

Os bioinoculantes melhoram a recuperação de resíduos mineiros com aplicação de Tecnossolos para pastagens?

Do bioinoculants improve the recovery of mining waste with the application of Technosols for pastures?

Erika S. Santos^{1,*}, Adelaida Patrasc Lungu², Amaia Nogales¹, Maria Manuela Abreu¹ & Diego Arán^{1,3}

¹LEAF—Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center, Associate Laboratory TERRA, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

²Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

³Inproyen Consulting, Santa Comba, A Coruña, Espanha

(*E-mail: erikasantos@isa.ulisboa.pt)

<https://doi.org/10.19084/rca.33410>

Recebido/received: 2023.07.31

Aceite/accepted: 2023.10.16

RESUMO

A inoculação dos solos com fungos micorrízicos e/ou outros microrganismos é usada para melhorar o desenvolvimento das plantas na recuperação ambiental. Este estudo teve como objectivo avaliar a eficiência de um fungo micorrízico+*Trichoderma* (bioinoculante) na recuperação de escombrelas para pastagens, juntamente com o uso de um Tecnossolo eutrófico-alcálico. Realizou-se um ensaio de mesocosmos em estufa com três tratamentos (Escombrela+Bioinoculante; Escombrela+Tecnossolo+Bioinoculante; Escombrela+Tecnossolo) onde foi semeada uma pastagem. O Tecnossolo elaborou-se com resíduos industriais aplicando-se a 400 g/kg. Analisou-se a biomassa produzida e a sua concentração em nutrientes/elementos potencialmente tóxicos-EPT em dois períodos (T1: cinco meses após a sementeira; T2: três meses após T1). Os substratos caracterizaram-se físico-quimicamente. A escombrela, mesmo com bioinoculante, apresentou pH≈2,7, baixa fertilidade e elevada concentração multielementar disponível, não ocorrendo germinação. O Tecnossolo melhorou as características da escombrela (pH~8,3, aumento do C_{orgânico} e nutrientes disponíveis, diminuição >95% da disponibilidade para a maioria dos EPT) permitindo um considerável desenvolvimento da pastagem. Independentemente da aplicação do bioinoculante no Tecnossolo, as características da Escombrela+Tecnossolo (excepto Fe disponível) e a produtividade vegetal (257–370 kg/ha) foram similares. A concentração elementar (excepto Mn) na pastagem foi considerada suficiente/normal não apresentando risco para o consumo por animais domésticos. A reabilitação e valorização de escombrelas com Tecnossolos para pastagens é viável, contudo o uso do bioinoculante não foi vantajoso.

Palavras-chave: Áreas degradadas, Valorização, Tecnossolo, *Rhizogloinus irregularis*, *Trichoderma*.

ABSTRACT

Soil inoculation with mycorrhizal fungi and/or other microorganisms is used to improve plant development in the environmental recovery. This study aimed to evaluate the effectiveness of mycorrhizal fungus+*Trichoderma* (bioinoculant) in the recovery of tailings for pasture growth, together with the use of a eutrophic-alkaline Technosol. A mesocosm experiment was carried out in a greenhouse conditions with three treatments (Tailing+Bioinoculant; Tailing+Technosol+Bioinoculant; Tailing+Technosol) where a pasture was sown. The Technosol was elaborated from industrial wastes and applied at 400 g/kg. Biomass production and composition of nutrients and potentially toxic elements were quantified at two periods (T1: five of growth; T2: three months after T1), and the substrata were physicochemically characterized. The tailing, even with the bioinoculant, presented pH≈2.7, low fertility, high available multielemental concentration, and without any germination. The Technosol improved the tailings characteristics (pH~8.3, increase of organic C and available nutrients, between, and decrease >95% of the availability for most of potentially toxic elements) allowing considerable pasture development. Independently of the bioinoculant application, plant productivity (257-370 kg/ha) and soil characteristics were similar between Technosols treatments (except available Fe in soils). The elemental concentrations (except Mn) in the shoots from pasture were sufficient/normal, not presenting a risk for consumption by domestic animals. Therefore, the rehabilitation and valorisation of tailing with Technosols for pastures is feasible but, the use of the bioinoculant was not advantageous.

Keywords: Degraded areas, Valorisation, Technosol, *Rhizogloinus irregularis*, *Trichoderma*.

INTRODUÇÃO

A necessidade e importância da recuperação ambiental de áreas mineiras já é uma temática bem conhecida na actualidade pelas empresas e entidades governamentais. De facto, as áreas mineiras em activo apresentam, desde o início da exploração, planos de gestão ambiental para a minimização dos riscos ambientais durante a operação bem como planeiam estratégias para o fecho dos depósitos e de recuperação ambiental do espaço. No entanto, a necessidade actual centra-se na busca de técnicas e tecnologias sustentáveis que promovam a recuperação ambiental, a valorização socioeconómica regional das áreas impactadas e tenham menor custo de manutenção no pós-fecho. O reaproveitamento de áreas recuperadas torna-se assim um potencial recurso para o desenvolvimento local.

A implementação de uma cobertura vegetal em solos e materiais de escombreira contaminados, cujo comportamento ecofisiológico se caracterize na limitação da translocação dos elementos potencialmente tóxicos (EPT) para a parte aérea independentemente da fracção disponível, é considerada uma das técnicas mais adequadas para a reabilitação ambiental (EPA & United States Environmental Protection Agency, 2000; Abreu & Magalhães, 2009). Contudo, o sucesso da germinação ou do transplante e posterior desenvolvimento das plantas directamente em alguns solos/escombrireas contaminadas, principalmente em condições de défice hídrico, é limitado ou mesmo impossível (Tordoff *et al.*, 2000; Santos *et al.*, 2013, 2016).

O uso de fungos micorrízicos arbusculares ou outros microrganismos do solo em processos de recuperação ambiental pode contribuir para aumentar a tolerância das plantas a diferentes factores de stress abiótico, como a contaminação por metais/meta-lóides, limitação de água no solo, entre outros (Latef *et al.*, 2016; Lounès-Hadj *et al.*, 2022; Zhu *et al.*, 2022).

Também estudos prévios (Monterroso *et al.*, 1998; Asensio *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2016, 2019, 2022; Arán *et al.*, 2020, 2022; Santos & Arán, 2021) têm demonstrado que o uso de Tecnossolos desenhados ao problema ambiental melhora as características físico-químicas e biológicas de vários tipos de escombrireas, nomeadamente as ricas em sulfuretos, e solos contaminados. Além disso, estimula a

germinação e o desenvolvimento de diferentes espécies de plantas em condições climáticas distintas (semiárido, alta montanha, húmido...), acelerando os processos edáficos e geoquímicos associados à recuperação ambiental. Assim, o presente estudo vem complementar estes estudos prévios com a avaliação, em condições controladas de estufa, da eficiência da aplicação de um bioinoculante baseado num fungo micorrízico arbuscular (*Rhizoglo-mus irregularis*) e *Trichoderma*, juntamente com o uso de um Tecnossolo eutrófico-alcalino, no processo de recuperação ambiental de escombrireas com sulfuretos e uso futuro da área para a pastorícia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais de escombreira foram colhidos num dos depósitos da área mineira de Aznalcóllar, uma mina em activo do sul da Espanha (província de Sevilha). Estes materiais são ricos em sulfuretos apresentando baixos valores de pH ($\approx 2,7$) e fertilidade (< 2 g Corg/kg, 0,2 g N total/kg, 0,4 mg P disponível/kg) bem como, elevadas concentrações totais de EPT (g/kg – S: 60,1, Fe: 54,1, Cu: 0,16, Zn: 1,3, As: 0,63, Sb: 0,04, Pb: 4,1) (Santos *et al.*, 2022).

O Tecnossolo elaborou-se, tendo em conta as necessidades/problemas ambientais da escombreira, a partir de diferentes resíduos industriais, nomeadamente da indústria da pasta do papel (ex. lamas biológicas, cinzas, nós de biomassa), que estão disponíveis em grandes quantidades e cuja gestão acarreta custos consideráveis. A taxa de aplicação do Tecnossolo à escombreira foi de 400 g/kg (Santos *et al.*, 2022).

O estudo baseou-se num ensaio em mesocosmos com os seguintes tratamentos: Escombreira+Bioinoculante (E+B), Escombreira+Tecnossolo+Bioinoculante (E+T+B), e Escombreira+Tecnossolo (E+T). Cada vaso apresentava ~ 3 kg de escombreira ou escombreira+Tecnossolo, uma superfície disponível de 0,0292 m² e profundidade de 0,14 m.

Após um mês de incubação dos materiais, todos os vasos foram semeados com uma pastagem comercial contendo gramíneas e leguminosas ($\sim 0,045$ kg/m² com uma taxa de germinação entre 18,9% e 22,6%). O bioinoculante foi uma mistura comercial do fungo micorrízico *Rhizoglo-mus irregularis* e *Trichoderma* que se aplicou na água da rega sobre as sementes,

de acordo com as indicações do fabricante (ATENS, Espanha). Ao longo do ensaio, os materiais foram mantidos a 70 % da capacidade de retenção de água e em condições controladas em estufa bem como, foram avaliando-se diferentes parâmetros de desenvolvimento vegetal (ex. grau de cobertura, biomassa produzida, sinais visíveis de fitotoxicidade ou deficiência nutricional).

No final do ensaio, após oito meses, colheram-se amostras dos substratos dos três tratamentos (E+B, E+T+B, E+T) para análise. A parte aérea das plantas colheu-se em dois períodos (T1: cinco meses após a sementeira; T2: três meses após T1), lavada com água da torneira, seguido pela água destilada, e depois seca a 45 °C. A massa de cada amostra de material vegetal foi quantificada e depois moída finamente para a determinação, após digestão ácida em micro-ondas, de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn por espectrofotometria de absorção atômica de chama e P por espectrofotometria de UV-VIS.

Cada amostra de Escombreira/Escombreira+Tecnossolo foi homogeneizada, seca a 45 °C e crivada. A fração <2 mm utilizou-se para a determinação do pH, condutividade elétrica e potencial redox em água (proporção 1:2,5 m/V), capacidade de troca catiónica (Peech *et al.*, 1947), C orgânico total (método de Sauerland), C inorgânico (método do calcímetro), N total (analisador LECO), P extraível (método Olsen) e concentração de nutrientes e EPT na fração disponível. A fração disponível foi extraída com água (Buján *et al.*, 2010) e os elementos determinados ICP-OES.

Os dados foram analisados estatisticamente com o programa IBM SPSS Statistics version 20. Para comparação dos tratamentos usou-se a análise de One-way ANOVA e o Dunnett T3 post-hoc test. Para valores abaixo o limite de detecção do equipamento considerou-se o mesmo valor para a análise estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escombreira com bioinoculante continuou a apresentar, como a escombreira inicial, condições ácidas e oxidantes, baixa concentração de C orgânico e nutrientes, e elevada concentração de EPT disponíveis (Quadros 1 e 2), não ocorrendo germinação.

Quadro 1 - Características físico-químicas dos materiais (E+B: Escombreira+Bioinoculante; E+T: Escombreira+Tecnossolo; E+T+B: Escombreira+Tecnossolo+Bioinoculante) colhidos no final do ensaio (Média ± Desvio padrão)

	E+B (n = 4)	E+T (n = 6)	E+T+B (n = 6)
pH	2.42 ± 0.04	8.28 ± 0.13*	8.36 ± 0.08*
CE (dS/m)	0.66 ± 0.21	5.93 ± 0.74*	6.35 ± 2.18*
Eh (mV)	506 ± 5.97	134 ± 5.27*	130 ± 2.32*
C inorgânico (g/kg)	4.09 ± 2.43	70.01 ± 19.79*	70.92 ± 25.19*
C orgânico (g/kg)	< 2.00	24.60 ± 3.54*	21.83 ± 3.50*
N total (g/kg)	0.28 ± 0.08	0.96 ± 0.20*	0.88 ± 0.19*
P disponível (mg/kg)	0.03 ± 0.07	44.81 ± 5.59*	44.38 ± 2.97*
CTC (cmol/kg)	182 ± 4.20	246 ± 7.20*	242 ± 18.96*

CE: condutividade elétrica; CTC: Capacidade de troca catiónica. *Diferenças significativas com o tratamento E+B (p < 0.05). Não se verificaram diferenças significativas entre E+T e E+T+B

Quadro 2 - Concentração elementar na fração disponível dos materiais (E+B: Escombreira+Bioinoculante; E+T: Escombreira+Tecnossolo; E+T+B: Escombreira+Tecnossolo+Bioinoculante) colhidos no final do ensaio (Média ± Desvio padrão)

mg/kg	E+B (n = 4)	E+T (n = 6)	E+T+B (n = 2)
Ca	7950 ± 432	7683 ± 410	7650 ± 2123
Mg	430 ± 109	1043 ± 266*	960 ± 453
K	<20.00	3263 ± 597*	3140 ± 1047*
Na	11.43 ± 1.61	1263 ± 266*	1316 ± 441
Al	680 ± 198	2.14 ± 0.34*	2.86 ± 0.85*
As	22.10 ± 12.14	<2.00	<2.00
B	<2.00	2.03 ± 0.08	2.10 ± 0.14
Pb	15.65 ± 3.22	2.47 ± 1.14*	4.50 ± 2.97*
Cu	32.35 ± 6.62	<2.00*	<2.00*
Fe ^a	4915 ± 1500	4.90 ± 4.90b*	26.6 ± 3.39*
Mn	41.85 ± 13.44	14.76 ± 4.93	16.39 ± 3.47
Zn	456 ± 40.54	2.03 ± 0.08*	2.50 ± 0.71*

*Diferenças significativas com o tratamento E+B (p < 0.05). ^aDiferença significativa obtida entre E+T e E+T+B para a concentração do Fe

Por contraste, nos dois tratamentos com Tecnossolo ocorreu germinação e o crescimento das plantas deu-se sem sinais de fitotoxicidade ou deficiências nutricionais. O Tecnossolo permitiu alcançar condições neutro-alcálica e subóxica (Quadro 1) e uma diminuição drástica da concentração disponível de EPT (Quadro 2), que estão em solução em forma aniônica (As) ou catiónica, sugerindo a diminuição dos processos de oxidação dos sulfuretos da escombreira. A CTC aumentou significativamente bem como outros parâmetros

associados à fertilidade (concentração de C orgânico e nutrientes na fracção disponível) (Quadros 1 e 2). As concentrações de C inorgânico bem como o pH dos materiais mostram a manutenção das propriedades alcalinas do Tecnosolo. O aumento da disponibilidade de nutrientes devido à aplicação de Tecnosolo contribuiu para valores mais altos de CE (Quadro 1) os quais podem justificar a baixa germinação de algumas espécies de herbáceas (ex. *Trifolium*) com maior sensibilidade.

Estas melhorias na qualidade química da escombreira e nos seus lixiviados, devido à acção do Tecnosolo, são conseguidas pela coexistência de diferentes constituintes e processos geoquímicos e edáficos (Macías, 2004) e já foram demonstradas em estudos prévios com outros materiais com sulfuretos de diferentes minas em activo e passivos ambientais (Arán *et al.*, 2019, 2020, 2022; Santos *et al.*, 2020, 2021). Para além da melhoria ao nível da química do solo, verificou-se visualmente uma alteração positiva da agregação e estrutura da escombreira nos tratamentos com Tecnosolo, contribuindo para a distribuição uniforme das raízes das plantas por todo o volume de material.

De um modo geral, a aplicação do bioinoculante com o Tecnosolo não contribuiu para a diferenciação das características físico-químicas do substrato relativamente ao tratamento apenas com Tecnosolo (Quadros 1 e 2). A única excepção foi observada ao nível da concentração do Fe disponível em que o

bioinoculante parece estar a limitar a imobilização do elemento.

Embora seja reportado que o uso de micorrizas contribua para o aumento da performance e desenvolvimento vegetativo (Latef *et al.*, 2016), a produção média de matéria seca produzida nos tratamentos com Tecnosolo e bioinoculante não diferiu significativamente (Quadro 3). Isto pode associar-se a que o Tecnosolo melhorou as características da escombreira de tal modo que as plantas não estavam sujeitas a nenhum stress em que fosse necessária a intervenção dos organismos do bioinoculante. De facto, verificou-se que a colonização do fungo micorrízico foi baixa (Quadro 3).

O uso do Tecnosolo permitiu uma produtividade de 370 kg/ha e 360 kg/ha, para o 1º e 2º corte respectivamente (T1 e T2), enquanto com a aplicação adicional do bioinoculante obteve-se 257 kg/ha e 346 kg/ha (T1 e T2). Estes valores foram abaixo dos rendimentos típicos de forragem agronómica em solos agrícolas não contaminados de Espanha (San Miguel *et al.*, 2016) contudo, é de realçar que a diferença pode associar-se à baixa viabilidade germinativa dos lotes de sementes (18-22 % obtido no teste de germinação). Assim, para atingir os rendimentos típicos pensa-se que só seria necessário aumentar a quantidade de semente pois, a fertilidade da escombreira+Tecnossolo foi mantida ao longo do tempo continuando com valores adequados (Quadro 3).

Quadro 3 - Características das plantas da pastagem no final de cinco meses de crescimento (T1) e após três meses do corte realizado em T1 (T2) (Média ± Desvio padrão)

	E+T em T1 (n=6)	E+T+B em T1 (n=6)	E+T T2 (n=6)	E+T+B em T2 (n=6)	LMT
Biomassa (g)	1.08 ± 0.98	0.75 ± 0.41	1.05 ± 0.49	1.01 ± 0.30	-
Colonização de AMF	-	-	0	12 ± 13	-
<i>Concentrações dos elementos (mg/kg)</i>					
P	1129 ± 205	1262 ± 302	1508 ± 112	1769 ± 211*	7000
K	36006 ± 2082	39562 ± 2482*	39746 ± 2298	41084 ± 4660	20000
Ca	3988 ± 2140	2426 ± 2076	3309 ± 1520	3144 ± 1161	15000
Mg	8703 ± 1412	10338 ± 2022	4244 ± 235	4733 ± 504	6000
Na	8509 ± 2068	10309 ± 2820	5954 ± 2127	6657 ± 1002	-
Mn	432 ± 267	580 ± 239	351 ± 212	551 ± 298	2000
Cu	14.76 ± 9.3	16.81 ± 2.92	8.95 ± 1.74	12.50 ± 8.79	40
Zn	100 ± 25.7	103 ± 28.56	75.12 ± 17.46	97.72 ± 30.13	500
Fe	417 ± 288	560 ± 222	305 ± 136	378 ± 123	500

LMT: Limite máximo tolerável pelo gado (NRC, 2005); AMF: Fungo micorrízico arbuscular; *Diferenças significativas entre tratamentos com Tecnosolo (E+T: Escombreira+Tecnossolo; E+T+B: Escombreira+Tecnossolo+Bioinoculante) para o mesmo período de colheita (p < 0.05).

Relativamente às concentrações dos elementos na parte aérea das plantas colhidas nos dois períodos de corte, observou-se que no tratamento com bioinoculante as concentrações de K na biomassa em T1 e a de P em T2 foram maiores (Quadro 3), embora a fracção disponível nos solos no final do ensaio fosse similar (Quadros 1 e 2). Estas variações podem ser um efeito do fungo *Trichoderma* durante o ensaio, o qual secreta ácidos orgânicos que podem solubilizar fosfatos ou outras fases sólidas (Anke *et al.*, 1991).

Quando comparadas as concentrações dos elementos na biomassa produzida nos dois cortes e os níveis máximos toleráveis para as dietas de gado (Quadro 3), verifica-se que apenas o K ultrapassou os valores limite (NRC, 2005). Por isso, considera-se que a pastagem produzida é adequada para consumo directo em campo ou podem ser integradas em dietas para equilibrar nutrientes de outras fontes de alimentação de baixo teor de K.

CONCLUSÕES

Os resultados mostram a possibilidade de recuperação ambiental e valorização de depósitos com materiais de escombreira ricos em sulfuretos para

a pastorícia, através da aplicação do Tecnossolo com propriedades eutrófico-alcalino. A simples aplicação do bioinoculante na escombreira não foi suficiente para obtenção de uma cobertura vegetal e melhoria das características da escombreira. Assim, para diminuição do risco de dispersão da contaminação e desenvolvimento de uma pastagem neste tipo de escombreira é imprescindível a aplicação do Tecnossolo. Nas condições em que o ensaio se realizou, o uso adicional do bioinoculante com o Tecnossolo não contribuiu para benefícios significativos na melhoria das características da escombreira e/ou estabelecimento e desenvolvimento da pastagem. Tendo em consideração as concentrações de elementos na pastagem, esta pode ser consumida sem risco pelo gado, sendo uma alternativa de uso futuro destes espaços recuperados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à: Fundação para a Ciência e Tecnologia no âmbito do projecto UID/AGR/04129/2020 do LEAF (Projecto Non-foodCropMine); Minera Los Frailes pela cooperação técnica e por fornecer acesso à área de estudo; Navigator Company e Atens por fornecerem alguns dos resíduos e o bioinoculante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, M.M. & Magalhães, M.C.F. (2009) - Phytostabilization of soils in mining areas. Case studies from Portugal. *In: Aachen, L. & Eichmann, P. (Eds.) - Soil remediation*. New York, Nova Science Publishers, Inc., pp. 297-344.
- Anke, H.; Kinn, J.; Bergquist, K.E. & Sterner, O. (1991) - Production of siderophores by strains of the genus *Trichoderma* - Isolation and characterization of the new lipophilic coprogen derivative, palmitoylcoprogen. *Biology of Metals*, vol. 4, n. 3, p. 176-180. <https://doi.org/10.1007/BF01141311/METRICS>
- Asensio, V.; Vega, F.A.; Andrade, M.L. & Covelo, E.F. (2013) - Technosols made of wastes to improve physico-chemical characteristics of a copper mine soil. *Pedosphere*, vol. 23, n. 1, p. 1-9. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(12\)60074-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(12)60074-5)
- Arán, D.; Abreu, M.M.; Diamantino, C.; Carvalho, E. & Santos, E. (2022) - Estrategia de cierre con Tecnosoles para la recuperación ambiental de la Mina de São Domingos. *Revista de Ciências Agrárias*, vol. 45, n. 4, p. 537-540. <https://doi.org/10.19084/rca.28634>
- Arán, D.; Santos, E.; Abreu, M.M.; Antelo, J., & Macías, F. (2020) - Pasture species behaviour on sulfide mine tailings rehabilitated with a designed Technosol. *In: Geophysical Research Abstracts*, Vienna, EGU2020-12598. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-12598>
- Arán D.; Santos, E.; Abreu, M.M.; Antelo, J. & Macías, F. (2019) - Impacto ambiental de residuos com sulfuros rehabilitados con Tecnosol: ensayo de lixiviación simulada. *In: Nogueira, P., Moreira, J.M.R & Maia, M. (Eds.) - Extended Abstract XII Congreso Ibérico de Geoquímica*, Évora, p. 449-452.

- Buján, E.; Garcia-Arrese, A.; Velasco-Molina, M. & Macias, F. (2010) - La disolución del suelo de comunidades de *Erica andevalensis* del entorno de las minas de Riotinto (Huelva, SO España). *Revista de Ciências Agrárias*, vol. 33, n. 1, p. 111-118. <https://doi.org/10.19084/rca.15769>
- EPA e United States Environmental Protection Agency (2000) - *Introduction to Phytoremediation*. EPA/600/R-99/107.
- Latef, A.A.H.A.; Rasool, A.H.S.; Allah, E.F.A.; Alqarawi A.A.; Egamberdieva, D.; Jan S.; Anjum, N.A. & Ahmad, P. (2016) - Arbuscular mycorrhizal symbiosis and abiotic stress in plants: a review. *Journal of Plant Biology*, vol. 59, p. 407-426. <https://doi.org/10.1007/s12374-016-0237-7>
- Lounès-Hadj, S.A.; Calonne-Salmon, M.; Labidi, S.; Megloui, H. & Fontaine, J. (2022) - Arbuscular mycorrhizal fungi-assisted phytoremediation: Concepts, challenges, and future perspectives. In: Pandey, V. (Ed.) - *Assisted Phytoremediation*, Elsevier, p. 49-100. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822893-7.00008-2>
- Macías, F. (2004) - Recuperación de suelos degradados, reutilización de residuos y secuestro de carbono. Una alternativa integral de mejora de la calidad ambiental. *Recursos Rurais*, vol. 1, p. 49-56.
- Monterroso, C.; Macías, F.; Gil Bueno, A. & Val Caballero, C. (1998) - Evaluation of the land reclamation project at the as Pontes Mine (NW Spain) in relation to the suitability of the soil for plant growth. *Land Degradation & Development*, vol. 9, n. 5, p. 441-451. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-145X\(199809/10\)9:5%3C441::AID-LDR299%3E3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-145X(199809/10)9:5%3C441::AID-LDR299%3E3.0.CO;2-U)
- NCR (2005) - *Mineral Tolerance of Animals*. Second Revised Edition. National Research Council, National Academies Press.
- Peech, M.; Alexander, L.T.; Dean, L.A. & Reed, J.F. (1947) - *Methods of soil analysis for soil fertility investigations*. USDA 575. US. Gov. Print. Office, Washington, D.C.
- San Miguel, A.; Roig, S. & Perea, R. (2016) - The pastures of Spain. *Revista Pastos*, vol. 46, n. 1, p. 6-39.
- Santos, E. & Arán, D. (2021) - Linking circular economy and environmental rehabilitation in the designed Technosols for high mountain pastures implementation. In: *Geophysical Research Abstracts*, Vienna, EGU21-15508. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu21-15508>
- Santos, E.S.; Abreu, M.M.; de Varennes, A.; Macías, F.; Leitão, S. & Cerejeira, M.J. (2013) - Evaluation of chemical parameters and ecotoxicity of a soil developed on gossan following application of polyacrylates and growth of *Spergularia purpurea*. *Science of the Total Environment*, vol. 461-462, p. 360-370. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.05.003>
- Santos, E.S.; Abreu, M.M.; Macías, F. & de Varennes, A. (2016) - Chemical quality of leachates and enzymatic activities in Technosols with gossan and sulfide wastes from the São Domingos mine. *Journal of Soils and Sediments*, vol. 16, n. 4, p. 1366-1382. <https://doi.org/10.1007/s11368-015-1068-8>
- Santos, E.S.; Abreu, M.M. & Macías, F. (2019) - Rehabilitation of mining areas through integrated biotechnological approach: Technosols derived from organic/inorganic wastes and autochthonous plant development. *Chemosphere*, vol. 224, p. 765-775. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.172>
- Santos, E.; Cornejo, M.; Arán, D. & Gallardo, A. (2020) - Risk assessment of the land recovery to pastures on sulfide tailings closed with different systems: conventional vs technosol. In: *Geophysical Research Abstracts*, Vienna, EGU2020-12527. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-12527>
- Santos, E.; Pastrac-Lungu, A.; Nogales, A.; Abreu, M.M. & Arán D. (2022) - Rehabilitation of sulfide tailings through designed Technosol and microbial-inoculant. *Revista de Ciências Agrárias*, vol. 45, n. 4, p. 505-508. <https://doi.org/10.19084/rca.28609>
- Sood, M.; Kapoor, D.; Kumar, V.; Sheteiwy, M.S.; Ramakrishnan, M.; Landi, M.; Araniti, F., & Sharma, A. (2020) - Trichoderma: The "Secrets" of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants*, vol. 9, n. 6, art. 762. <https://doi.org/10.3390/PLANTS9060762>
- Springer, U. & Klee, J. (1954) - Prüfung der Leistungsfähigkeit von einigen wichtigeren Verfahren zur Bestimmung des Kohlenstoffs mittels Chromschwefelsäure sowie Vorschlag einer neuen Schnellmethode. *Zeitschrift Für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde*, vol. 64, n. 1, p. 1-26.
- Tordoff, G.M.; Baker, A.J.M. & Willis, A.J. (2000) - Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere*, vol. 41, n.1-2, p. 219-228. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00414-2](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00414-2)
- Zhu L.; Zhao X.; Wang J.; Wang P. & Tian C. (2022) - Thichoderma affects plant growth and soil ecological environment: A review. *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 109, n. 4, p. 341-348. <https://doi.org/10.13080/z-a.2022.109.044>