil from atmospheric deposition in temperate steppe of Inner Mongolia, China. *Environ. Pollut.* **258**, 113692 (2020).
90. Falandysz, J., Dryżałowska, A., Saba, M., Wang, J. & Zhang, D. Mercury in the fairy-

- ring of *Gymnopus erythropus* (Pers.) and *Marasmius dryophilus* (Bull.) P. Karst. mushrooms from the Gongga Mountain, Eastern Tibetan Plateau. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **104**, 18–22 (2014).
91. Alonso, J., García, M. A., Pérez-López, M. & Melgar, M. J. Acumulación de metales pesados en macromicetos comestibles y factores que influyen en su captación. *Rev. Toxicol.* **21**, 11–15 (2004).
 92. Širić, I., Kasap, A., Bedeković, D. & Falandysz, J. Lead, cadmium and mercury contents and bioaccumulation potential of wild edible saprophytic and ectomycorrhizal mushrooms, Croatia. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* **52**, 156–165 (2017).
 93. Slávik, M., Tóth, T., Július, Árvay, Harangozo, L. & Kopernická, M. The heavy metals content in wild growing mushrooms from burdened spiš area. *Potravinarstvo* **10**, 232–236 (2016).
 94. Árvay, J. *et al.* Human exposure to heavy metals and possible public health risks via consumption of wild edible mushrooms from Slovak Paradise National Park, Slovakia. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* **50**, 833–843 (2015).
 95. Falandysz, J. Cooking can decrease mercury contamination of a mushroom meal : *Cantharellus cibarius* and *Amanita fulva*. 13352–13357 (2017). doi:10.1007/s11356-017-8933-5
 96. Lindstrom, R. M. An improved radiochemical neutron activation analysis procedure for trace mercury. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **263**, 787–789 (2005).
 97. Hall, B. D. & St. Louis, V. L. Methylmercury and total mercury in plant litter decomposing in upland forests and flooded landscapes. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 5010–5021 (2004).
 98. Migaszewski, Z. M., Gałuszka, A. & Pasławski, P. Polynuclear aromatic hydrocarbons, phenols, and trace metals in selected soil profiles and plant bioindicators in the Holy Cross Mountains, south-central Poland. *Environ. Int.* **28**, 303–313 (2002).
 99. Migaszewski, Z. M., Gałuszka, A., Świercz, A. & Kucharzyk, J. Element concentrations

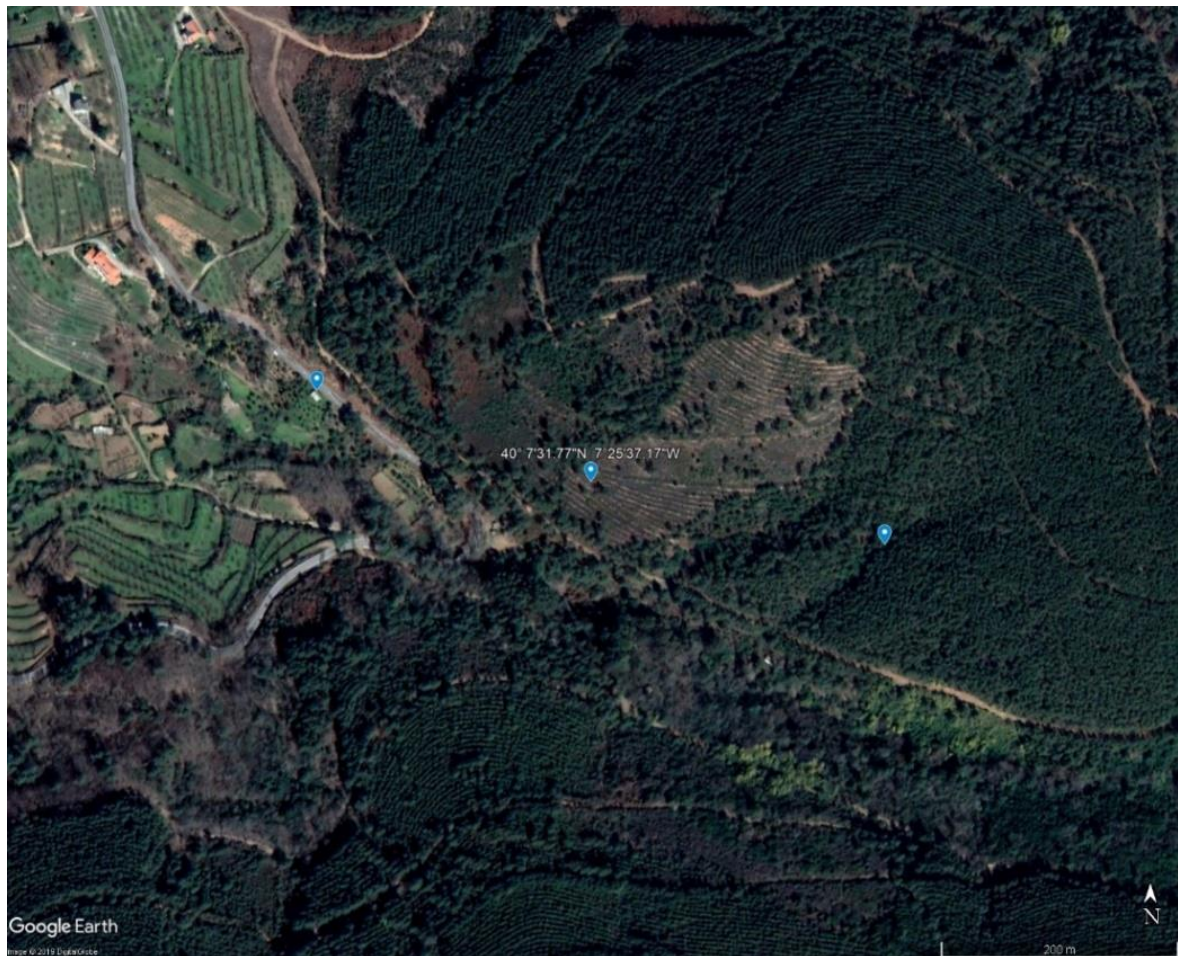
- in soils and plant bioindicators in selected habitats of the Holy Cross Mountains, Poland. *Water. Air. Soil Pollut.* **129**, 369–386 (2001).
100. Peckham, M. A., Gustin, M. S., Weisberg, P. J. & Weiss-Penzias, P. Results of a controlled field experiment to assess the use of tree tissue concentrations as bioindicators of air Hg. *Biogeochemistry* **142**, 265–279 (2019).
 101. Reimann, C. *et al.* Geosphere-biosphere circulation of chemical elements in soil and plant systems from a 100 km transect from southern central Norway. *Sci. Total Environ.* **639**, 129–145 (2018).
 102. Costa, R. A., Gomes, T., Eira, C., Vaqueiro, J. & Vingada, J. V. Great tit response to decreasing industrial heavy metal emissions. *Ecotoxicology* **26**, 802–808 (2017).
 103. Zhou, J., Wang, Z., Zhang, X. & Gao, Y. Mercury concentrations and pools in four adjacent coniferous and deciduous upland forests in Beijing, China. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* **122**, 1260–1274 (2017).
 104. Odabasi, M. *et al.* Investigation of spatial and historical variations of air pollution around an industrial region using trace and macro elements in tree components. *Sci. Total Environ.* **550**, 1010–1021 (2016).
 105. Blackwell, B. D. & Driscoll, C. T. Using foliar and forest floor mercury concentrations to assess spatial patterns of mercury deposition. *Environ. Pollut.* **202**, 126–134 (2015).
 106. Hutnik, R. J., McClenahan, J. R., Long, R. P. & Davis, D. D. Mercury accumulation in *Pinus nigra* (Austrian Pine). *Northeast. Nat.* **21**, 529–540 (2014).
 107. Szykowska, M. I. & Pawlaczyk, A. The influence of mercury content on the structural changes of bioindicator surfaces. *Polish J. Chem. Technol.* **9**, 115–120 (2007).

Apêndices

Apêndice A Mapas

Os pontos azuis indicam os pontos específicos dos locais de recolha das amostras (obtidos por georreferenciação).

A.1 Mapa da zona de amostragem em Alcaide



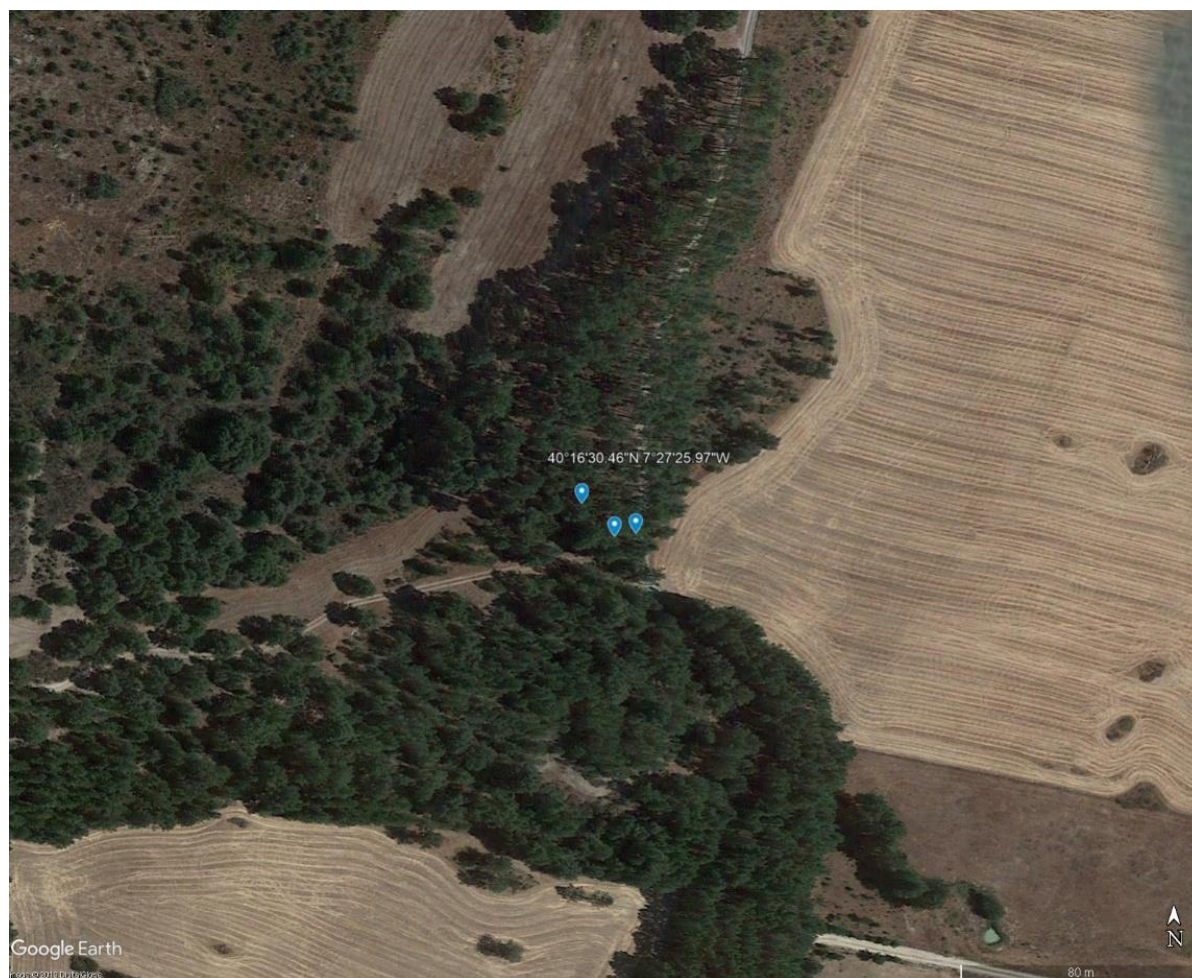
A.2 Mapa da zona de amostragem em Terlamonte



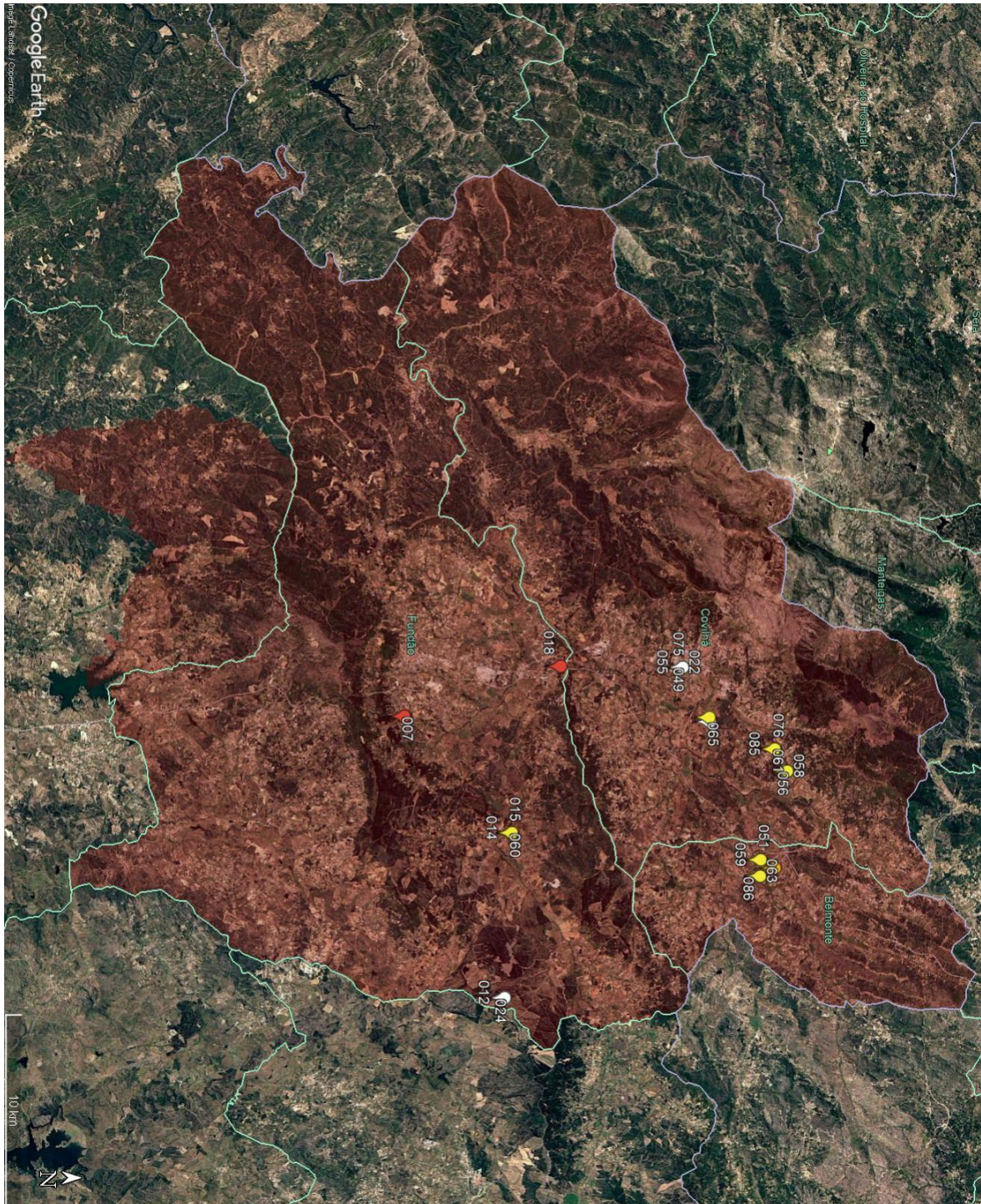
A.3 Mapa da zona de amostragem em Capinha



A.4 Mapa da zona de amostragem em Moreirinha



A.5 Mapa da Cova da Beira com as marcações dos locais de recolha



Apêndice B Fotografias de amostras

B.1 *Macrolepiota procera*



B.2 *Tricholoma colossus*



B.3 *Lycoperdon perlatum*



B.4 *Hydnum repandum*



B.5 Espécie não identificada



B.6 *Tricholoma portentosum*



B.7 *Tricholoma equestre*



B.8 *Lactarius deliciosus*



B.9 *Russula vesca*



Apêndice C Tabelas

C.1 Concentrações de mercúrio total, quantificado no material de referência (CRMs) Mussel Tissue

Mussel Tissue	[Hg] ng/g	Recuperação	Data
1	73,72093	103,83	43540
2	72,83133	102,6	43540
3	70,23555	98,9	43541
4	70,96958	99,9	43541
5	69,06667	97,3	43541
6	70,89494	99,9	43542
7	70,13834	98,8	43542
8	71,85111	101,2	43543
9	71,69884	101	43543
10	72,37219	101,9	43545
11	71,88525	101,2	43546
12	70,94949	99,9	43546
13	69,49045	97,9	43549
14	70,875	99,8	43549
15	70	98,6	43549
16	71,5102	100,7	43550
17	71,32609	100,5	43550
18	70,56338	99,4	43550
19	71,83838	101,2	43594
20	70,16162	98,8	43595
21	68,9834	97,2	43595
22	71,69661	101	43598
23	70,09901	98,7	43599
24	71,10454	100,1	43599
25	69,95807	98,5	43599
26	69,96132	98,5	43599
27	69,52675	97,9	43600
28	70,90551	99,9	43600

C.2 Concentrações de mercúrio total, quantificado no material de referência (CRMs) SQCo01-30

SQCo01-30G	[Hg]	Recuperação	Data
1	15825	99,5	43606
2	15423,8	97	43606
3	15865,07	99,7	43607
4	15869,56	99,8	43607
5	16312,29	102,6	43607
6	16351,75	102,8	43607