



Instituto Politécnico de Tomar

Escola Superior de Tecnologia de Tomar

Andreia Filipa Pinheiro Ramos

Marina Simões de Matos

**Ensaio de Monitorização Ambiental da Reserva Natural do
Paul do Boquilobo**

Projecto

Orientado por:

Doutor Luís Santos, Instituto Politécnico de Tomar

Doutora Cecília Baptista, Instituto Politécnico de Tomar

Júri:

Mestre Teresa Silveira, Instituto Politécnico de Tomar

Projecto apresentado ao Instituto Politécnico de Tomar para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciado em Engenharia do Ambiente e Biológica

Dedicamos este trabalho aos
nossos familiares e amigos, que
nos apoiaram, ao Instituto
Politécnico de Tomar e à
Reserva Natural do Paul do
Boquilobo

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não teria sido realizado sem o apoio de inúmeras pessoas. Queremos expressar o nosso agradecimento a todos os que nos apoiaram e às entidades que tornaram possível toda a elaboração deste projecto.

O nosso primeiro agradecimento irá para os nossos orientadores, Doutor Luís Filipe Neves Carreira dos Santos e Doutora Cecília de Melo Correia Baptista pela admirável orientação ao longo deste projecto.

Aos responsáveis pelos laboratórios de Engenharia do Ambiente e Biológica, Engenheira Isabel Silva e ao Engenheiro Alcino Serras, à auxiliar de Educação Manuela Silva, ao Doutor Victor Gaspar responsável pelos laboratórios de Física, Química e Raio X. Ao nosso colega Vasco Augusto Amaro Lopes, pela assistência durante a elaboração do projecto.

Ao responsável pela Reserva Natural do Paul do Boquilobo, Arq. Fernando Pereira, por nos ter permitido a realização deste projecto e ter estado disponível para qualquer tipo de esclarecimento.

Ao Sr. Fernando Pinto e ao Sr. António Figueiredo que se disponibilizaram para nos ajudar nas nossas recolhas e nas nossas deslocações pela Reserva.

Agradecemos portanto às entidades supracitadas, pelo apoio que foi indispensável para o nosso projecto decorrer da melhor maneira:

-Escola Superior de Tecnologia, Instituto Politécnico de Tomar e Reserva Natural do Paul do Boquilobo pela disponibilidade apresentada, tanto ao nível de instalações como ao nível de equipamento.

A todos os familiares e amigos, que directa ou indirectamente contribuíram para que este projecto se elaborasse da melhor maneira possível. A todos vós, um sincero obrigado.

RESUMO

Este projecto vem na sequência dos projectos de monitorização ambiental da Reserva Natural do Paul do Boquilobo realizados nos anos anteriores e visa continuar a análise ambiental desta área protegida. As recolhas foram efectuadas em quatro pontos representativos da Reserva nos meses de Março, Abril, Maio e Junho, correspondendo aos pontos 1, 4 e 6 analisados anteriormente, com o objectivo de continuar a sequência de monitorização ambiental já implementada. No ano corrente foi também analisado o ponto 7, correspondente ao Limnígrafo, que se situa no centro do lago Natural existente na zona da Reserva Integral. Este ponto ainda não tinha sido analisado em anos anteriores, não sendo portanto um ponto passível de comparação. As análises efectuadas contemplam os parâmetros físico-químicos - Temperatura, pH, Condutividade, Oxigénio Dissolvido, Fosfatos, Nitratos, CBO₅, CQO e Sólidos Suspensos e Dissolvidos Totais. Foram ainda determinados parâmetros microbiológicos, nomeadamente Microrganismos Cultiváveis a 22°C e a 36°C, Coliformes Totais e *E.coli* e parâmetros biológicos, utilizando macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores da qualidade da água.

O objectivo do estudo desta área protegida prende-se com a necessidade de prever e acompanhar as principais alterações ambientais nos diferentes ecossistemas desta Reserva, que representa uma zona classificada e de extrema importância para a biodiversidade da região e do país.

Os resultados indicam alterações na qualidade da água, principalmente devido à contribuição do rio Almonda, à sazonalidade, à elevada precipitação ocorrida e consequentemente às alterações de caudal nos meses analisados. Verificou-se um valor de Fosfatos e Nitratos mais elevados do que o encontrado em anos anteriores. Os bioindicadores ajudam a confirmar os resultados químicos, observando-se um elevado valor de diversidade e abundância de famílias. O índice BMWP' permitiu atribuir uma classificação às águas que as identificou como sendo muito poluídas e com o ecossistema natural alterado.



A continuação da monitorização da Reserva contribui para uma melhor compreensão do funcionamento da mesma e pode servir como base para a sua conservação.

PALAVRAS-CHAVE: Monitorização, qualidade da água, parâmetros físico-químicos, parâmetros microbiológicos, macroinvertebrados, Reserva Natural do Paul do Boquilobo.

ABSTRACT

This project follows on from the environmental monitoring project of Boquilobo Nature Reserve developed in previous years aiming to further environmental analysis of this protected area. The sampling was made in four representative points of the Reserve in the months of March, April, May and June, corresponding to points 1, 4 and 6 previously analyzed, continuing the sequence of environmental monitoring already implemented. In the current year point 7 was also analyzed, corresponding to Linnígrafo, which lies in the center of the existing Natural marsh in the reserved area. This point had not yet been analyzed in previous years, complementing a likely point of comparison. The analysis include the physical and chemical parameters - Temperature, pH, Conductivity, Dissolved Oxygen, Phosphates, Nitrates, BOD5, COD and Suspended and Total Dissolved Solids. Microbiological parameters were also determined, in particular Cultivable Microorganisms at 22 ° C and 36 ° C, Total Coliform, E.coli and biological parameters using benthic macroinvertebrates as indicators of water quality.

The purpose of the study lies in the need to forecast and monitor key environmental change on different ecosystems of this reserve, which is endangered by human stress and extremely important to the biodiversity of the region and the country.

The results indicate changes in water quality, mainly due to the contribution of Almonda river with a seasonal response, when high precipitation occurs with a consequent change in flow observed throughout the analyzed months. Comparatively to previous years a higher amount of phosphates and nitrates was obtained. The biological samples of macroinvertebrates confirmed the chemical results, observing a high value of diversity and abundance of families where water quality improved. The BMWP index classified water quality as highly polluted, bringing to evidence the altered the Natural ecosystem.

Continued monitoring of the Reserve contributes to a better understanding of its function and can serve as a basis for their conservation.



KEYWORDS: Monitoring, water quality, physical and chemical parameters, microbiological parameters, macroinvertebrates, Marsh, Nature Reserve of Paul do Boquilobo.

Índice

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
Introdução Geral	xix
Capítulo 1	1
Reserva Natural do Paul do Boquilobo	1
1.1. Classificação e Legislação	3
1.2. Caracterização e Localização Geográfica	4
1.3. Enquadramento Histórico e Cultura	7
1.4. Valores Naturais	9
1.4.1. Fauna	9
1.4.2. Flora	17
1.4.3. Habitats	21
1.4.4. Geologia, Hidrologia e Clima	22
1.4.4.1. Geologia	22
1.4.4.2. Hidrologia	23
1.4.4.3. Clima	24
1.5. Problemas ambientais	24
Capítulo 2	27
Bioindicadores	27
Introdução	29
2.1. Macroinvertebrados como bioindicadores da qualidade da água	30
2.2. A Directiva-Quadro da Água	34
2.3. Índice de avaliação	35
2.4. Metodologia	36

2.4.1. Pontos de Recolha (escolha dos locais).....	36
2.4.2. Determinação dos macroinvertebrados (métodos e identificação).....	40
2.5. Resultados e Discussão	44
Capítulo 3	53
Análises Físico-Químicas e Microbiológicas	53
Introdução.....	55
3.1. Recolha de Amostras.....	57
3.2. Análise dos parâmetros físico-químicos	58
3.2.1. Temperatura.....	58
3.2.2. pH.....	59
3.2.3. Condutividade.....	59
3.2.4. Sólidos Dissolvidos Totais e Sólidos Suspensos Totais.....	60
3.2.5. Oxigénio Dissolvido	61
3.2.6. Carências de Oxigénio.....	63
3.2.7. Fosfatos.....	63
3.2.8. Nitratos	64
3.3. Apresentação e Discussão de Resultados.....	65
3.3.1. Análise Descritiva.....	65
3.3.2. Análise Estatística	77
Conclusão	89
Bibliografia/Webgrafia.....	93
Anexo A.....	103
Bioindicadores	103
Anexo B.....	107
Análises Físico-Químicas e Microbiológicas	107
Procedimentos Experimentais	109

Anexo C.....	137
Tabela Geral das Análises efectuadas	137
Físico-Químicas, Macroinvertebrados e Microbiológicas	137

Lista de Abreviaturas

É bastante comum recorrer-se à utilização de abreviaturas ao longo do texto.

O significado de tais palavras encontram-se abaixo identificadas:

RNPB – Reserva Natural do Paul do Boquilobo

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

NP – Norma Portuguesa

OD – Oxigénio Dissolvido

CQO – Carência Química de Oxigénio

CBO₅ – Carência Bioquímica de Oxigénio (5 dias)

SDT – Sólidos Dissolvidos Totais

SST – Sólidos Suspensos Totais

SIG – Sistemas de Informação Geográfica

ZPE – Zona de Protecção Especial

ZPI – Zona de Protecção Integral

BMWP' - Biological Monitoring Working Party

CONVENÇÃO RAMSAR - Convenção sobre as zonas húmidas de importância Internacional

UNESCO- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization

MAB- Reserva da Biosfera (UNESCO)

Lista de Figuras

Figura 1- A Reserva inundada no mês de Abril	4
Figura 2- Localização da Reserva em Portugal Continental	5
Figura 3- Mapa da Reserva (ICNF, sd)	6
Figura 4- Símbolo da Reserva (ICNF, sd).....	6
Figura 5- Quinta do Paul do Boquilobo (ICNF, sd)	7
Figura 6- Quinta da Broa (Coatfish, 2009).....	8
Figura 7- Papa-ratos (<i>Ardeola ralloides</i>) (MVBio, sd).....	10
Figura 8- Garça-boieira (<i>Buculus ibis</i>) (MVBio, sd).....	10
Figura 9- Galeirão (<i>Fulica atra</i>) (ducks, 2013).....	10
Figura 10- Zarro-comum (<i>Aythya ferina</i>) (Viana, sd)	11
Figura 11- Peneireiro-comum (<i>Falco tinnunculus</i>) (Simões, sd)	11
Figura 12- Pica-pau-galego (<i>Dendrocopus minor</i>) (Gonçalves, sd).....	12
Figura 13- Marrequinha-comum (<i>Anas crecca</i>) (Caldas, sd)	13
Figura 14- Águia-pesqueira (<i>Pandion haliaetus</i>) (Simões, sd)	13
Figura 15- Geneta (<i>Genetta genetta</i>) (Vartianae, sd)	14
Figura 16- Toirão (<i>Mustela putoris</i>) (Costa, 2009)	14
Figura 17- Tritão-de-ventre-laranja (<i>Triturus boscai</i>) (Henriques, 2009).....	15
Figura 18- Rã- ibérica (<i>Rana ibérica</i>) (Ribeiro, 2009).....	15
Figura 19- Cobra-de-água-viperina (<i>Natrix maura</i>) (Braz & Cruz, 2009).....	15
Figura 20- Cágado-de-carapaça-estriada (<i>Emys orbicularis</i>) (Cruz, 2009)	16
Figura 21- Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>) (Battafarano, 2000).....	16
Figura 22- Boga-portuguesa (<i>Iberochondrostoma lusitanicum</i>) (JN, 2011).....	16
Figura 23- Lagostim-vermelho da Louisiana (<i>Procambarus clarkii</i>) (Campo, sd).....	17
Figura 24- Caniço (<i>Phragmites australis</i>) (Lopes, sd)	18
Figura 25- Lírio-amarelo (<i>Iris pseudacorus</i>) (Lopes, sd).....	18
Figura 26- Tabúa (<i>Typha dominguensis</i>) (Nunes, sd)	19
Figura 27- Trolha (<i>Scrophularia scorodonia</i>) (Silva, 2012)	19
Figura 28- Jacinto-de-água (<i>Eichhornia crassipes</i>) (Invasoras, 2013).....	19
Figura 29- Gilbardeira (<i>Ruscus aculeatus</i>) (Passos, 2008).....	20
Figura 30- Junco-florido (<i>Butomus umbellatus</i>) (guiaverde, 2014)	20
Figura 31- Salgueiro-branco (<i>Salix alba</i>) (LookForDiagnosis, 2009)	21

Figura 32- Sobreiro (<i>Quercus suber</i>) (António, 2009).....	21
Figura 33- Carta Geológica (1969) (Godinho <i>et al</i> , 2012).....	23
Figura 34- Macroinvertebrados Bentónicos nos.....	33
Figura 35- Locais de Amostragem da Reserva Natural do Paul do Boquilobo (ICNF, sd)	37
Figura 36- Limnígrafo (Ponto 7).....	38
Figura 37- Ponte do Himalaia (Ponto 6).....	38
Figura 38- Início da Reserva (Ponto 1).....	39
Figura 39- Ponte da Broa (Ponto 4).....	39
Figura 40- Recolha de macroinvertebrados em meio lótico.....	40
Figura 41- Recolha da caixa de macroinvertebrados, em condições lênticas.....	41
Figura 42- Caixa com recolha de macroinvertebrados e com adição de álcool a 96%.....	41
Figura 43- Caixas de Petri com macroinvertebrados.....	42
Figura 44- F. Physidae.....	43
Figura 45- Chironomidae Pupa.....	43
Figura 46- Ephemeroptera.....	43
Figura 47- F. Ephemeridae.....	43
Figura 48- F. Simuliidae.....	43
Figura 49- F. Simuliidae Ninfa.....	44
Figura 50- F. Ceratopogonidae.....	44
Figura 51- Abundância relativa das famílias de macroinvertebrados.....	45
Figura 52- Gráfico da Abundância dos macroinvertebrados nos pontos de amostragem ao longo das 4 recolhas.....	47
Figura 53- Gráfico do número de famílias de macroinvertebrados nos pontos de amostragem ao longo das 4 recolhas.....	49
Figura 54- Gráfico com os valores dos Índices de BMWP' obtidos.....	50
Figura 55- Perfil de temperatura <i>in situ</i> ao longo do período de monitorização.....	66
Figura 56-Perfil do pH, em laboratório, ao longo dos meses de monitorização.....	67
Figura 57- Perfil de condutividade, em laboratório, ao longo dos meses de monitorização.....	68
Figura 58- Perfil de oxigénio dissolvido, analisado em laboratório, ao longo do período de monitorização.....	69
Figura 59- Perfil dos sólidos dissolvidos totais, medidos em laboratório, ao longo do período de monitorização.....	70

Figura 60- Perfil dos sólidos suspensos totais ao longo do período de monitorização	71
Figura 61- Perfil de fosfatos ao longo do período de monitorização	72
Figura 62- Perfil dos nitratos ao longo do período de monitorização	72
Figura 63- Perfil de CQO ao longo do período de monitorização.....	73
Figura 64- Perfil de CBO ₅ ao longo do período de monitorização	74
Figura 65- Perfil de M. Cultiváveis a 36° C ao longo do período de monitorização	75
Figura 66- Perfil de coliformes ao longo do período de monitorização	76
Figura 67- Dendrograma de similaridade das amostras, criado a partir das correlações entre as variáveis	80
Figura 68- Variância dos principais factores	81
Figura 69- Plot de todas as variáveis químicas com três factores	82
Figura 70- Valores de análise dos factores com os dados agrupados pelo local de recolha	83
Figura 71- Dendrograma de similaridade das amostras criado a partir das correlações entre as variáveis	85
Figura 72- Variância dos principais factores	85
Figura 73- Plot de todas as variáveis químicas com quatro factores.....	87
Figura 74- Valores de análise dos factores com os dados agrupados pela data de recolha.	88

Lista de Tabelas

Tabela 1- Representa os habitats existentes na RNPB (ICNF, sd).....	22
Tabela 2-Relação entre os valores de BMWP' com cinco graus de contaminação, segundo Alba-Tercedor (Hídricos, sd).....	51
Tabela 3- Classificação de todos os pontos e datas de recolha quanto a sua classe e qualidade da água, usando como base o índice BMWP'	52
Tabela 4- Correlação entre três factores.....	79
Tabela 5- Correlação entre três factores.....	84

Introdução Geral

A Reserva Natural do Paul do Boquilobo é uma zona húmida de água doce, com as suas zonas interiores alagadas durante praticamente todo o ano, situada na confluência dos rios Tejo e Almonda, bem perto da Golegã. Esta Reserva é particularmente importante graças ao número variado de espécies que nela habitam, apresentando um grande interesse ecológico, nomeadamente ao nível da protecção da fauna, flora e regulação dos cursos hídricos. Assim, pela importância deste local, surgiu a necessidade de uma monitorização continua que permita um acompanhamento da evolução da Reserva e auxiliar intervenção em qualquer problema que possa surgir no processo de gestão desta área protegida (ICNF, sd).

O presente trabalho foi desenvolvido na sequência dos ensaios de monitorização ambiental à Reserva Natural do Paul do Boquilobo elaborados por outros grupos de alunos, desde o ano lectivo 2010/2011. Deste modo, pretende-se continuar a monitorização das águas superficiais desta zona húmida de elevada importância como zona de nidificação de aves migratórias, possuindo uma diversidade de avifauna muito importante no país como por exemplo a colónia *Buculus íbis*. Tal facto levou a que fosse o primeiro local português a ser proposto para integrar a rede de Reservas da Biosfera (MAB, UNESCO), tendo obtido essa chancela em 1981 (Curado, 2009).

O principal objectivo é analisar e compreender os impactes negativos que a Reserva sofre, nomeadamente a nível da poluição, devido às actividades envolventes, principalmente a agricultura e a pecuária. Pretende-se também fazer uma comparação com os resultados dos anos anteriores.

No âmbito deste estudo, foram realizadas colheitas de amostras de água superficiais em quatro pontos da Reserva durante os meses de Março, Abril, Maio e Junho de 2014, sendo feitas quatro recolhas durante esses meses. Posteriormente procedeu-se a uma análise física e química das águas recolhidas, assim como uma análise microbiológica que nos permitiu conhecer mais sobre os microrganismos presentes em cada local e o seu papel na qualidade das águas. Foram também realizadas recolhas aos macroinvertebrados bentónicos, de forma periódica, com o fim de analisarmos a existência de vida nos meios aquáticos e a qualidade das águas, funcionando como bioindicadores.

Capítulo 1

Reserva Natural do Paul do Boquilobo

Resumo: Neste capítulo pretende-se fazer uma caracterização da Reserva Natural do Paul do Boquilobo, abordando a sua classificação, legislação, localização, enquadramento histórico, fauna, flora e valores naturais.

1.1. Classificação e Legislação

A Reserva Natural do Paul do Boquilobo (RNPB) acompanha um troço do rio Almonda, que nasce na Serra de Aire e desagua na margem direita do Tejo, representando uma zona húmida com características de Paul, inundada sazonalmente pelo transbordo do rio Almonda e do Tejo (ICNF, sd).

Esta Reserva constitui o maior ecossistema aquático representativo de zonas húmidas interiores, que têm vindo a sofrer um declínio acentuado devido à drenagem para a agricultura. As aves constituem o principal valor desta Reserva, sendo a razão da sua classificação como Reserva Natural em 1980 pelo Decreto-Lei nº 198/80, de 24 de Junho (ICNF, sd). Posteriormente, a Reserva foi reclassificada em 1997 pelo Decreto Regulamentar Nº 49/97 de 20 de Novembro (Curado, 2009). A Reserva contém uma importante colónia de garças, colhereiros e outras espécies vindas em parte do continente africano. Recebe também significativas populações de anatídeos do norte da Europa. É um ponto importante nas migrações outonais de passeriformes e outras aves sendo que nela nidificam algumas espécies raras em Portugal e na Europa (ICNF, sd).

O reconhecimento, pelo Governo Português, desta Área Protegida permitiu melhorar o aproveitamento agrícola da área central mais sensível da Reserva (ICNF, sd). Anteriormente com uma área de 529 ha, a Reserva teve os seus limites alargados a 23 de Março de 2005 pelo Decreto Regulamentar nº 2/2005, passando assim a abranger também o concelho de Torres Novas, além do concelho da Golegã, passando a ter uma área total de 817 hectares. Este alargamento de limites é de grande importância, permitindo a conservação de um conjunto de valores paisagísticos, naturais e patrimoniais existentes no concelho de Torres Novas, a noroeste dos antigos limites (Curado, 2009). A Resolução de Conselho de Ministros nº 50/2008, de 18 de Março, veio definir o Plano de Ordenamento (ICNF, sd).

Em 1981, esta Área Protegida foi reconhecida internacionalmente como Reserva da Biosfera, sendo a primeira Área Protegida portuguesa a ter esta distinção, na tentativa de preservar espaços naturais representativos dos principais ecossistemas (Mira, 2012). Em 1996, foi também considerada uma Zona Húmida de Importância Internacional ao abrigo

da Convenção de Ramsar. Desde 1999, devido à sua importância para a avifauna, está também classificada como uma Zona de Protecção Especial de acordo com a Directiva n.º 2009/147/CE (ICNF, sd).

A Zona de Protecção Especial para as Aves Selvagens (Paul do Boquilobo) integra a Rede Natura 2000. Para além deste estatuto, o Paul é uma das áreas naturais portuguesas integradas na Rede de Reservas da Biosfera da UNESCO (Planetazul, 2009).

1.2. Caracterização e Localização Geográfica

Esta Reserva é uma zona húmida Natural de água doce, rodeada por pântanos e situada numa planície aluvial. O Paul regista uma elevada variação do nível da água, com as suas zonas interiores alagadas durante praticamente todo o ano. Esta zona é inundada no Inverno (Figura 1) devido às cheias dos Rios Tejo e Almonda e é parcialmente seca na Primavera, criando largas áreas para cultivo. As zonas encontram-se cobertas por várias espécies de plantas aquáticas e caniçais, pelo que o período mais agradável para visita é entre os meses de Março e Julho, quando a Reserva fica coberta do verde que a caracteriza. É na Reserva Natural do Paul do Boquilobo que está instalada a maior colónia de garças da Península Ibérica, sendo por isso extremamente importante na conservação de aves aquáticas. O Paul actua como uma zona tampão, contribuindo para uma protecção das zonas agrícolas devido a erosão provocada pelas cheias do Inverno. Esta zona húmida tem sido muito importante na retenção de partículas aluviais levadas pelos Rios Tejo e Almonda, criando assim uma área muito fértil, contribuindo para o desenvolvimento económico deste local (Curado, 2009).



Figura 1- A Reserva inundada no mês de Abril

A Reserva Natural situa-se no centro de Portugal no distrito de Santarém (Curado, 2009). Localiza-se perto da confluência do Rio Almonda com o Rio Tejo (na bacia hidrográfica do Rio Almonda, afluente da margem direita do Tejo) e entre os concelhos de Torres Novas e Golegã na parte sudeste da freguesia da Brogueira (Carreira, 2001) (Figura 2). Ocupa uma área total de 817 ha, que se subdivide em 4 zonas distintas com diferente grau de protecção: área de protecção total (189 ha), área de protecção parcial (167 ha), área de protecção complementar (436 ha) e zona de intervenção específica (25 ha). A propriedade do Estado ocupa uma área total de 177 ha correspondendo a 150 ha de área de protecção total, a 25,5 ha de área de protecção parcial e a 0,5 ha em zona de intervenção específica (ICNF, sd).

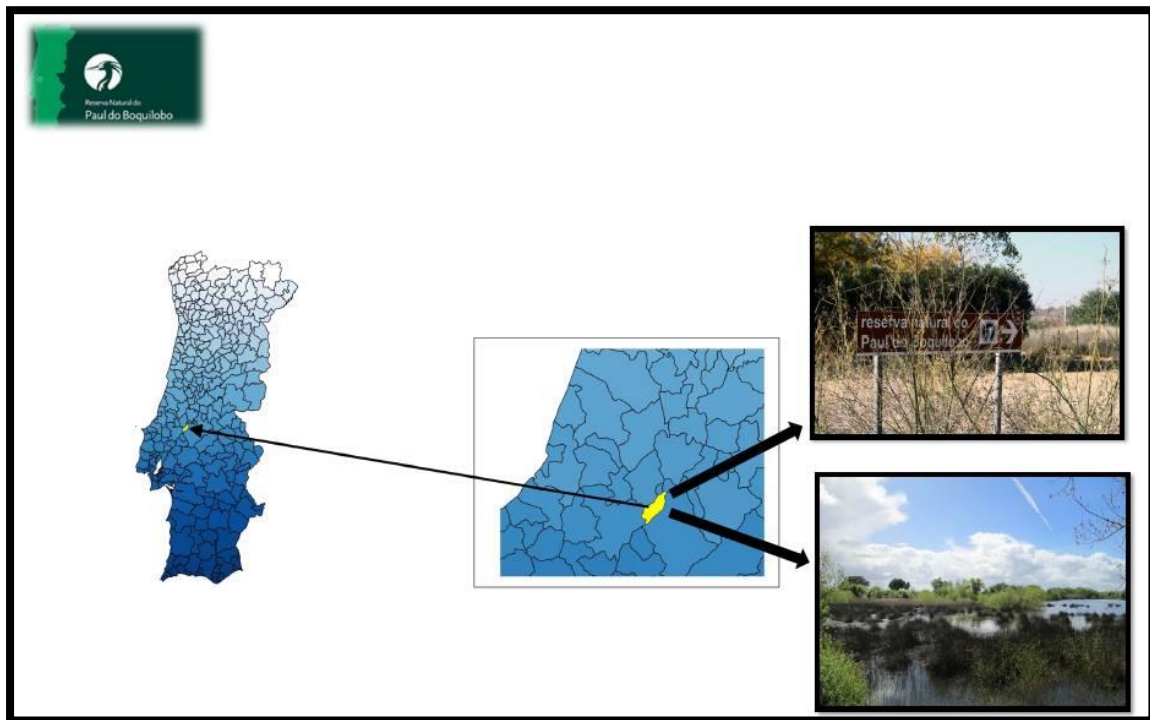


Figura 2- Localização da Reserva em Portugal Continental

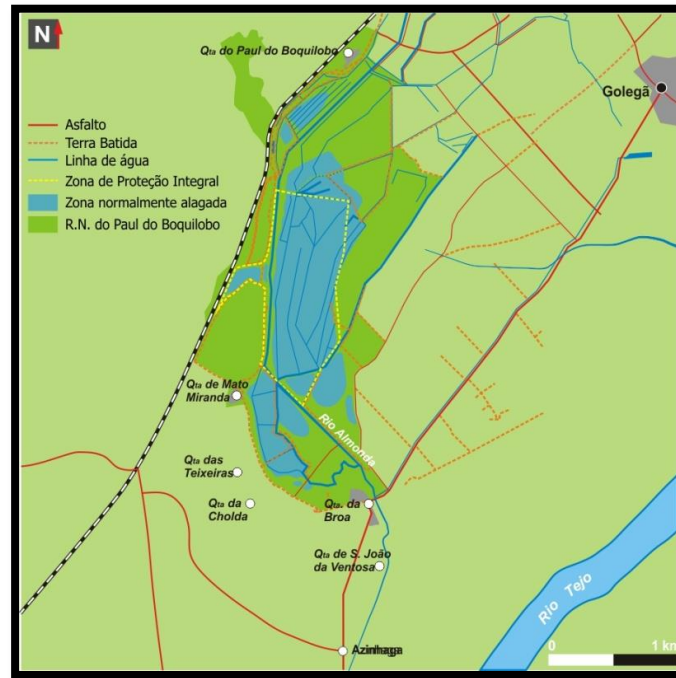


Figura 3- Mapa da Reserva (ICNF, sd)

A importância da colónia de garças residente é evidenciada pelo símbolo da Reserva Natural do Paul do Boquilobo que é a representação de uma Garça-boieira (*Buculus ibis*) (Figura 4), sendo das mais importantes colónias de garças da Península Ibérica (ICNF, sd).



Figura 4- Símbolo da Reserva (ICNF, sd)

1.3. Enquadramento Histórico e Cultura

A necessidade de conservação desta zona húmida está associada à sua integração em Quintas de dimensão razoável, nomeadamente as Quintas do Paul do Boquilobo, de Mato Miranda e da Broa. Isto permitiu a coexistência (até aos anos 70 do século XX) da caça, da pastagem para gado cavalariço e dos arrozais. Os centros destas quintas constituem o principal património edificado da Reserva Natural do Paul do Boquilobo (ICNF, sd).

A Quinta da Nossa Senhora da Graça ou a Quinta do Paul do Boquilobo (Figura 5), nome mais conhecido, pertenceu à Ordem do Templo e à Ordem de Cristo até ao século XV, sendo, posteriormente, doada pelo rei D. João I ao seu filho infante D. Henrique em 1432. (Planetazul, 2009). Em 1436, o mesmo infante cede o Paul a D. Fernando de Castro, administrador da sua casa. D. Fernando tornou o Paul num espaço agrícola (produzindo essencialmente tomate, melão e milho), excepto a zona mais alagada, que permaneceu como Paul, sendo utilizada para caça pelos reis e pela nobreza (Mira, 2012). O Paul do Boquilobo passou por várias situações quer quanto à posse, quer quanto ao seu aproveitamento, acabando por vir a ser propriedade da família Margiochi e dos seus descendentes, após ter sido comprada pelo Dr. José Maria Eugénio de Almeida. As culturas de cânhamo e arroz estavam largamente difundidas na área, sendo posteriormente substituídas, a partir dos anos 70, por milho e girassol (Carreira, 2001). Esta Quinta contém essencialmente casas de habitação e diversas construções agrícolas, existentes já no século XVII. A antiga capela da Nossa Senhora da Graça foi substituída pela designada Ermida velha. Actualmente a exploração da actividade agrícola é realizada pelos seus proprietários (ICNF, sd).



Figura 5- Quinta do Paul do Boquilobo (ICNF, sd)

A Quinta de Mato Miranda foi uma das propriedades da Casa de Rio Maior, pertencente ao actual proprietário, Engenheiro João Vicente Saldanha (Marquês de Rio Maior), neto do Sr. Marquês, que tinha iniciado a administração da Quinta a partir dos anos 20. Foi feita uma vinha à entrada da Quinta, mas na década de 90 foi inteiramente arrancada. No século XIX, existia apenas um celeiro, à entrada do qual, se escreveram as palavras: Conde de Rio Maior 1877. Na época, o centro de lavoura era a Quinta de S. João da Ventosa, local no qual terá havido um palácio, e que terá ardido posteriormente. As restantes construções, que permanecem actualmente, existem desde a primeira metade do século XX (ICNF, sd).

A Quinta da Broa (Figura 6), antigamente denominada por Quinta do Almonda, terá pertencido à família de Zarco da Câmara. Esta quinta foi adquirida, no século XIX (em 1831), pelos irmãos Manuel e Rafael José da Cunha (Coatfish, 2009). Rafael era conhecido pela sua generosidade em oferecer broa aos necessitados, o que fez com que a quinta ficasse conhecida como Quinta da Broa. Das três quintas pertencentes à Reserva, esta é a que tem o património construído mais monumental, sendo que o edifício principal tem 365 janelas. Um antigo edifício foi, recentemente, transformado num picadeiro coberto. Os cavalos lusitanos criados nesta quinta são muito famosos pela sua qualidade (ICNF, sd).



Figura 6- Quinta da Broa (Coatfish, 2009)

1.4. Valores Naturais

1.4.1. Fauna

No Paul do Boquilobo foram inventariadas 16 espécies de peixes, 11 espécies de répteis, 13 espécies de anfíbios, 27 espécies de mamíferos e foram observadas cerca de 221 espécies de aves (ICNF, sd).

As aves são o principal valor desta Reserva Natural, sendo a principal razão pela qual ela é classificada como Reserva Natural e representando o maior valor para a conservação (Curado, 2009). As aves refugiam-se maioritariamente em zonas inacessíveis ao visitante, o que torna bastante difícil a observação de aves aquáticas neste local (avesdeportugal, sd). O Paul é um local de nidificação, repouso e alimentação para numerosas espécies aquáticas e alberga uma importante colónia de garças (a maior colónia de garças da Península Ibérica) e colhereiros na Primavera, vindas em parte de África, e proporciona boas condições de refúgio a um grande número de anatídeos no Outono e no Inverno, vindos do Norte da Europa (Carreira, 2001). Destaca-se a presença da garça-boieira (*Bubulcus ibis*) (Figura 8), garça-branca-pequena (*Egretta garzetta*), goraz (*Nycticorax nycticorax*), garça-cinzenta (*Ardea cinerea*) e garça-vermelha (*Ardea purpurea*) (ICNF, sd). O Paul do Boquilobo foi o único local do país onde se registou a nidificação regular de paparratos (*Ardeola ralloides*) (Figura 7) até 1991, sendo que este ainda pode ser observado esporadicamente (Curado, 2009). O colhereiro (*Platalea leucorodia*) também nidifica nesta Reserva, sendo um dos seus poucos locais de nidificação desta espécie, em Portugal. Recentemente, tem-se verificado a nidificação de íbis-preta (*Plegadis falcinellus*) e de corvo-marinho-de-faces-brancas (*Phalacrocorax carbo*). Contabilizando a cegonha-branca (*Ciconia ciconia*) e um ou dois casais de milhafre-preto (*Milvus migrans*) constata-se que esta colónia tem um total de 11 espécies (único em termos nacionais e raro a nível europeu) (ICNF, sd).



Figura 7- Papa-ratos (*Ardeola ralloides*) (MVBio, sd)



Figura 8- Garça-boeira (*Buculus ibis*) (MVBio, sd)

Quanto às aves aquáticas, evidencia-se: galeirão (*Fulica atra*) (Figura 9), pernilongo (*Himantopus himantopus*), zarro-comum (*Aythya ferina*) (Figura 10), pato-trompeteiro (*Anas clypeata*), mergulhão-pequeno (*Tachybaptus ruficollis*) e mergulhão-de-crista (*Podiceps cristatus*), borrelho-pequeno-de-coleira (*Charadrius dubius*), rouxinol-grande-dos-caniços (*Acrocephalus arundinaceus*), felosa-unicolor (*Locustella naevia*). Outrora ocorreu a nidificação da gaivina-dos-pauis (*Chlidonias hybrida*). O marreco (*Anas querquedula*), também está registado como nidificante, embora apenas tenha indivíduos de passagem (ICNF, sd)



Figura 9- Galeirão (*Fulica atra*) (ducks, 2013)



Figura 10- Zarro-comum (*Aythya ferina*) (Viana, sd)

Em relação às aves terrestres, que aqui procriam, são de referir o peneireiro-comum (*Falco tinnunculus*) (Figura 11), o peneireiro-cinzento (*Elanus caeruleus*), a coruja-do-mato (*Strix aluco*), o noitibó-de-nuca-vermelha (*Caprimulgus ruficollis*), o pica-pau-malhado-grande (*Dendrocopus major*), o pica-pau-galego (*Dendrocopus minor*) (Figura 12), a andorinha-dáurica (*Cecropis daurica*) ou o pardal-francês (*Petronia petronia*) (ICNF, sd).



Figura 11- Peneireiro-comum (*Falco tinnunculus*) (Simões, sd)



Figura 12- Pica-pau-galego (*Dendrocopos minor*) (Gonçalves, sd)

Pelas suas características, o Paul é um local privilegiado de refúgio e alimentação para muitas espécies e, em certos anos, o número de aves invernantes atinge os 5 mil. Chegam por volta de Outubro/Novembro, permanecendo durante todo o Inverno. Na Primavera regressam ao Norte da Europa, coincidindo com a chegada das garças ao Paul (Curado, 2009). As aves invernantes são sobretudo os anatídeos, que representam mais de 50% da população invernante, como o arrábio (*Anas acuta*) e o zarro-comum (*Aythya ferina*). Regista-se também a presença regular da marrequinha (*Anas crecca*) (Figura 13), da piadeira (*Anas penelope*), da frisada (*Anas strepera*), do pato-trombeteiro (*Anas clypeata*), do pato-real (*Anas platyrhynchos*) ou do zarro-negrinha (*Aythya fuligula*). A águia-pesqueira (*Pandion haliaetus*) (Figura 14), o esmerilhão (*Falco columbarius*) o falcão-peregrino (*Falco peregrinus*), a coruja-do-nabal (*Asio flammeus*), a garça-branca-grande (*Egretta alba*) o abibe (*Vanellus vanellus*), a tarambola-dourada (*Pluvialis apricaria*) ou o tentilhão-montês (*Fringilla montifringilla*) também podem ser observados com alguma facilidade (ICNF, sd). Apenas duas espécies de anatídeos permanecem ao longo do ano, nidificando com regularidade, sendo estas o Pato-real e o Zarro-comum. No Paul do Boquilobo os patos refugiam-se principalmente nas zonas interiores rodeadas de salgueiros e freixos, favorecendo a protecção e o abrigo à perturbação exterior e a factores climatéricos (Curado, 2009).



Figura 13- Marrequinha-comum (*Anas crecca*)
(Caldas, sd)



Figura 14- Águia-pesqueira (*Pandion haliaetus*)
(Simões, sd)

O Paul do Boquilobo tem uma grande importância como local de repouso e alimentação para as espécies migradoras, destacando a ocorrência do maçarico-de-bico-direito (*Limosa limosa*) ou do combatente (*Philomachus pugnax*) (ICNF, sd).

As espécies de aves representam cerca de 77% dos vertebrados existentes na Área Protegida (Curado, 2009).

Em relação aos mamíferos, destaca-se a presença da lontra (*Lutra lutra*) (espécie ameaçada), do rato de Cabrera (*Microtus cabreræ*), do morcego-arborícola-gigante (*Nyctalus lasiopterus*) e do gamo *Dama dama*. São comuns: o texugo (*Meles meles*), o saca-rabos (*Herpestes ichneumon*), a geneta (*Genetta genetta*) (Figura 15), o toirão (*Mustela putorius*) (Figura 16), a doninha (*Mustela nivalis*), a raposa (*Vulpes vulpes*) e o javali (*Sus scrofa*) (ICNF, sd). A lontra e o toirão constituem as duas principais espécies de mamíferos ameaçados (Curado, 2009).



Figura 15- Geneta (*Genetta genetta*) (Vartianae, sd)



Figura 16- Toirão (*Mustela putoris*) (Costa, 2009)

Na classe dos anfíbios destaca-se a presença de 4 endemismos ibéricos, nomeadamente o tritão-de-ventre-laranja (*Triturus boscai*) (Figura 17), o sapo-parteiro-ibérico (*Alytes cisternasii*), a rã-de-focinho pontiagudo (*Discoglossus galganoi*) e a rã-verde (*Rana perezi*). Tem-se vindo a verificar um decréscimo na abundância e diversidade na população de anfíbios da Reserva, nomeadamente a rã-ibérica (*Rana ibérica*) (Figura 18), o tritão-marmorado (*Triturus marmoratus*) e a salamandra-de-costelas-salientes (*Pleurodeles waltl*) (ICNF, sd).



Figura 17- Tritão-de-ventre-laranja (*Triturus boscai*) (Henriques, 2009)



Figura 18- Rã-ibérica (*Rana ibérica*) (Ribeiro, 2009)

Os répteis mais abundantes são a cobra-de-água-viperina (*Natrix maura*) (Figura 19), a lagartixa-ibérica (*Podarcis hispânica*), a lagartixa-do-mato (*Psamodromus algirus*) e a osga-comum (*Tarentola mauritanica*). É de particular interesse o cágado-de-carapaça-estriada (*Emys orbicularis*) (Figura 20) por ser uma espécie ameaçada (ICNF, sd).



Figura 19- Cobra-de-água-viperina (*Natrix maura*) (Braz & Cruz, 2009)



Figura 20- Cágado-de-carapaça-estriada (*Emys orbicularis*) (Cruz, 2009)

Na comunidade piscícola, as espécies mais abundantes são a enguia (*Anguilla anguilla*), a fataça (*Lisa ramada*) e espécies introduzidas como a carpa (*Cyprinus carpio*) (Figura 21) e a gambúsia (*Gambusia holbrooki*). Existem também o ruivaco (*Rutilus macrolepidotus*) e a boga-portuguesa (*Iberochondrostoma lusitanicum*) (Figura 22) que apresentam grande importância em termos de conservação da natureza por constituírem endemismos lusitânicos (ICNF, sd).



Figura 21- Carpa (*Cyprinus carpio*) (Battafarano, 2000)



Figura 22- Boga-portuguesa (*Iberochondrostoma lusitanicum*) (JN, 2011)

Em relação a espécies introduzidas, destaca-se a presença de um crustáceo, o lagostim-vermelho da Louisiana (*Procambarus clarkii*) (Figura 23) (ICNF, sd). A proliferação excessiva deste lagostim é um dos problemas ecológicos do Paul, temendo-se que este crustáceo tenha contribuído para uma diminuição acentuada da comunidade de anfíbios, havendo algumas espécies dadas como praticamente extintas neste local (Curado, 2009).



Figura 23- Lagostim-vermelho da Louisiana (*Procambarus clarkii*) (Campo, sd)

1.4.2. Flora

No Paul do Boquilobo foram identificadas 317 espécies. A maioria das espécies está bem adaptada à falta de arejamento do solo, que é uma característica de zonas húmidas (ICNF, sd).

Na Reserva, as formações vegetais são essencialmente espécies que necessitam de ambientes húmidos, verificando-se variações na sua distribuição consoante o regime hídrico (ICNF, sd). Na parte central da Reserva predominam os habitats naturais ou seminaturais (áreas permanentemente alagadas), distribuindo-se ao longo de cursos de água ou pelas várzeas inundáveis consoante o período de submersão (Mira, 2012). A paisagem vegetal do Paul é dominada pela presença de salgueiros, freixos e choupos ao longo das linhas de água, que formam núcleos densos nas zonas mais inundáveis. Nas várzeas inundáveis observam-se essencialmente espécies hidrófitas e helófitas, como o bunho (*Scirpus lacustris* ssp. *lacustris*), o caniço (*Phragmites australis*) (Figura 24), a

tábua (*Typha angustifolia*), a espadana (*Sparganium erectum ssp. neglectum*), o gramichão (*Paspalum paspalodes*), o lírio-amarelo (*Iris pseudacorus*) (Figura 25) e diversas espécies de ranúnculos como *Ranunculus bandotii*, *R. bulbosus* e *R. trilobus* (Planetazul, 2009). Existe também pontualmente espécies típicas de ambientes salobros, como por exemplo a tamargueira (*Tamarix africana*) e do junco-triangular (*Scirpus maritimus*) (ICNF, sd). Os montados e as pastagens envolvem a zona húmida (CMGolegã, 2011).



Figura 24- Caniço (*Phragmites australis*) (Lopes, sd)



Figura 25- Lírio-amarelo (*Iris pseudacorus*) (Lopes, sd)

Nas áreas temporariamente alagadas, para além de hidrófitos flutuantes, dominam também formações de espécies vivazes e anuais, como a malcasada (*Polygonum amphibium*), a labaga (*Rumex conglomeratus*, *Atriplex* spp.), ranúnculos (*Ranunculus* spp., *Galium* spp.), a trolha (*Scrophularia scorodonia*) (Figura 26), o gramichão (*Paspalum paspalodes*, *Polypogon monspeliensis*, *Eleocharis palustris*, *Carex* spp.), bunho (*Scirpus lacustris* ssp. *Lacustris*), tabúa-de-folha-larga (*Typha latifolia*), tabúa (*Typha dominguensis*) (Figura 27), lírio-amarelo (*Iris pseudacorus*, *Sparganium erectum* ssp. *Erectum*), junco (*Juncus* spp.). Nestas várzeas alagáveis, observa-se uma grande variação sazonal do coberto vegetal de acordo com as condições hídricas. É aqui que podemos encontrar formações de pastagens de gramichão (*Paspalum paspalodes*) (ICNF, sd).



Figura 27- Trolha (*Scrophularia scorodonia*) (Silva, 2012)



Figura 26- Tabúa (*Typha dominguensis*) (Nunes, sd)

Em zonas inundáveis associadas a actividades agrícolas, surgem pastagens húmidas ou formações dominadas por espécies infestantes. As principais infestantes são o jacinto-de-água (*Eichhornia crassipes*) (Figura 28), planta flutuante que forma densos tapetes à superfície da água, podendo cobrir áreas extensas, e a bardana (*Xanthium strumarium*) que coloniza os terrenos lodosos após inundações (Curado, 2009). O jacinto-de-água, sendo uma espécie exótica, é a maior ameaça à preservação desta zona (Planetazul, 2009).



Figura 28- Jacinto-de-água (*Eichhornia crassipes*) (Invasoras, 2013)

Recentemente foi descoberta uma população de *Narcissus fernandesii*, um endemismo ibérico, considerado ameaçado, sendo actualmente o maior núcleo dentro duma Área Protegida e o segundo maior de todo o território nacional. Outras espécies importantes são

abrunheiro-bravo (*Prunus spinosa* ssp. *Institioides*), gilbardeira (*Ruscus aculeatus*) (Figura 29) e as campainhas-amarelas (*Narcissus bulbocodium*) (ICNF, sd). São ainda de realçar, pela sua raridade, o junco-florido (*Butomus umbellatus*) (Figura 30), a estrela-de-água (*Damasonium alisma*) e a espada-de-água (*Sparganium erectum*) (Curado, 2009).



Figura 29- Gilbardeira (*Ruscus aculeatus*)
(Passos, 2008)



Figura 30- Junco-florido
(*Butomus umbellatus*)
(guiaverde, 2014)

Em relação ao estrato arbóreo, dominam os salgueirais. As principais espécies de salgueiros são: salgueiro-branco (*Salix alba*) (Figura 31) e salgueiro-preto (*Salix atrocinerea* Brot.) (Carreira, 2001). Ao salgueiro branco associam-se o salgueiro-frágil (*Salix fragilis*) e o salgueiro-vermelho (*Salix rubens*), que formam pequenas ilhas de vegetação e densos bosquetes. Em alguns sítios da zona alagada pode-se encontrar borrazeira-preta (*Salix atrocinerea*) e borrazeira-branca (*Salix salvifolia* ssp. *australis*). Estas, conjuntamente com freixo-de-folha-estreita (*Fraxinus angustifolia*), choupo-negro (*Populus nigra*), pilriteiro (*Crataegus monogyna*) silva (*Rubus ulmifolius*), roseira-

brava (*Rosa* ssp.), norça-canina (*Tamus communis*), vinha-brava (*Vitis vinífera*), salsaparrilha-bastarda (*Smilax áspera*), madressilva (*Lonicera periclymenum* spp. *Hispânica*), entre outras, formam o corredor ripícola, bem conservado e que tem vindo a aumentar. Associado a este, existe uma pequena área de bosque com espécies tipicamente mediterrânicas como o sobreiro (*Quercus suber*) (Figura 32), carvalho-português (*Quercus faginea*), azinheira (*Quercus rotundifólia*) e zambujeiro (*Olea europaea* var. *sylvestris*). Isto representa a antiga floresta mediterrânica que, antigamente, ocupava a região e que, actualmente, foi substituída por culturas arvenses de regadio (ICNF, sd).



Figura 31- Salgueiro-branco (*Salix alba*)
(LookForDiagnosis, 2009)



Figura 32- Sobreiro (*Quercus suber*) (António, 2009)

1.4.3. Habitats

Quanto aos habitats naturais ou seminaturais, constantes no Anexo BI do Decreto-lei nº 140/99 de 24 de Abril, alterado e republicado pelo Decreto-lei nº 49/2005 de 24 de Fevereiro, são representativos os seguintes (ICNF, sd):

Tabela 1- Representa os habitats existentes na RNPB (ICNF, sd)

Habitat	Designação
3150	Lagos eutróficos naturais com vegetação da <i>Magnopotamion</i> ou da <i>Hydrocharition</i>
3170	Charcos temporários mediterrânicos
3260	Cursos de água dos pisos basal a montano com vegetação da <i>Ranunculion fluitantis</i> e da <i>Callitricho-Batrachion</i>
3280	Cursos de água mediterrânicos permanentes da <i>Paspalo-Agrostidion</i> com cortinas arbóreas ribeirinhas de <i>Salix</i> e <i>Populus alba</i>
3290	Cursos de água mediterrânicos intermitentes da <i>Paspalo-Agrostidion</i>
6310	Montados de <i>Quercus</i> spp. de folha perene
91B0	Freixiais termófilos de <i>Fraxinus angustifolia</i>
92A0	Florestas-galerias de <i>Salix alba</i> e <i>Populus alba</i>
9330	Florestas de <i>Quercus suber</i>

1.4.4. Geologia, Hidrologia e Clima

1.4.4.1. Geologia

A Reserva Natural do Paul do Boquilobo tem a maior parte dos seus terrenos correspondentes a aluvio solos modernos, calcários de textura mediana, com lençóis freáticos a uma profundidade que não atinge os 10 m. Ainda assim, existem restrições que condicionam a sua utilização agrícola. A parte central da Reserva (ponto de maior importância), corresponde a solos com limitações rígidas para a agricultura resultantes de um excesso de água, estando assim classificados, na carta de capacidade de uso, com as classes D e E - as menos favoráveis para essa utilização. À volta da zona central, existem solos classificados, em termos de aproveitamento agrológico, na classe B, mas ainda com limitações devido ao excesso de água. Os solos de aluvião muito férteis representam uma

percentagem pouco significativa da área total da Reserva e, ainda assim, são cobertos por cheias com um período de retorno inferior a 10 anos (ICNF, sd).

Na transição para os terraços fluviais, denota-se a existência de uma faixa de solos de textura arenosa a franco arenoso, pedregosos com seixos rolados, vulgarmente designados por cascalheiras sem utilização agrícola- classe E (ICNF, sd).

Os pontos mais altos da Reserva são antigos terraços fluviais, apresentando solos nas classes C e D, correspondendo a solos mediterrânicos, não calcários, para-hidromórficos de arenitos (ICNF, sd).

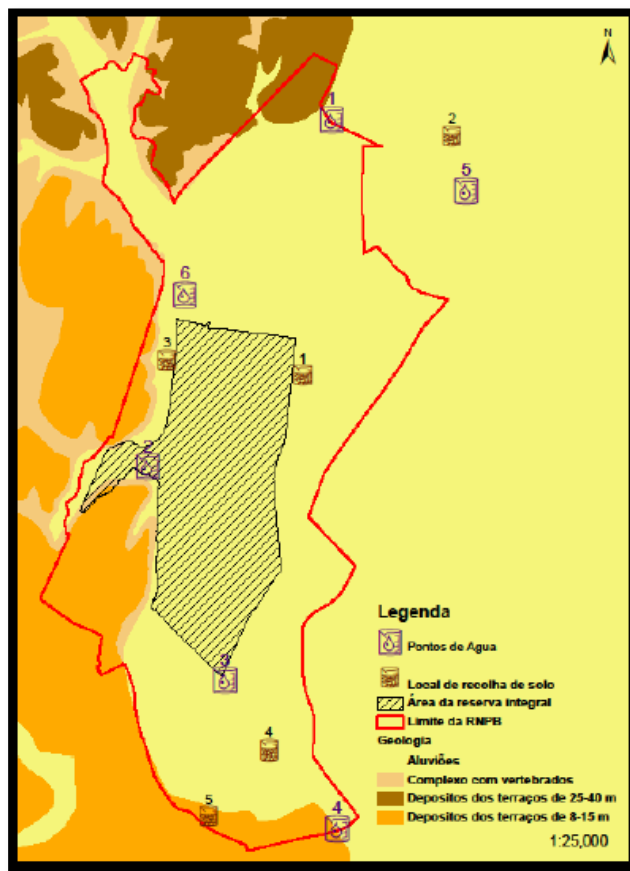


Figura 33- Carta Geológica (1969) (Godinho *et al*, 2012)

1.4.4.2.Hidrologia

Num ano normal, a dinâmica hídrica do Paul inicia-se após as primeiras chuvas, criando uma subida dos níveis de água. Este fenómeno ocorre em Outubro/Novembro e mantém-se

até finais de Abril, princípios de Maio. Posteriormente, a captação subterrânea de água para rega provoca uma descida dos níveis de água do Paul (ICNF, sd).

Em anos mais húmidos, a área inundada cobre totalmente a área protegida, à excepção de algumas zonas mais altas. Em anos secos, a área alagada é muito menor, mas ultrapassa, sempre, os limites da área de protecção total (ICNF, sd).

O Paul do Boquilobo tem uma grande importância na regulação hídrica da região, visto que funciona como área de retenção e acumulação do excesso de água durante as cheias e recarga dos aquíferos nos períodos secos. No entanto, a prática de uma agricultura intensiva com recurso a captação de enormes quantidades de água, constitui uma ameaça a este tipo de sistema (ICNF, sd).

1.4.4.3.Clima

O clima da Reserva corresponde a uma transição entre as condições atlânticas e mediterrânicas, sendo portanto húmido, de temperaturas médias e com grande deficiência de água no Verão (ICNF, sd).

1.5.Problemas ambientais

Embora sejam atribuídas inúmeras legislações de forma a tentar preservar a Reserva Natural e o próprio rio Almonda, estes sofrem pressões constantes sobre os seus ecossistemas, resultantes do progresso humano e da falta de sensibilidade ambiental.

Os principais problemas com que o Paul do Boquilobo se depara, e deparou, consistem na dispersão descontrolada do Jacinto-de-Água, na regularização da quantidade de água retirada para efeitos agrícolas e a poluição industrial e doméstica do Rio Almonda. A poluição das águas do rio Almonda não é excepção ao que também acontece com outros cursos de água, tendo a sua origem em efluentes industriais e domésticos situados a montante do Paul, e no uso excessivo de fertilizantes e pesticidas na agricultura. Além disso, a Reserva Natural também tem uma Reserva de caça encostada nos seus limites, o

que é algo potencialmente perigoso para as várias espécies de aves que procuram refúgio nesta zona húmida (Curado, 2009).

As consequências ecológicas, anteriormente provocadas pela proliferação do jacinto de água e o do lagostim, a somar aos factores atrás mencionados, irão comprometer seriamente a sobrevivência de numerosas espécies de seres vivos na Reserva se não forem devidamente controlados.

Capítulo 2

Bioindicadores

Resumo: Neste capítulo é contemplada a avaliação da qualidade das águas, através da análise aos macroinvertebrados bentónicos recolhidos nos pontos estabelecidos na metodologia de análise da Reserva.

Introdução

Os ecossistemas aquáticos são indispensáveis à vida, pois são necessários a várias actividades humanas como: a obtenção de alimento, de energia eléctrica, o abastecimento doméstico e industrial, o lazer e a irrigação (Prantera & Bussons, 2009). O impacto resultante da crescente actividade antrópica nos ambientes naturais constitui uma das principais preocupações do homem na actualidade. A poluição dos ecossistemas aquáticos é um problema frequente e tem várias consequências, tais como a escassez de fontes de água limpas para abastecimento, a morte dos organismos, entre outros. As descargas domésticas e industriais constituem grandes problemas, principalmente quando são evacuadas directamente nos rios e lagos, levando assim a uma contaminação da água. A agricultura é uma das actividades que consome mais água e é a principal responsável por grande parte da contaminação não pontual, produzindo uma grande variedade de poluentes (Queiroz *et al*, 2008).

A avaliação da qualidade da água é um procedimento importante tanto para a protecção dos ecossistemas aquáticos, como para a prevenção dos problemas de saúde pública. O uso de diferentes organismos que apresentam maior ou menor sensibilidade a determinados poluentes, constitui a base para a utilização destes organismos como indicadores biológicos da qualidade da água (Queiroz *et al*, 2008). Neste trabalho, foram utilizados macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores da qualidade da água da RNPB.

Bioindicadores são organismos vivos que indicam a presença de alterações ambientais, podendo identificar vários tipos de modificações, impedindo assim que estas se agravem (Barbosa, 2014). A resposta fornecida por um bioindicador pode ser associada a um impacto de um contaminante (Queiroz *et al*, 2008). Assim, os bioindicadores podem ser organismos ou comunidades, cujas funções vitais se relacionam com determinados factores ambientais, sendo indicadores da qualidade da água numa dada área (Prantera & Bussons, 2009).

Em relação aos ecossistemas aquáticos, os bioindicadores mais utilizados são os macroinvertebrados bentónicos. Estes organismos são usados, principalmente, para monitorizar reservatórios e trechos de importantes bacias hidrográficas, sob diferentes

níveis de impacto antrópico. Assim, os bioindicadores podem ser ferramentas de prevenção dos impactos ambientais, permitindo a conservação e a recuperação dos ecossistemas aquáticos (Prantera & Bussons, 2009).

2.1. Macroinvertebrados como bioindicadores da qualidade da água

Nas águas doces existem invertebrados que se dividem em microinvertebrados e macroinvertebrados sendo estes divididos quanto ao seu tamanho. Os microinvertebrados possuem um tamanho inferior a 1mm e os macroinvertebrados um tamanho superior a 1mm. Nos microinvertebrados temos, entre outros, Protozoários, alguns Platelmines, Rotíferos, a maioria dos Nematelmines, Crustáceos, Cladóceros, Ostracodes, Copépodes. No grupo dos macroinvertebrados podemos encontrar, Oligochaetas, Insectos, Moluscos, alguns Crustáceos, Hirudíneos, alguns Platelmines, Espongiários, Cnidários, Briozoários, entre outros (Ferreiro, 2007).

A comunidade de macroinvertebrados bentónicos de água doce é, portanto, visível a olho nu (seres macroscópicos). Estes possuem uma grande diversidade de espécie, de formas e de modos de vida e podem habitar nos fundos dos rios, riachos e lagos (Ramos, sd). A comunidade de macroinvertebrados bentónicos é importante no sedimento de rios e lagos, sendo fundamental para a dinâmica de nutrientes, para a transformação de matéria e para o fluxo de energia (Ferreiro, 2007). Estes organismos bentónicos situam-se numa posição intermediária na cadeia alimentar. Alimentam-se principalmente de algas e microrganismos, e os seus predadores são os peixes e outros vertebrados. Os macroinvertebrados bentónicos têm um papel importante no ciclo de nutrientes, transformando a matéria orgânica em energia. Eles revolvem a superfície do sedimento (biorrevolvimento), libertando nutrientes para a água, nomeadamente os insectos aquáticos (Ramos, sd).

A qualidade do habitat é muito importante no sucesso das comunidades biológicas em ambientes lânticos. A estrutura da comunidade de insectos e outros invertebrados varia consoante as características ambientais dos rios (Ramos, sd). As técnicas de Biomonitorização (ferramenta utilizada para avaliar as mudanças ocorridas num rio e na

sua bacia hidrográfica, através da qualidade da água e dos organismos vivos presentes) são cada vez mais utilizadas na avaliação da qualidade da água (Queiroz *et al*, 2008).

Os índices biológicos para avaliar a qualidade da água, baseados em macroinvertebrados, oferecem vantagens sobre aqueles que utilizam outros organismos, principalmente porque os macroinvertebrados são fáceis de amostrar, no que diz respeito a medidas qualitativas ou abundância relativa. Estes organismos são identificados ao nível de família e é um processo facilitado visto que existem boas chaves de identificação para os macroinvertebrados a nível taxonómico, principalmente para os insectos, cuja maioria é representado por fases jovens, como ninfas ou pupas e larvas (meioambiente, sd). Devido à sua grande diversidade de espécies, esta comunidade apresenta diversas formas e modos de vida, adaptando-se ao habitat local, os quais podem ser: rios, riachos, lagoas, albufeiras, represas, etc (Ferreiro, 2007).

Os macroinvertebrados bentónicos apresentam algumas vantagens de utilizar os macroinvertebrados, como bioindicadores, em relação a outros organismos: os macroinvertebrados constituem grupos taxonómicos com diferentes graus de sensibilidade à poluição, têm baixo custo na recolha, têm um ciclo de vida longo (permitindo um maior tempo de efeitos antropogénicos na comunidade), permitem associar a sua presença ou a sua ausência às alterações ambientais do seu habitat, albergam uma grande diversidade de espécies (as alterações no ambiente são facilmente detectáveis graças a variedade), são indivíduos com carácter sedentário ou de mobilidade reduzida (permanecendo quase sempre no mesmo local), ocupam todos os tipos de habitat e colonizam facilmente novos habitats, e finalmente, permitem registar, durante um período de tempo mais alargado, os impactes comparativamente aos parâmetros físicos, químicos e biológicos, registando tanto impactes recentes, como de médio prazo (Ferreiro, 2007).

Além das vantagens acima mencionadas, existem também algumas desvantagens, tais como: existem muitos grupos de macroinvertebrados e a taxonomia de alguns ainda é pouco conhecida, existe mudança nas estações do ano e na dinâmica das populações, que pode causar interferência na interpretação dos resultados e, os macroinvertebrados não são tão sensíveis a algumas perturbações como alguns patogénicos de origem humana (Ferreiro, 2007).

Os macroinvertebrados são classificados em três grupos (Figura 34):

- 1) Organismos sensíveis;
- 2) Organismos tolerantes;
- 3) Organismos resistentes.

No primeiro grupo estão incluídos os insectos aquáticos que necessitam de elevadas concentrações de Oxigénio Dissolvido para viverem. Neste grupo podemos encontrar *Plecoptera*, *Trichoptera* e *Ephemeroptera*.

No segundo grupo encontram-se os moluscos, bivalves, algumas famílias de Díptera, ordens de Heteroptera, Odonata e Coleóptera que são organismos que necessitam de quantidade menor de oxigénio relativamente aos anteriores, sendo no entanto sensíveis por serem filtradores e menos móveis.

O terceiro grupo é constituído por organismos que têm a capacidade de viver em anoxia. Neste grupo podemos encontrar *Chironomidae* e outros *Díptera* e a classe *Oligochaeta* (Ferreiro, 2007).

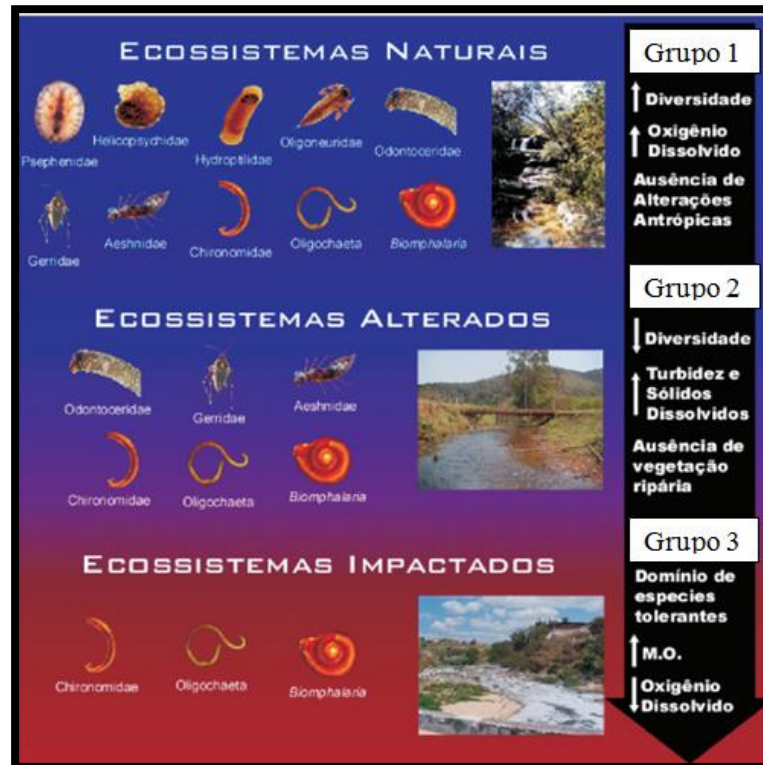


Figura 34- Macroinvertebrados Bentônicos nos diferentes ecossistemas (adaptado de Ambiente Brasil, 2010)

Legenda

Grupo 1- Organismos sensíveis à poluição

Grupo 2- Organismos tolerantes à poluição

Grupo 3- Organismos resistentes à poluição

Um dos factores mais importante para que haja uma grande abundância de macroinvertebrados é a presença de alimento. O modo de alimentação destes organismos é bastante variado, quer em relação aos métodos de recolha do alimento quer em relação ao tamanho dos elementos ingeridos. Com base nestes critérios é feita uma divisão dos macroinvertebrados em categorias:

- **Colectores de depósito-** os que se alimentam de pequenas partículas (\emptyset entre $0,45\mu\text{m}$ e 1mm) que resultam da actividade dos detritívoros e da abrasão física. Alimentam-se dessas partículas depositadas no leito de sistemas aquáticos;

- Fitófagos ou raspadores- os que se alimentam de algas e de periphyton e estão fortemente dependentes da produção autóctone do ecossistema;
- Predadores e parasitas- os que se alimentam de presas vivas e/ ou dos seus parasitas;
- Detritívoros- os que se alimentam de matéria orgânica particulada grosseiramente ($\varnothing > 1\text{mm}$) previamente condicionada pela actividade dos microrganismos, tais como fungos e bactérias, formando-se partículas de dimensão inferior que são o resultado da sua capacidade trituradora ou da produção de fezes (Ferreiro, 2007).

2.2.A Directiva-Quadro da Água

Os métodos biológicos de monitorização e avaliação da qualidade da água são ferramentas importantes no estudo dos recursos hídricos, sendo recomendada pela União Europeia na Directiva- Quadro da Água.

A Directiva nº 2000/60/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Outubro de 2000 (Directiva- Quadro da Água), estabelece um quadro de acção comunitária no domínio da política da água (Europa, 2010). Foi publicada no Jornal Oficial da União Europeia (série L, nº. 327, de 22/12/2000, p. 0001 – 0073) (Cardoso, 2007).

A Directiva Quadro da Água reflecte uma mudança de paradigma na política de gestão da água, centrando-se na protecção do ambiente. Na directiva, a água é considerada tanto como elemento integrado, como integrador em todo o espaço comunitário. É considerada o motor de "integração ecológica europeia", por considerar que os recursos naturais, por não respeitarem fronteiras, deverão ser protegidos nas regiões que eles próprios definem Naturalmente (Cardoso, 2007).

A União Europeia (UE) estabelece um quadro comunitário para a protecção e a gestão da água. Primeiramente, os Estados-Membros devem recensar todas as bacias hidrográficas (situadas no seu território) e associá-las a regiões hidrográficas, adoptando posteriormente planos de gestão e programas de medidas adaptadas a cada massa de água (Europa, 2010). As políticas desenvolvidas partem do princípio de que é preciso garantir que os ecossistemas aquáticos e os ecossistemas terrestres, que dependam da água, têm um funcionamento adequado e que todos os usos de água (captações, descargas) só poderão ser

tolerados se não puserem em causa o bom funcionamento destes ecossistemas (Cardoso, 2007).

O quadro comunitário estabelecido para a protecção alberga as águas interiores de superfície, as águas subterrâneas, as águas de transição e as águas costeiras (Europa, 2010).

A Directiva tem vários objectivos, como por exemplo, a prevenção e a redução da poluição, a promoção de uma utilização sustentável da água, a protecção do ambiente, a melhoria do estado dos ecossistemas aquáticos e a atenuação dos efeitos das inundações e das secas. O seu principal objectivo é alcançar um “bom estado” ecológico e químico de todas as águas comunitárias até 2015 (Europa, 2010).

No Anexo V da Directiva- Quadro da Água, os estados ecológicos são classificados como “Excelente”, “Bom” e “Razoável” sendo esta classificação igual quer nos rios, quer nos lagos. Um estado ecológico é considerado “Excelente” quando a composição taxonómica e a abundância correspondem totalmente ou quase às que se verificam em condições não perturbadas. Um estado ecológico é considerado “Bom” quando existem ligeiras modificações da composição e abundância das taxas de invertebrados em comparação com as das comunidades específicas do tipo. Um estado ecológico é considerado “Razoável” quando a composição e abundância das taxas de invertebrados diferem moderadamente das comunidades específicas do tipo. Estão ausentes grupos taxionómicos importantes da comunidade específica do tipo (Ferreiro, 2007).

Esta directiva dá importância aos índices biológicos e classifica os indicadores biológicos em três tipos: indicadores hidromorfológicos, indicadores químicos e indicadores físico-químicos (Ferreiro, 2007).

2.3. Índice de avaliação

Os índices de qualidade biológica são as principais ferramentas para avaliar a qualidade biológica da água, uma vez que as legislações encontram dificuldades em estabelecer limites sobre as quantidades permitidas de cada contaminante nos rios (meioambiente, sd).

São utilizadas metodologias de avaliação com índices bióticos de macroinvertebrados bentónicos (identificados ao nível da família e, em alguns casos, classe ou ordem) que consistem em atribuir um valor, para cada espécie, com base na sua tolerância ao impacto. O índice com mais destaque e o que foi utilizado neste projecto é o BMWP' (Biological Monitoring Working Party) (Ramos, sd).

O índice BMWP' utiliza os macroinvertebrados aquáticos, mas também pode ser usado com os macroinvertebrados bentónicos. Este é um índice inglês que ordena as famílias de macroinvertebrados em dez grupos, seguindo um gradiente da menor para a maior tolerância à contaminação. A cada família é atribuída uma pontuação que vai de 1 a 10 (anexo A 2), sendo que as famílias mais sensíveis à contaminação recebem pontuações maiores, chegando, em ordem decrescente, até 1, onde estão aquelas mais tolerantes (meioambiente, sd).

Os pesquisadores ALBA-TERCEDOR e SÁNCHEZ-ORTEGA, em 1988, fizeram uma primeira adaptação deste índice para a Península Ibérica, e para isso acrescentaram novas famílias à tabela original, e trocaram a pontuação de algumas. A adaptação à fauna Ibérica passou a designar-se de BMWP', em vez de BMWP, e os valores do índice foram correlacionados com cinco graus de contaminação (Tabela 2) (meioambiente, sd).

2.4. Metodologia

2.4.1. Pontos de Recolha (escolha dos locais)

A recolha das amostras para todas as análises efectuadas (análises físico-químicas, análises microbiológicas e análises aos macroinvertebrados bentónicos) foi realizada em 4 pontos distintos da Reserva (Figura 35), sendo alguns correspondentes aos locais já estudados em anos anteriores.

Os locais foram escolhidos por permitirem uma visão geral da qualidade das águas da Reserva, sendo que a recolha reflecte uma visão global do estado da água na Reserva contemplando um ponto à entrada, um no centro da Reserva e outro à saída da Reserva

contemplando o Almonda como habitat de análise. Excepcionalmente este ano foi também analisado um ponto no interior da Reserva integral em ambiente lântico. Estes locais são importantes pois correspondem à entrada da Reserva, à sua zona central e à sua saída, permitindo uma análise na sua totalidade.

Os locais foram identificados da seguinte forma:

- Ponto 1- Início da Reserva
- Ponto 4- Ponte da Broa (Saída da Reserva)
- Ponto 6- Ponte do Himalaia (Entrada da Reserva Integral)
- Ponto 7- Limnígrafo (Zona Central da Reserva Integral)

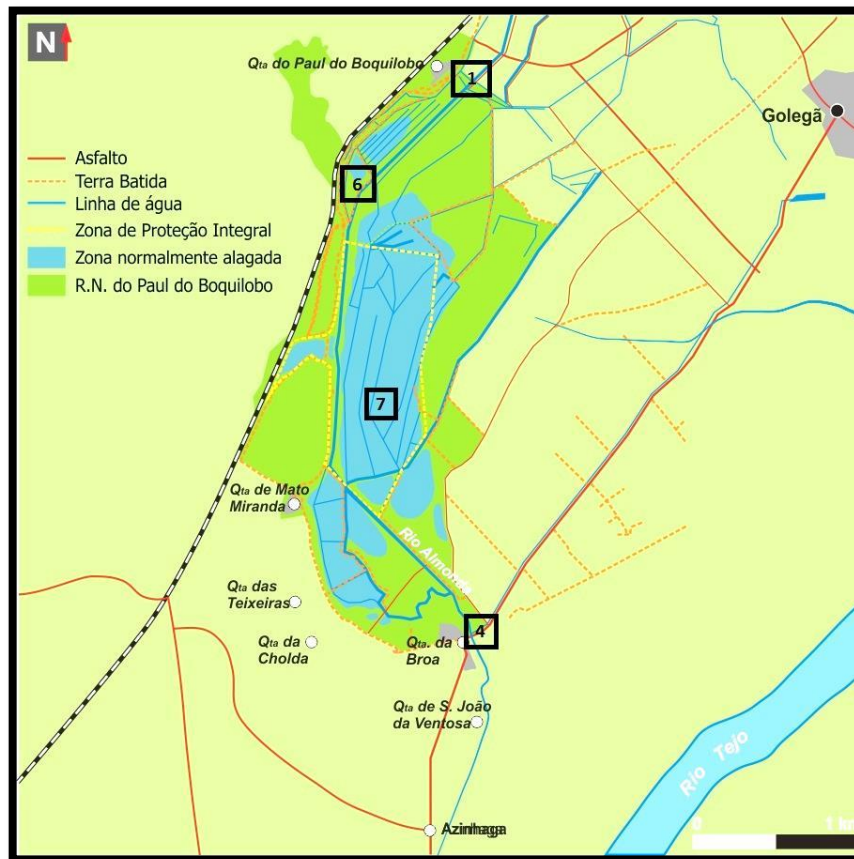


Figura 35- Locais de Amostragem da Reserva Natural do Paul do Boquilobo (ICNF, sd)

A Figura 36 mostra o ponto 7 (Limnígrafo) durante a primeira recolha. Pode-se verificar que é uma zona bastante alagada, sobretudo no período das chuvas (Outono e Inverno), diminuindo o seu volume de água na altura de mais calor (Primavera e Verão). Esta é uma zona de águas paradas (lênticas). Verificou-se que nesta zona a água era (em todas as recolhas) mais turva que nos restantes locais da Reserva.



Figura 36- Limnígrafo (Ponto 7)

A figura 37 representa o Ponto 6 (Ponte do Himalaia- Entrada da Reserva Integral). Este ponto é um local que se encontra, precisamente, no início da Reserva Integral. O ponto 6 apresenta sempre um elevado caudal, sobretudo na altura das chuvas, diminuindo ligeiramente na altura de maior calor. Quanto à cor e aos odores das águas, neste local, elas não apresentam grandes alterações, permanecendo aparentemente mais límpidas que nos Pontos 7 e 4.



Figura 37- Ponte do Himalaia (Ponto 6)

A figura 38 mostra o Ponto 1 (Início da Reserva), na altura da segunda recolha. Neste local, o caudal também é bastante elevado, no entanto com o aproximar do período de calor observa-se uma diminuição de caudal. As águas, à semelhança do Ponto 6, encontravam-se aparentemente mais límpidas que nos outros pontos, embora se pudesse observar que com a diminuição do caudal, a turbidez aumentava.



Figura 38- Início da Reserva (Ponto 1)

A figura 39 apresenta o Ponto 4 (Ponte da Broa). Neste Ponto, o caudal oscila com o passar do tempo, notando-se um caudal elevado nos meses com chuva e um caudal menor nos meses mais secos. Este ponto apresenta normalmente uma elevada turvação, superior à observada no Ponto 7.



Figura 39- Ponte da Broa (Ponto 4)

2.4.2. Determinação dos macroinvertebrados (métodos e identificação)

Para o estudo dos macroinvertebrados bentónicos, foi usado o método “*Kick sampling*”, utilizado nos trabalhos dos anos anteriores. Este método foi escolhido devido à grande variabilidade de habitats lóticos que existem no Paul e também por ser um de fácil utilização, embora menos preciso. A adequação do método de *Kick sampling* a este trabalho de avaliação ambiental baseia-se na necessidade de resultados indicativos e genéricos para os quais o baixo custo do equipamento e a sua fácil utilização justificam amplamente a escolha (Morais *et al*, 2011).

Para este método foram recolhidos o maior número de macroinvertebrados possível, a fim de se obter representatividade de amostras e das respectivas populações existentes nos locais monitorizados.

A recolha das amostras, recorrendo ao método *Kick samplig* foi efectuada com uma rede de mão (Figura 40). A recolha foi contra a corrente do rio, remexendo o substrato do rio com os pés, para possibilitar o desalojamento dos macroinvertebrados, para que ficassem em suspensão e fossem recolhidos na rede.



Figura 40- Recolha de macroinvertebrados em meio lótico

Devido às condições lânticas do Ponto 7 (Limnígrafo), para as quais não era possível aplicar o método *Kick sampling*, decidiu-se recorrer a outro método de recolha para monitorizar este ponto. Seguindo o modelo *Schindler-Patalas Plankton trap* foi, assim concebida uma caixa de rede para recolha de macroinvertebrados (Figura 41). Esta caixa foi colocada no Ponto 7 logo na primeira recolha, permanecendo até à última recolha, pois nas recolhas anteriores não foi possível o acesso ao local onde tinha sido colocada a rede de recolha dos macroinvertebrados. Assim, não são apresentados resultados das espécies de macroinvertebrados no Limnígrafo na primeira, segunda e terceira recolha.



Figura 41- Recolha da caixa de macroinvertebrados, em condições lânticas

Depois de efectuada a colheita, o material recolhido na rede/caixa foi transferido para caixas de plástico com tampa. A caixa foi identificada com a data e o ponto de recolha. De seguida, foi adicionado álcool a 96% mais água para a preservação dos macroinvertebrados (Figura 42).



Figura 42- Caixa com recolha de macroinvertebrados e com adição de álcool a 96%

De seguida, as amostras foram transportadas para o laboratório. No laboratório, o material foi colocado em tabuleiros e efectuou-se uma triagem para separar os macroinvertebrados do material envolvente, como por exemplo folhas, pedras, plantas e outros animais que não eram objecto de estudo. Esta triagem foi feita com a ajuda de pinças e os macroinvertebrados foram agrupados pelas características morfológicas (a olho nu) e transferidos para caixas de Petri com álcool a 70% (Figura 43). Seguidamente fez-se a observação e a identificação dos macroinvertebrados através de um microscópio óptico (que permitiu uma maior ampliação facilitando a identificação de detalhes dos macroinvertebrados).



Figura 43- Caixas de Petri com macroinvertebrados

Para a identificação foram usados dois manuais técnicos, com chaves dicotómicas e todos os indivíduos, presentes na caixa de Petri, foram identificados até ao nível taxonómico da família (Serra *et al*, 2009; Tachet *et al*, 1980).

De seguida apresentam-se algumas imagens de macroinvertebrados que foram recolhidos durante este estudo:



Figura 44- F. Physidae

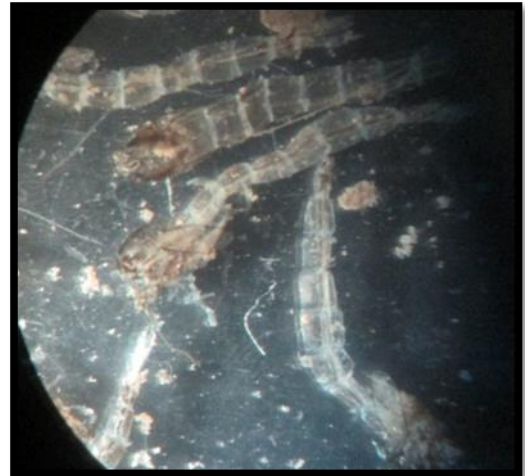


Figura 45- Chironomidae Pupa

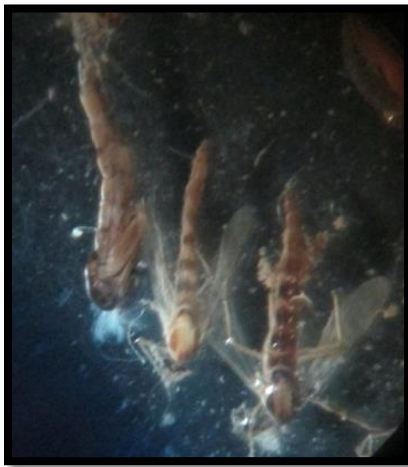


Figura 47- F. Ephemeridae



Figura 46- Ephemeroptera



Figura 48- F. Simulidae



Figura 49- F. Simuliidae Ninfa



**Figura 50- F.
Ceratopogonidae**

2.5.Resultados e Discussão

Este trabalho visa a continuação do estudo da RNPB realizado desde o ano de 2011. Foram realizadas 4 recolhas entre Março e Junho.

Desde o início do presente estudo da RNPB no ano corrente (2014) foram recolhidos um total de 926 indivíduos ao longo das 4 recolhas nos 4 pontos.

A sua expressão por famílias está representada no gráfico da figura 51. Como se pode verificar no gráfico, a comunidade de macroinvertebrados recolhidos no Paul observou uma maior prevalência de organismos tolerantes à poluição, assim como verificado nos trabalhos de anos anteriores. A principal Família observada foi Physidae (34,56%), seguindo-se da Família Chironomidae (29,16%) e finalmente, a Família Simuliidae (23,22%) (Tabela do Anexo A 1). Estes três grupos de famílias são também aqueles que apresentam um maior número de indivíduos, ou seja representam maior diversidade e abundância. É também de salientar a Família Thaumaleidae, que, embora menos representativa, observa 7,24% do número total de indivíduos contados, sendo também uma das famílias características de habitats de Paul.

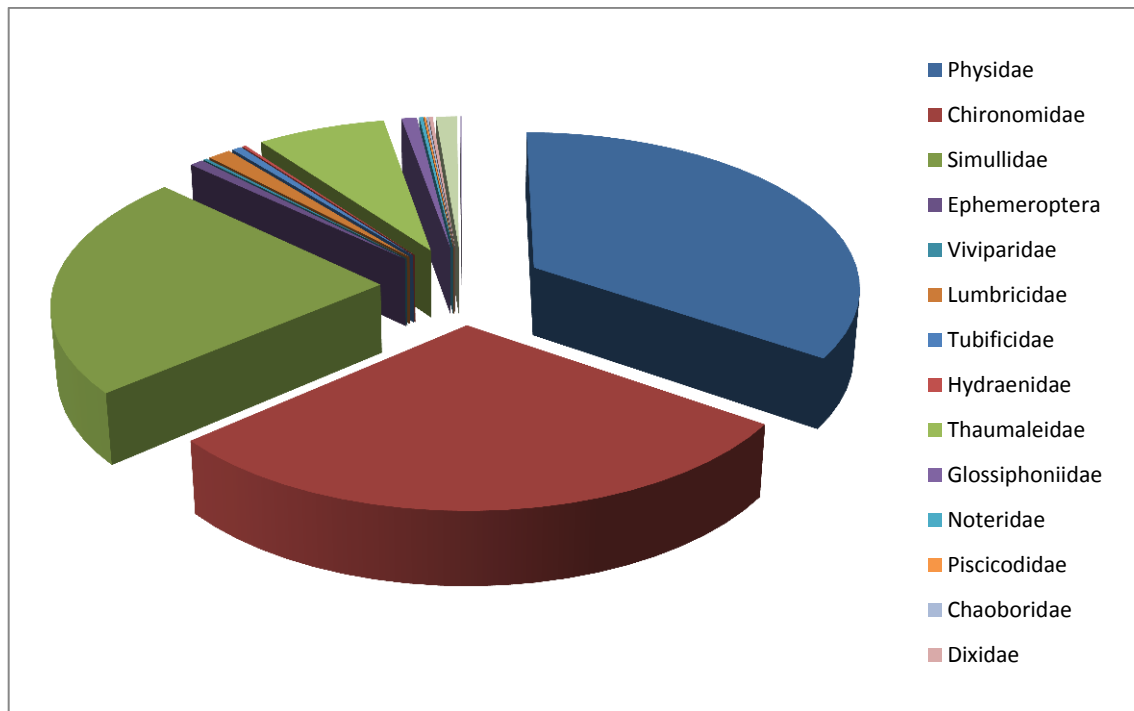


Figura 51- Abundância relativa das famílias de macroinvertebrados

Physidae é uma espécie característica de ambientes lóticos (Pontos 1,4 e 6), enquanto que as restantes espécies em maior abundância são características de ambientes lênticos (Ponto 7). Estas espécies, embora sejam características de ambientes lênticos, existem também em ambientes lóticos, provavelmente devido à sua fácil adaptação a condições diferentes, e ao facto de o rio Almonda, na secção que atravessa o Paul, se encontrar consideravelmente poluído, possibilitando a existência de nichos ecológicos vagos. Esta situação, embora não favorável, possibilita o desenvolvimento destas espécies no meio lótico.

Conforme podemos verificar no gráfico da figura 52, relativamente ao Ponto 7 (Limnígrafo), a tipologia de recolha foi adaptada ao sistema lêntico com requisitos diferentes do sistema lótico, desta forma foi apenas possível efectuar uma recolha que representa o ultimo mês em análise. A abundância da única recolha foi de 90 macroinvertebrados, sendo que a Família mais representativa Chironomidae (espécie característica de ambientes lênticos como o Ponto 7), resultado expectável, embora de difícil comparação com o ambiente lótico, podemos afirmar que a metodologia aplicada é adequada desde que se respeite um mês de permanência da armadilha no local.

No ponto 6 (Ponte do Himalaia), a abundância de macroinvertebrados foi aumentando ao longo das recolhas, ao contrário do que ocorreu em anos anteriores, em que a abundância de macroinvertebrados neste ponto foi diminuindo. A última recolha (em Junho), foi a que apresentou uma maior abundância neste ponto, com um total de 202 indivíduos, coincidindo com a melhoria das condições atmosféricas. O corrente ano foi consideravelmente chuvoso, o que atrasou o período de maior abundância de macroinvertebrados (Resh *et al*, 1995).

No Ponto 1 (Inicio da Reserva), a abundância de macroinvertebrados sofreu um aumento do mês de Março para o mês de Abril. À semelhança do que ocorreu em anos anteriores, o pico de abundância e diversidade ocorreu no mês de Abril, facto também explicado pela literatura como derivado às condições climáticas favoráveis (Resh *et al*, 1995). A segunda recolha neste ponto apresentou um total de 279 macroinvertebrados (maior numero de macroinvertebrados recolhidos em todo o presente estudo). Este valor elevado é concordante com o apresentado na literatura (Hellawell, 1978) que explica que este mês é um dos meses com maior abundância de macroinvertebrados. No mês de Maio verificou-se um decréscimo considerável da abundância destes organismos, devido à invulgar precipitação ocorrida. Posteriormente, no mês de Junho, o número de macroinvertebrados observou um aumento, correspondente à melhoria das condições meteorológicas. Esta situação não é estranha à literatura onde (Barbour *et al*, 1999) a referem como possível em zonas temperadas ou com grande variação climática.

No Ponto 4 (Ponte da Broa), a terceira recolha foi a que apresentou maior abundância, com um total de 13 macroinvertebrados. Este valor é concordante com os valores de anos anteriores, onde o número de macroinvertebrados rondava sempre os 10, sendo portanto um valor coerente com o ocorrido anteriormente. Nas recolhas anteriores, a abundância destas espécies foi muito baixa, devido à carga poluente observada (sendo este ponto situado à saída da Reserva e portanto recebe todas as águas de todos os pontos) e a características do local.

Os pontos 1 e 6 são os que apresentam maior abundância de macroinvertebrados, o que poderá ser atribuído às melhores condições ambientais destes locais e a uma maior contribuição de caudal por parte do rio Almonda.

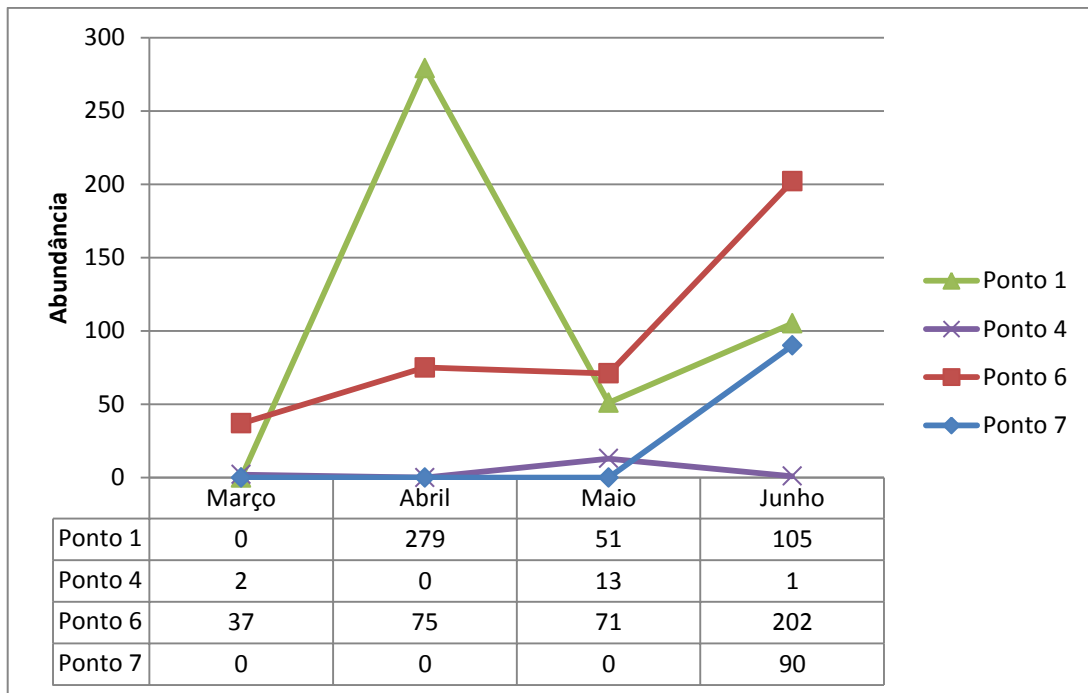


Figura 52- Gráfico da Abundância dos macroinvertebrados nos pontos de amostragem ao longo das 4 recolhas

Relativamente à diversidade, como podemos observar no gráfico da figura 53, sofreu algumas oscilações, facto que poderá ser explicado por variações naturais, características de ambientes aquáticos (Barbour *et al*, 1999).

É importante evidenciar que o Ponto 7 (Limnígrafo) foi apenas alvo de uma recolha, observando-se um total de 6 Famílias contadas sendo que a que apresentava maior número de indivíduos correspondia à Família Chironomidae, uma espécie característica deste ambiente.

No ponto 6 (Ponte do Himalaia), pode-se verificar que o maior número de espécies recolhidas correspondeu à data da segunda recolha, tendo-se verificado um total de 6 famílias diferentes. Do mês de Março para o mês de Abril, houve um aumento do número de famílias, ao contrário do que aconteceu no ano de 2012, em que o número de famílias se manteve. A partir da segunda recolha o número de famílias diminuiu (assim como em anos anteriores) até se obter 2 grupos taxonómicos. Esta diminuição deveu-se provavelmente à diminuição do caudal e aumento da temperatura como principais factores limitantes.

No Ponto 1 (Inicio da Reserva), não foram encontrados macroinvertebrados em Março de 2014. Analisando o gráfico, pode-se verificar que do mês de Abril para o mês de Maio houve uma pequena diminuição do número de famílias, passando de 6 grupos taxonómicos para 4 grupos taxonómicos. Já no mês de Junho, o número de famílias de macroinvertebrados aumentou consideravelmente, apresentando um número total de 10 famílias diferentes. Este aumento deveu-se provavelmente à melhoria das condições meteorológicas, nomeadamente a precipitação e consequente aumento de caudal, favorecendo a reprodução de outras famílias de macroinvertebrados. Em termos comparativos com amostragens anteriores, verifica-se que o número de famílias presentes era de 7 em Abril, 1 em Maio e de 2 em Junho, podendo concluir-se que a diversidade em anos anteriores foi muito menor que a observada actualmente, não se podendo estabelecer um paralelo de comparação.

No Ponto 4 (Ponte da Broa), obtiveram-se 2 famílias de macroinvertebrados na primeira recolha. Na segunda recolha não foram encontrados macroinvertebrados. No mês de Maio foi quando houve um maior número de famílias neste ponto com um total de 4 grupos taxonómicos, diminuindo posteriormente o seu número na última recolha para uma única família identificada. Esta diminuição do número de famílias do mês de Maio para o mês de Junho deveu-se provavelmente ao facto de a carga poluente neste ponto ser mais elevada, reduzindo assim o seu número.

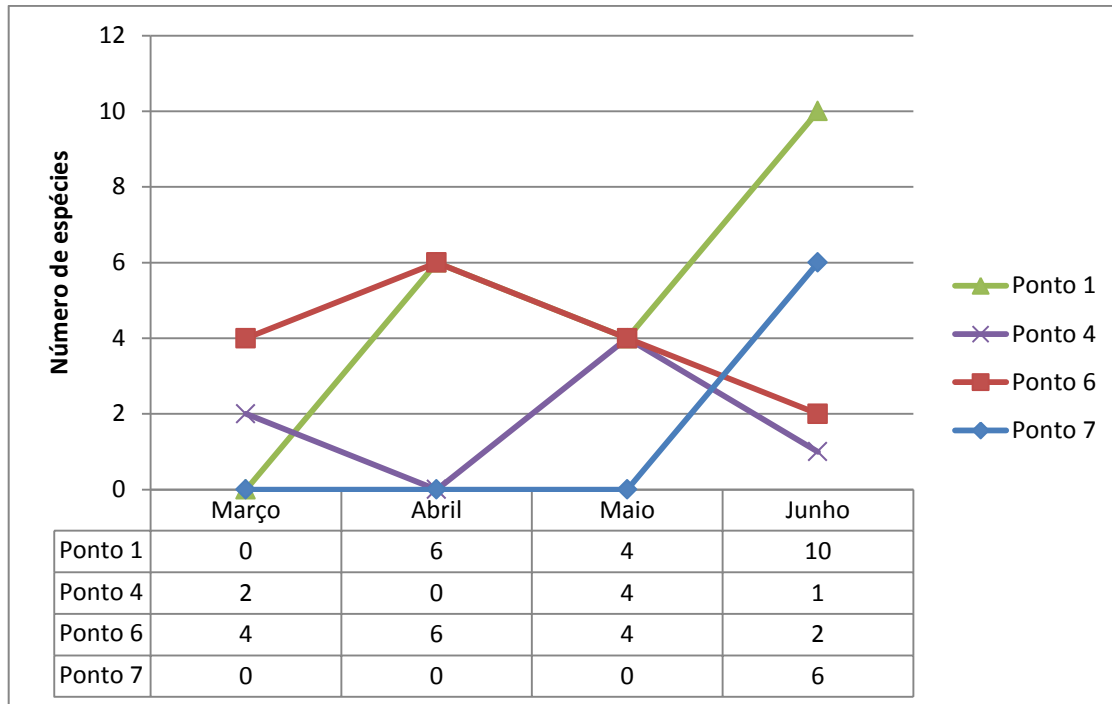


Figura 53- Gráfico do número de famílias de macroinvertebrados nos pontos de amostragem ao longo das 4 recolhas

Foi calculado o Índice BMWP' para a análise da qualidade biológica da água nos 4 pontos descritos anteriormente.

O índice BMWP' fornece uma classificação da qualidade da água, através da utilização de macroinvertebrados bentónicos, ordenando-os em famílias e em 9 grupos, seguindo um gradiente de menor a maior tolerância dos organismos quanto à poluição orgânica. A cada família faz-se corresponder uma pontuação, que oscila de 10 a 1, sendo que as famílias mais sensíveis à contaminação recebem as pontuações maiores, chegando, em ordem decrescente, até 1, valor atribuído às mais tolerantes (Hawkes, 1997; Hering *et al*, 2004; Alba-Tercedor, 1996).

O gráfico da figura 54, representa o Índice BMWP' para a análise da qualidade biológica da água em todos os pontos. No ponto 7 (Limnigrafo), obteve-se um resultado de 20 na recolha efectuada.

No ponto 6 (Ponte do Himalaia), o índice BMWP' aumenta no mês de Abril para 25 (ao contrário do que ocorreu em anos anteriores, em que o índice diminuiu) e sofre um decréscimo a partir do mês de Maio para 10.

No ponto 1 (Início da Reserva), o índice sofre grandes oscilações onde no mês de Abril aumenta abruptamente para 29, no mês de Maio decresce bruscamente para 6 e no mês de Junho volta a aumentar consideravelmente para 38.

No ponto 4 (Ponte da Broa), as oscilações são contrárias às do ponto 1, embora com menos magnitude.

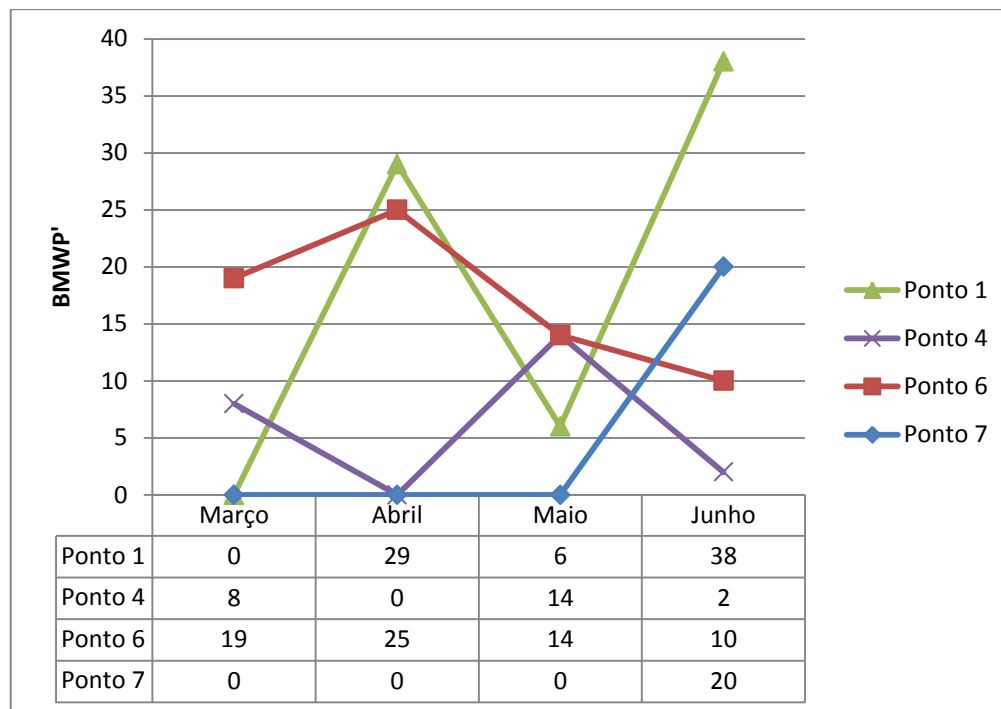


Figura 54- Gráfico com os valores dos Índices de BMWP' obtidos

A partir da análise da tabela seguinte (Tabela 2), verificamos que relativamente ao mês de Março, nos pontos 1 e 4, a qualidade da água era de classe V (Muito Crítica), sendo que no ponto 6 era de classe IV (Crítica). O ponto 7 só poderá ser avaliado para a única recolha efectuada no mês de Junho.

Na segunda recolha, apenas o ponto 4 apresentava classe V (Muito Crítica), sendo que os outros dois pontos (1 e 6) apresentam classe IV (Crítica).

No mês de Maio, a qualidade da água em todos os pontos foi de classe V (Muito Crítica).

Em Junho, apenas 2 pontos (6 e 4) apresentavam classe V (Muito Crítica),. O ponto 7 apresentava classe IV (Crítica) neste mês e o ponto 1 observou classe III (Duvidosa).

Assim como em anos anteriores, a qualidade da água apresentou maior número de resultados nas classes IV e V, considerando-se a qualidade da água como Crítica e Muito Crítica. De notar que o número de famílias, embora indicadoras da qualidade da água Crítica, aumentaram consideravelmente no estudo actual, o que poderá apontar para uma ligeira melhoria das condições do habitat.

Tabela 2-Relação entre os valores de BMWP' com cinco graus de contaminação, segundo Alba-Tercedor (Hídricos, sd)

Classe	Qualidade	Valor	Significado	Cor
I	BOA	> 120 101 - 120	<ul style="list-style-type: none"> • Águas muito limpas (águas pristinas) • Águas não poluídas ou sistema perceptivelmente não alterado 	AZUL
II	ACEITÁVEL	61 - 100	<ul style="list-style-type: none"> • São evidentes efeitos moderados de poluição 	VERDE
III	DUVIDOSA	36 - 60	<ul style="list-style-type: none"> • Águas poluídas (sistema alterado) 	AMARELO
IV	CRÍTICA	16 - 35	<ul style="list-style-type: none"> • Águas muito poluídas (sistema muito alterado) 	LARANJA
V	MUITO CRÍTICA	< 16	<ul style="list-style-type: none"> • Águas fortemente poluídas (sistema fortemente alterado) 	VERMELHO

Segundo a tabela 3 (que mostra a qualidade da água para cada recolha) pode-se concluir que as águas do Paul se encontram muito poluídas e com sistemas ecológicos altamente alterados, segundo o Índice BMWP'.

Tabela 3- Classificação de todos os pontos e datas de recolha quanto a sua classe e qualidade da água, usando como base o índice BMWP'

Ponto e Data de Recolha	Valor de BMWP'	Classe	Qualidade
Ponto 7- Março	0	-	-
Ponto 7- Abril	0	-	-
Ponto 7- Maio	0	-	-
Ponto 7- Junho	20	IV	Crítica
Ponto 6- Março	19	IV	Crítica
Ponto 6- Abril	25	IV	Crítica
Ponto 6- Maio	14	V	Muito Crítica
Ponto 6- Junho	10	V	Muito Crítica
Ponto 1- Março	0	V	Muito Crítica
Ponto 1- Abril	29	IV	Crítica
Ponto 1- Maio	6	V	Muito Crítica
Ponto 1- Junho	38	III	Duvidosa
Ponto 4- Março	8	V	Muito Crítica
Ponto 4- Abril	0	V	Muito Crítica
Ponto 4- Maio	14	V	Muito Crítica
Ponto 4- Junho	2	V	Muito Crítica

Capítulo 3

Análises Físico-Químicas e Microbiológicas

Resumo: Neste capítulo apresentam-se as análises físico-químicas e microbiológicas, onde está incluída a análise dos gráficos e o tratamento estatístico dos dados, de modo a analisar a qualidade das águas da Reserva.

Introdução

A água é o líquido mais abundante no planeta e é essencial para a sobrevivência das plantas, animais e microrganismos. É insubstituível para essa função, servindo como meio de transporte para substâncias vitais aos organismos e como ambiente para os habitantes de oceanos e lagos.

Nos oceanos estão cerca de 97% da massa total de água no planeta, a água doce representa somente 3% dos recursos hídricos da Terra, embora a sua importância a sua contribuição é muito maior (Fagar, sd). Destes 3%, três quartos da água estão localizados nas camadas de gelo polar, com 90% na superfície do gelo continental da Antártica. A água subterrânea representa 20 % da água doce e é largamente utilizada pela indústria, pela irrigação e pelo uso doméstico. Apenas 1% da água doce ocorre na forma superficial- rios, lagos (Agropecuária, 2011).

A qualidade da água depende de vários factores, entre eles a cobertura vegetal da bacia de drenagem, das condições geológicas e geomorfológicas, dos ecossistemas, e de um outro factor que não é menos importante que os restantes, a actividade humana.

Algumas das acções humanas que podem afectar a qualidade da água são as descargas de poluentes nos sistemas hídricos, as modificações nos sistemas fluviais e as alterações dos solos rurais e urbanos (Sobiologia, sd) .

Para avaliar a qualidade da água são analisados vários parâmetros, tendo importância relevante os físico-químicos e os biológicos. Cada um dos parâmetros fornece uma importante informação sobre a água que estamos a analisar, estando agrupados em normas de qualidade da água, como o Decreto-Lei 236/98 de 1 de Agosto. Esta legislação tem como finalidade proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos e estabelece também as normas de descarga de águas residuais na água e no solo.

Para avaliar a qualidade das águas em estudo analisaram-se os seguintes parâmetros:

- Temperatura;
- pH;

- Sólidos Dissolvidos Totais;
- Sólidos Suspensos Totais;
- Oxigénio Dissolvido;
- Fosfatos;
- Nitratos;
- Carências de Oxigénio.

A microbiologia da água refere-se ao estudo de microrganismos e das suas actividades nas águas naturais, como lagos, lagoas, arroios, rios, estuários, ribeirões, oceanos e esgotos. A vida aquática é um misto de interacções entre os microrganismos e as formas de vida vegetal e animal.

Os microrganismos ocupam um papel muito importante na vida aquática, pois realizam uma série de reacções bioquímicas que são importantes nos ciclos ambientais, além de fazerem parte de uma cadeia alimentar onde a sua posição é muito importante.

Muitas vezes podem estar relacionados com doenças que são transmitidas pela rede alimentar aquática. A microbiologia aquática permite a identificação de microrganismos patogénicos que podem comprometer o ecossistema de diversas formas, analisando a variedade de habitats e de microrganismos aquáticos existentes. (Portal da Educação, 2012).

Entre todos os microrganismos existentes, as coliformes representam o grupo mais estudado a nível da qualidade da água. Existem dois tipos de coliformes, os totais e os fecais. Os coliformes totais compõem os grupos de bactérias gram-negativas que podem ser aeróbicas ou anaeróbicas (depende do ambiente e da bactéria), não originam esporos e fermentam a lactose, produzindo ácido e gás à 35/37°C.

Já os coliformes fecais, também conhecidos como “termotolerantes” por suportarem uma temperatura superior à 40°C, convivem em simbiose com humanos, bois, gatos, porcos e outros animais de sangue quente. São excretados em grande quantidade nas fezes e normalmente não causam doenças (quando estão no trato digestivo). Neste grupo está presente a bactéria gram-negativa *Escherichia coli*, potencialmente patogénica, porque se se ingerir alimentos por ela contaminados, os resultados desagradáveis (como uma

gastroenterite, por exemplo) podem ser brandos ou desastrosos, dependendo do grau de contaminação (Araújo, sd). Na Reserva Natural do Paul do Boquilobo as águas contém grupos de bactérias coliformes, sendo portanto um parâmetro essencial para o nosso estudo.

3.1.Recolha de Amostras

Para obter resultados credíveis foi necessário ter cuidados especiais nas recolhas e no armazenamento das amostras, e ter em consideração que as alterações climáticas não permitiram fazer duas recolhas iguais, o que torna de extrema importância a inexistência de erros. Em termos práticos, em cada recolha é fundamental colectar sempre quantidade suficiente para a realização de todas as análises.

É muito importante referir que podem ocorrer alterações da água nos recipientes de recolha por acção humana ou por processos naturais. Estas alterações ocorrem após a recolha, porque quando se retira a amostra do local de origem e se coloca em contacto com o recipiente, que será um novo ambiente, pode ser suficiente para quebrar o equilíbrio natural daquela água.

Para fazer as recolhas das águas é necessário optar-se pelos recipientes correctos, dependendo das análises a fazer. Por exemplo, para os fosfatos, os recipientes usados são frascos de Schott de 50 mL, que foram previamente lavados com ácido nítrico e passados por água destilada. Para as análises do Oxigénio Dissolvido a água foi colocada numa garrafa de plástico de 1,5 L. Assim, dependendo dos parâmetros a serem analisados, os frascos de recolha vão sendo diferentes.

Para melhor desenvolvimento do projecto para as análises dos parâmetros do Oxigénio Dissolvido, Carência Química de Oxigénio, Condutividade, Carência Bioquímica de Oxigénio, Nitratos, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais, as amostras foram recolhidas em garrafas de plástico de 1,5L devidamente identificadas, tendo o cuidado de não deixar entrar bolhas de ar, enchendo completamente a garrafa e rolando-a ainda dentro de água.

Para a realização das análises aos fosfatos os frascos utilizados foram frascos de Schott de 50 mL, que eram lavados no dia anterior à recolha com ácido nítrico (HNO_3), e de seguida com água destilada. A lavagem destes frascos necessita de ser efectuada desta maneira porque o fósforo tem tendência a fixar-se nas paredes internas do frasco (Greenberg *et al*, 1992).

Durante as recolhas realizaram-se análises *in situ* tais como: o pH, a Condutividade, o Oxigénio Dissolvido, a Temperatura, os Sólidos Dissolvidos Totais e os Sólidos Suspensos Totais, sendo estas efectuadas com aparelhos de medição de campo. Para a medição de pH, Sólidos, Condutividade e Temperatura foi utilizado um aparelho de marca Hanna Instruments, modelo HI 98129. Utilizou-se também um medidor de Oxigénio Dissolvido, marca Hanna Instruments, modelo HI 9025 que também permitia medir a temperatura. Os dois aparelhos foram calibrados antes da sua utilização, com as soluções tampão (pH 4 e pH 7) e temperatura ambiente, respectivamente.

3.2. Análise dos parâmetros físico-químicos

3.2.1. Temperatura

A temperatura costuma ser medida por um termómetro e indica o grau de intensidade do calor de um determinado território. A temperatura atmosférica da Terra é resultado das ondas electromagnéticas que vêm do Sol. A variação de temperatura depende de vários factores, como o vento, a humidade do ar, a latitude, o ângulo de incidência do raio solar na superfície terrestre, etc. A temperatura da água é influenciada pela temperatura ambiente. Sendo fundamental para o desenvolvimento dos organismos nos ecossistemas aquáticos, pois eles reagem de maneira diferente consoante o valor deste parâmetro. A temperatura é portanto um factor limitante da vida aquífera.

3.2.2. pH

O termo pH (potencial hidrogeniônico) é uma grandeza que varia entre 0 e 14, em que $pH < 7,0$ é ácido, $pH = 7,0$ é neutro e $pH > 7,0$ é alcalino. É uma das ferramentas mais importantes e mais frequentemente utilizada nas análises de água. Praticamente todas as fases de tratamento de água e de efluentes, processos de neutralização, precipitação, coagulação, entre outros, dependem do pH. Normalmente as águas naturais possuem um pH entre 4 e 9, sendo a maioria de pH básico, devido à presença de bicarbonatos e carbonatos dos metais alcalinos e alcalinos terrosos (Agropecuária, 2011).

Define-se como pH o logaritmo da concentração do íon hidrogénio, de acordo com a seguinte fórmula:

$$pH = -\log[H^+]$$

Sendo $[H^+]$ a concentração do íon H^+ (mol/L) (Chang, 1994)

Para a medição do pH normalmente utiliza-se um medidor potenciométrico ou então as fitas de pH.

3.2.3. Condutividade

A condutividade eléctrica refere-se à capacidade que uma solução aquosa tem para conduzir uma corrente eléctrica. Esta capacidade depende da presença de iões, da concentração total, mobilidade, concentrações relativas e medidas de temperatura. A condutividade é medida em $\mu S/cm$ ou mS/cm . De uma forma mais geral, os valores da condutividade aumentam com o aumento dos níveis de poluição (Parron *et al*, 2011).

Para a realizar a medição da condutividade inserem-se dois eléctrodos de metal inerte, platina por exemplo, em que ambos têm forma e tamanho igual e dispõem-se um em frente ao outro. Entre os dois eléctrodos fica uma coluna de líquido, para a resistência eléctrica ser função somente das dimensões da coluna, da temperatura e da natureza da solução. Aquando da aplicação da diferença de potencial entre os dois eléctrodos imersos na

solução, irá decorrer uma migração dos iões para os eléctrodos. Quanto maior a concentração de iões em solução maior será a corrente, porque o número de electrões que se movem no interior será maior. O excesso de salinidade leva a problemas de corrosão tornando a água imprópria para rega (Arpin, sd).

3.2.4. Sólidos Dissolvidos Totais e Sólidos Suspensos Totais

Os sólidos definem-se como sendo a matéria em suspensão ou dissolvida numa água. As análises de sólidos são importantes no controlo dos processos de tratamento de águas residuais (físicos ou biológicos) e para controlar o limite de emissão nos efluentes (Greenberg *et al*, 1992).

Os sólidos dissolvidos totais (SDT) são a soma de todos os constituintes químicos dissolvidos na água. Mede a concentração de substâncias iónicas e é expressa em mg/L. Estes sólidos correspondem a porção dos sólidos que passam através de um filtro de 2,0 µm ou menor (Greenberg *et al*, 1992) sob determinadas condições e que permanecem como resíduo após secagem. Estes sólidos contem substâncias orgânicas e inorgânicas que se encontram em solução aquosa.

No trabalho experimental de laboratório, obteve-se o seu teor a partir da pesagem do resíduo obtido após a secagem (até massa constante) da fracção líquida resultante da filtração da amostra inicial. O resíduo obtido é pesado numa cápsula previamente pesada e seca à temperatura de 180°C. O aumento de peso da cápsula representa os sólidos dissolvidos (Baptista, 2013) .

Os sólidos Dissolvidos Totais subdividem-se em Sólidos Dissolvidos Fixos (SDF) e em Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV), consoante permaneçam ou sejam volatilizados através de um processo de calcinação.

Os sólidos suspensos totais (SST) são a quantidade de sólidos que ficam retidos na membrana (ou filtro) e que permanecem após a secagem na estufa a 103-105°C.

A soma dos Sólidos Suspensos Totais (SST) com os Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) representam a totalidade de sólidos existentes na amostra, ou seja, constituem os Sólidos Totais (ST) de uma amostra.

Os sólidos têm uma influência negativa nas águas, ao nível das características físicas e químicas (cheiro, turbidez, cor, viscosidade da água, entrada de oxigénio, luminosidade, vida aquática- microrganismos fotossintéticos) (Baptista, 2013).

3.2.5. Oxigénio Dissolvido

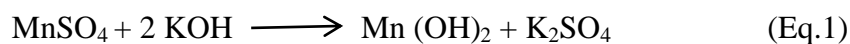
O oxigénio dissolvido é um componente essencial para o metabolismo dos microrganismos aeróbicos presentes em águas naturais. A quantidade de oxigénio atmosférico dissolvido na água ou efluente devido à diferença de pressão parcial, geralmente é expressa em parte por milhão (ppm) com temperatura e pressão específicas.

Os organismos vivos dependem de uma forma ou de outra de oxigénio para manter os processos metabólicos de produção e energia e de reprodução (Programa Água Azul, sd).

Existem dois métodos bastante comuns para a determinação do Oxigénio Dissolvido, que são o método de Winkler (método iodométrico) e o método electroquímico baseado em reacções de oxidação-redução, sendo que o recomendado é o método de Winkler (Portal da Educação, 2013).

O oxigénio dissolvido na água, em meio alcalino, reage quantitativamente com o hidróxido de manganês (II) formando dióxido de manganês. Este composto reage, em meio ácido, com iodeto formando iodo livre, em quantidade equivalente ao oxigénio existente. O iodo libertado é titulado com tiosulfato de sódio. Os nitritos que poderiam interferir com o processo são destruídos por reacção com a azida de sódio.

O sulfato de manganês vai reagir com o hidróxido de potássio da mistura alcalina de iodeto de potássio, produzindo assim flocos brancos de hidróxido de manganês que se precipitam (Eq.1).



Na presença de OD, o hidróxido de manganês reage com o oxigénio formando-se um precipitado amarelo acastanhado de óxido de manganês (Eq.2).



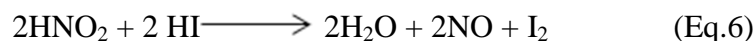
Com a adição do ácido, este precipitado dissolve-se libertando-se uma quantidade de iodo equivalente ao oxigénio existente na água (Eq.3).



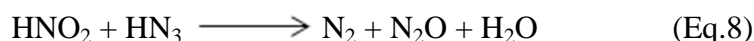
O iodo formado é titulado com tiossulfato de sódio (Eq.4).



No método de Winkler não modificado a presença de nitritos na água conduz à formação de iodo livre, o que é indesejável para a precisão do método (Eqs.5 e 6).



A modificação do método obtida com a adição da azida de sódio vai possibilitar a eliminação da interferência de nitritos evitando a formação de outro iodo externo ao processo (Eqs.7 e 8).



Este parâmetro é muito importante para a qualidade de uma água superficial, pois quanto mais oxigénio a água possuir maior será a biodiversidade desse ecossistema.

3.2.6. Carências de Oxigênio

Ao longo dos tempos, têm sido desenvolvidos vários testes para a determinação da quantidade de matéria orgânica numa água Natural ou residual.

Existem dois tipos de carências de oxigênio, tais como:

- Carência Bioquímica de Oxigênio (CBO);
- Carência Química de Oxigênio (CQO).

A carência bioquímica de oxigênio representa o oxigênio consumido pelos microrganismos na oxidação da matéria orgânica numa determinada água em condições aeróbias. Como este processo de oxidação é, ainda assim, numa certa lentidão, convencionou-se tomar, como parâmetro representativo do teor em matéria orgânica numa água, o valor da CBO ao fim de cinco dias de incubação, a 20 °C (CBO_5^{20}).

A carência bioquímica de oxigênio correspondente à oxidação bioquímica total da matéria orgânica, designa-se por carência última de oxigênio (CUO ou CBOu) (Sousa, 2001).

O teste da carência química de oxigênio mede a quantidade de oxigênio necessária para oxidar quimicamente, em determinadas condições, a matéria orgânica presente numa água. Para este efeito, o oxigênio equivalente à matéria orgânica é medido pela utilização de um agente oxidante químico forte como o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) em meio ácido (Sawyer *et al*, 1994).

3.2.7. Fosfatos

O fosfato é um nutriente essencial para a fotossíntese das plantas, que tem contribuído para agilizar o crescimento das plantações por todo o mundo (COPEBRÁS, sd). A actividade agrícola, os detergentes e os sabões podem influenciar a quantidade de fosfatos na água. Com o aumento da concentração de fosfatos na água, o número de plantas aquáticas vai aumentar consideravelmente. Esta situação vai fazer com que a superfície de lagos e rios

fique coberta com estas plantas, devido ao seu elevado crescimento. A superfície, estando coberta de algas, vai impedir que a luz solar penetre na água, e conseqüentemente a quantidade de oxigénio irá diminuir, o que irá provocar a morte de outros organismos aquáticos. Este processo denomina-se de Eutrofização. Quando este processo ocorre, existem poucos nutrientes na água e conseqüentemente ocorrem uma série de alterações, tais como o crescimento elevado de fitoplâncton, o que faz com que haja um aumento de turbidez da água, não deixando que a luz solar chegue às plantas que se encontram submersas. Os fosfatos, na água, podem encontrar-se em partículas, ou mesmo em corpos de organismos aquáticos (Padilha *et al*, 2010).

Os fosfatos podem ser determinados em laboratório por colorimetria, utilizando o método do molibdato de amónio. Este procedimento é efectuado em meio ácido, onde os fosfatos vão reagir com o molibdato de amónio formando o fosfomolibdato de amónio. O fosfomolibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico, transforma-se em azul de molibdénio, um complexo de coloração azul que é medido por espectrofotometria num comprimento de onda de 880 nm (CEGAT, 2002).

A absorvância está relacionada com a concentração da substância, ou seja, quanto maiores os níveis de fosfato que se encontram na amostra, maior será a intensidade da cor azul e maior será a absorção da luz por ela atravessada. Esta quantificação obtém-se recorrendo à Lei de Beer.

Para a determinação da concentração dos fosfatos, utiliza-se uma recta de calibração, que consiste na preparação de soluções padrão idênticas à da amostra e de concentração conhecida e na medição das respectivas absorvâncias. Através do gráfico construído a partir das duas variáveis, a concentração e absorvância, pode determinar-se a concentração da amostra desconhecida.

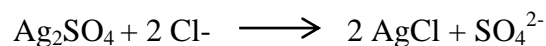
3.2.8. Nitratos

Os nitratos são formados quando o nitrogénio entra em contacto com água oxigenada. Os nitratos geralmente estão presentes nas plantas e em vários vegetais. O nitrato também está

presente na água com uma concentração inferior a um miligrama por litro. Existem altos níveis de nitratos quando a água é exposta a contaminantes, tais como fertilizantes, esterco animal, dejectos humanos e plantas deterioradas (Rubino, sd).

Tal como acontece com os fosfatos, os nitratos também podem ser responsáveis pelo crescimento anormal de algas nas águas, ou seja, pela eutrofização do meio hídrico.

Para a determinação de nitratos da água existe uma norma portuguesa NP4338- 1/96 – que descreve o método espectrofotométrico do 2,6-dimetilfenol. Removem-se os cloretos existentes na amostra (já que estes podem interferir com a análise das amostras), para que se possa determinar os nitratos. Neste passo a solução a utilizar é o sulfato de prata que leva os cloretos a precipitarem. O sulfato de prata reage com o ião cloreto da seguinte maneira:



3.3. Apresentação e Discussão de Resultados

De seguida serão apresentados os gráficos de todos os parâmetros analisados, que compreendem as 4 recolhas analisadas.

3.3.1. Análise Descritiva

A temperatura da água foi medida *in situ* e os resultados apresentados no gráfico da figura 55 mostram uma concordância no comportamento das curvas. A temperatura foi medida também em laboratório, tendo-se obtido resultados semelhantes. Verifica-se que a temperatura da água depende da temperatura ambiente, ou seja, nos meses em que houve mais frio a temperatura da água estava mais baixa e nos meses onde a temperatura ambiente subiu, a temperatura da água subiu, conseqüentemente. Nos pontos 7 e 4

(Limnógrafo e Ponte da Broa, respectivamente) a temperatura foi mais elevada (compreendida entre 18 e 28°C) possivelmente devido ao facto de serem pontos de águas mais paradas, não apresentando grandes variações de temperatura em relação à temperatura ambiente. Por outro lado, nos pontos 1 e 6 (Início da Reserva e Ponte do Himalaia, respectivamente) as águas têm uma temperatura inferior (varia entre 16 e 23°C), visto que a água apresenta um maior movimento, fazendo com que as águas tenham uma maior variação em relação à temperatura ambiente.

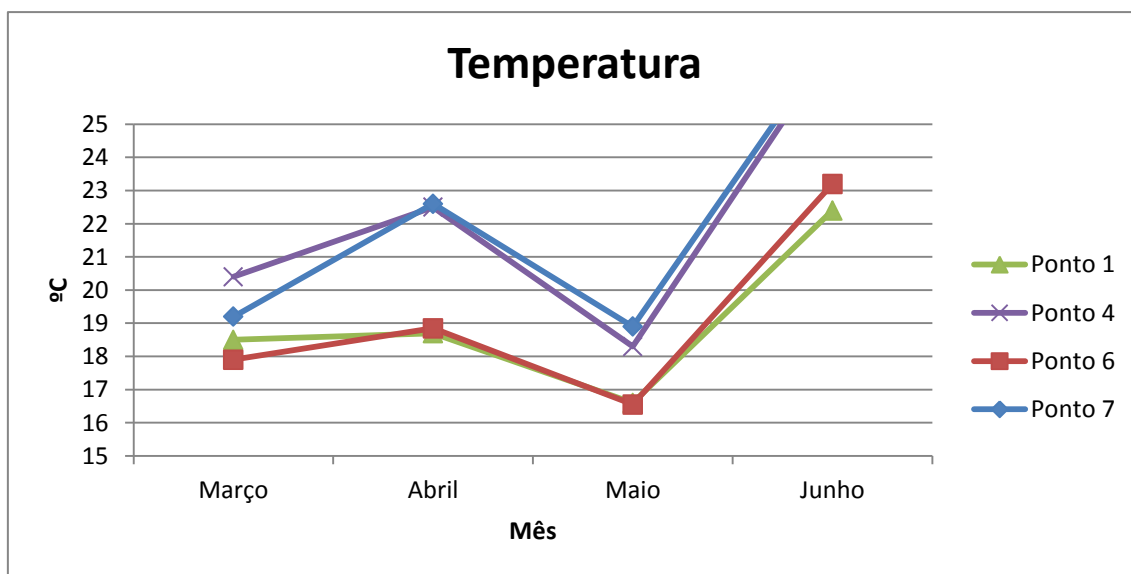


Figura 55- Perfil de temperatura *in situ* ao longo do período de monitorização

Assim como no ano anterior, a temperatura aumentou do mês de Março para o mês de Abril, o que não se verificou no trabalho realizado no ano de 2012 (em que a temperatura sofreu uma diminuição). Estas diferenças de comportamento devem reflectir as diferenças na temperatura ambiente nos vários anos em análise.

O gráfico do pH apresentado na figura 56 mostra os valores de pH medidos em laboratório. Os valores de pH medidos *in situ* apresentavam oscilações inexplicáveis e não estavam concordantes com os resultados obtidos em laboratório, possivelmente porque o aparelho utilizado em campo não estava nas suas melhores condições de medição. Nos pontos 1, 6 e 7 o comportamento das águas relativamente ao pH foi semelhante ao longo do período de análise. No ponto 7 (Limnógrafo) há maior valor de pH porque as águas têm uma maior concentração de iões carbonato e bicarbonato. Os pontos 1 e 6 (Início da Reserva e Ponte do Himalaia, respectivamente) situam-se em pleno Rio Almonda e daí a semelhança dos

valores de pH apresentados. O ponto 4 (Ponte da Broa) corresponde à saída da Reserva recebendo todas as contribuições das águas superficiais do Paul, pelo que o pH é intermédio relativamente aos locais estudados. As águas do ponto 4 destacam-se ainda pelo diferente comportamento que exhibe. Tal pode dever-se a outra contribuição de alguma água não analisada, porque se trata de um local situado na saída da Reserva. Registamos ainda a escorrência de águas, eventualmente pluviais ou residuais, junto à ponte da Broa, o que poderá condicionar este parâmetro.

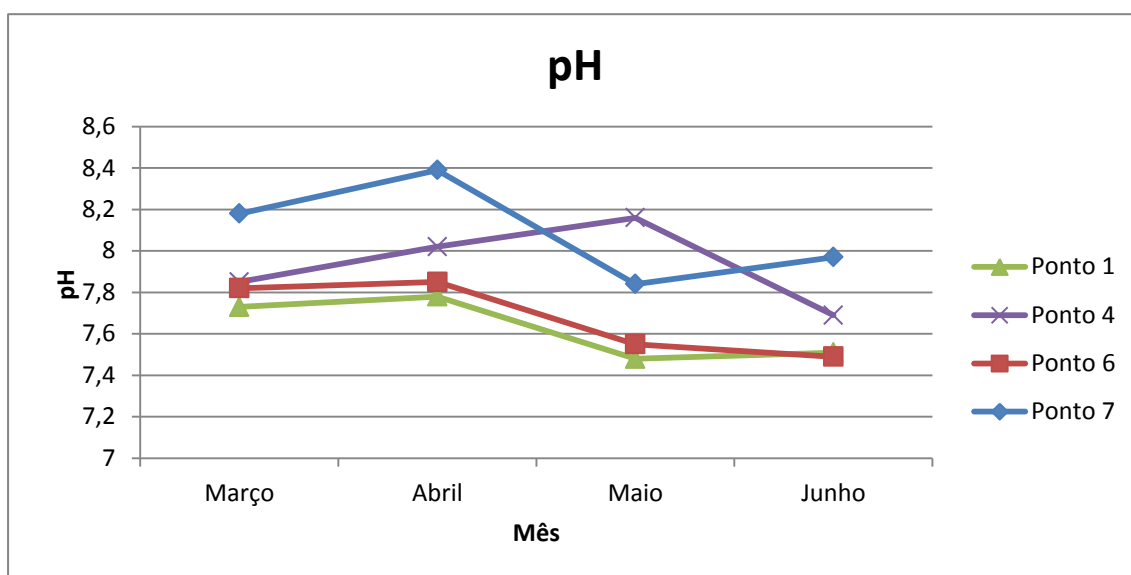


Figura 56-Perfil do pH, em laboratório, ao longo dos meses de monitorização

Em relação aos trabalhos dos anos anteriores, houve uma semelhança no comportamento do pH, havendo um aumento do mês de Março para o mês de Abril nas águas dos pontos estudados.

Segundo o decreto-lei nº236/98 Anexo XVIII, o pH tem de estar compreendido entre 6 e 9. Assim, os valores de pH medidos em todas as recolhas encontram-se dentro dos valores estabelecidos.

A condutividade de uma água é dependente do número e do tipo de espécies iónicas dispersas e pode constituir uma medida importante na determinação de outros parâmetros, como por exemplo a salinidade. Relativamente à condutividade, o gráfico da figura 57 corresponde aos valores medidos em laboratório visto que os valores *in situ* não se mostravam conformes, potencialmente devido a erros exibidos na leitura da condutividade no aparelho. O comportamento das curvas em todos os pontos foi semelhante verificando-se um aumento brusco dos valores do mês de Abril para o mês de Maio. No mês de Maio a condutividade continua a aumentar. Estes meses são mais quentes do que os anteriores, havendo mais evaporação da água, que conseqüentemente diminui o caudal resultando numa menor diluição das águas, facto que em Junho é ainda mais acentuado.

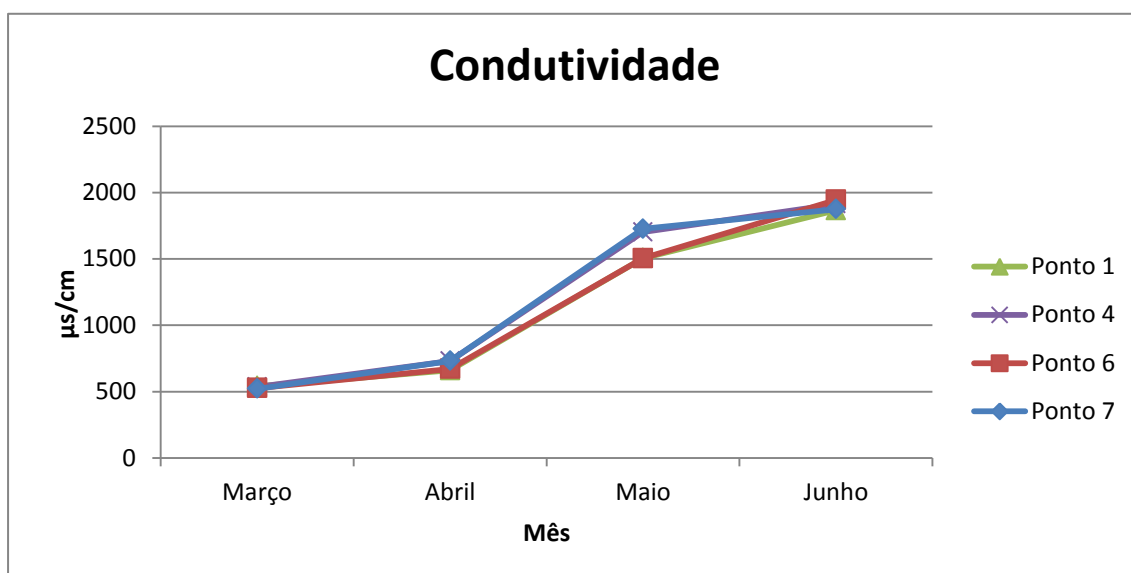


Figura 57- Perfil de condutividade, em laboratório, ao longo dos meses de monitorização

Os valores analisados no ano corrente estão de acordo com os do ano passado havendo um aumento na condutividade. Em 2012, os dados do mês de Abril para o mês de Maio apresentam uma diminuição provavelmente porque nesses meses a temperatura estava mais baixa.

O Oxigénio dissolvido permite avaliar se a água tem condições aeróbias, que permitem a sua purificação, quando recebe poluentes (Sawyer, 1994). A baixa solubilidade do oxigénio é o maior factor que limita a capacidade natural de purificação e a necessidade de tratamentos de resíduos para diminuir a poluição antes de novas descargas. O oxigénio

dissolvido é o principal parâmetro de caracterização dos efeitos da poluição por lançamentos orgânicos (programaaguaazul, sd). Optou-se pelo gráfico obtido em laboratório (figura 58) visto que o gráfico obtido com os dados *in situ* era semelhante. As águas do ponto 7 (Limnígrafo) apresentam um elevado teor de oxigénio dissolvido, embora sejam águas paradas, têm uma maior quantidade de algas (microrganismos autotróficos) sendo estas responsáveis pela produção de oxigénio. Nos pontos 1,4 e 6 os valores são semelhantes, visto que se trata de ambientes lóticos, com carga algal muito inferior.

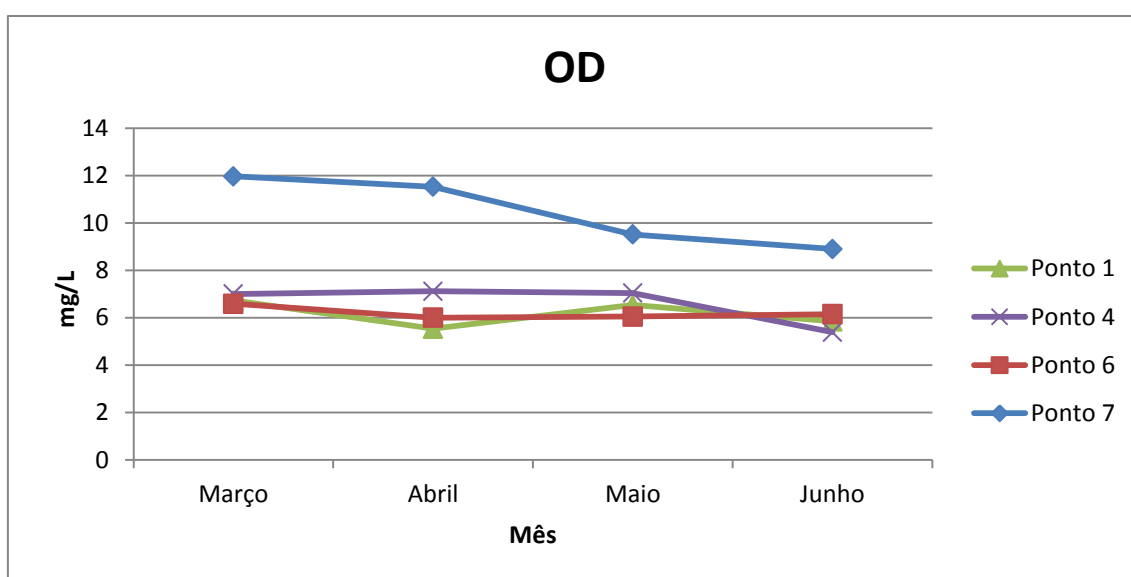


Figura 58- Perfil de oxigénio dissolvido, analisado em laboratório, ao longo do período de monitorização

Comparando com os anos anteriores, podemos verificar que as oscilações dos valores de Oxigénio dissolvido são semelhantes. Todos os valores obtidos estão de acordo com o decreto-lei nº238/98, no que diz respeito às águas doces para fins piscícolas, em que os valores devem ser iguais ou superiores a 5 mg O₂/L, o que não se verifica nos anos anteriores. Este facto poderá indicar uma melhoria da qualidade das águas.

A figura seguinte apresenta o gráfico com os valores de Sólidos Dissolvidos Totais. Os sólidos dissolvidos totais apresentam um comportamento semelhante à condutividade, estando estes 2 parâmetros relacionados directamente um com o outro. Isto porque, quando existem mais sólidos dissolvidos nas águas a condutividade desta é maior e vice-versa. Os

sólidos dissolvidos nas águas foram aumentando ao longo do tempo, visto que a temperatura começou a aumentar, o caudal diminuiu (devido à evaporação) havendo menor diluição das águas, aumentando assim o teor de sólidos (tal como observado no gráfico da condutividade).

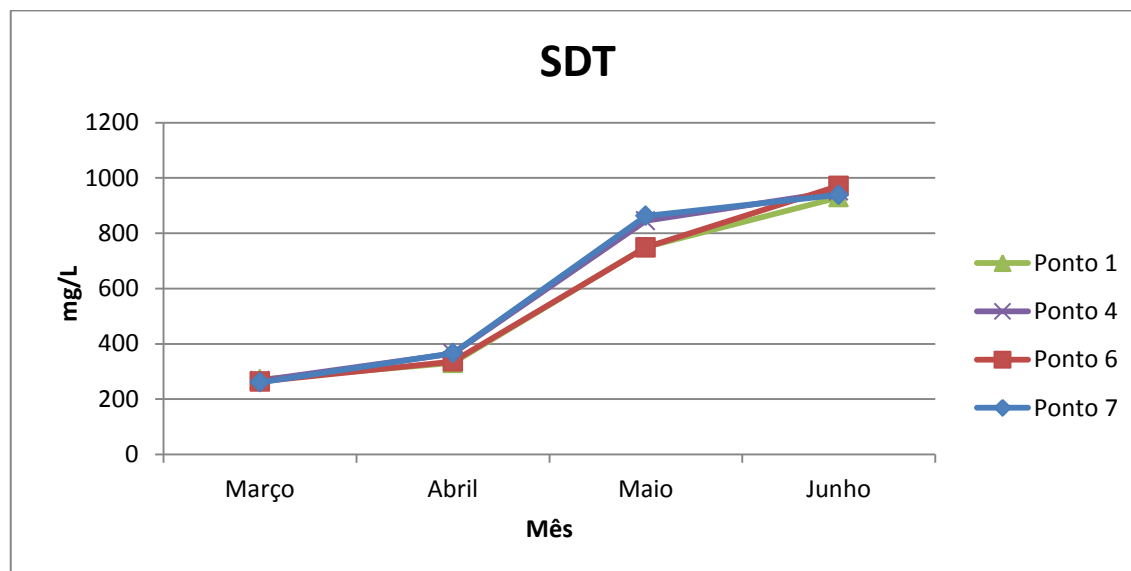


Figura 59- Perfil dos sólidos dissolvidos totais, medidos em laboratório, ao longo do período de monitorização

Os sólidos suspensos são todos os sólidos sedimentáveis e flutuantes presentes na água. O gráfico da figura 60 mostra que a água com maior teor de sólidos suspensos é a do Limnógrafo, expectável por se tratar de um ambiente lântico. A água à saída da Reserva (ponto 4) apresenta também valores elevados, talvez por receber várias contribuições ao longo da área da Reserva. Os pontos com menos teor de SST eram os pontos 1 e 6, o que se prende com o facto de haver uma maior corrente nestes pontos.

Os valores dos anos anteriores apresentam semelhanças relativamente aos dados analisados (diminuindo do mês de Abril para o mês de Maio). Esta diminuição pode reflectir uma menor precipitação e, conseqüentemente, uma menor turbulência da água. Os valores de SST estão entre 0 mg/L e 90 mg/L. Comparando com o decreto-lei nº236/98 Anexo XVI, verifica-se que a água recolhida no ponto 7 não está de acordo com os valores regulamentados para rega (60 mg/L), enquanto que as restantes águas não ultrapassam o valor máximo recomendado (VMR).

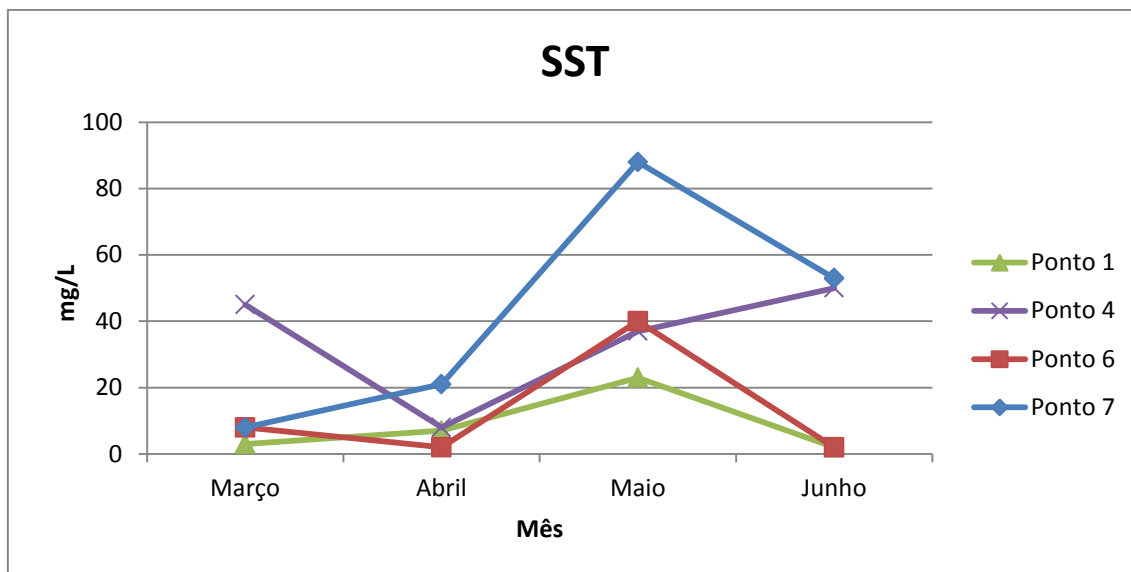


Figura 60- Perfil dos sólidos suspensos totais ao longo do período de monitorização

Relativamente à concentração de fosfatos presentes na água (figura 61), nos pontos 1 e 4 verificam-se valores superiores aos restantes locais. A água do ponto 1 (Início da Reserva) contém uma maior concentração de fosfatos no mês de Abril possivelmente devido à carga destes iões presentes no rio Almonda. Os campos agrícolas encontravam-se em preparação no final do Inverno para a sementeira do milho, o que se alonga habitualmente até à Primavera. Esta preparação dos terrenos envolve alguma acção mecânica e beneficiação em termos de nutrientes, nomeadamente fósforo. Por se tratar de uma cultura em linha, há um aumento do risco de escoamento e lixiviação por acção das águas das chuvas e regas, o que pode levar às perdas de nutrientes por escoamento superficial e subterrâneo (anpromis, sd). Este facto pode justificar o teor elevado de fósforo determinado no mês de Abril. As águas dos pontos 6 e 7 (ambos situados na área da Reserva Integral) apresentavam um menor teor de fosfatos indicando menor contaminação nesta zona mais afastada dos campos agrícolas.

Em relação aos anos anteriores, a concentração de fosfatos determinados foi muito superior. Por exemplo, relativamente ao ano de 2012, onde se registou uma variação entre 0 mg/L e 5 mg/L, os valores no ano corrente variam entre 0 mg/L e 90 mg/L, o que representa um acréscimo de 18 vezes mais.

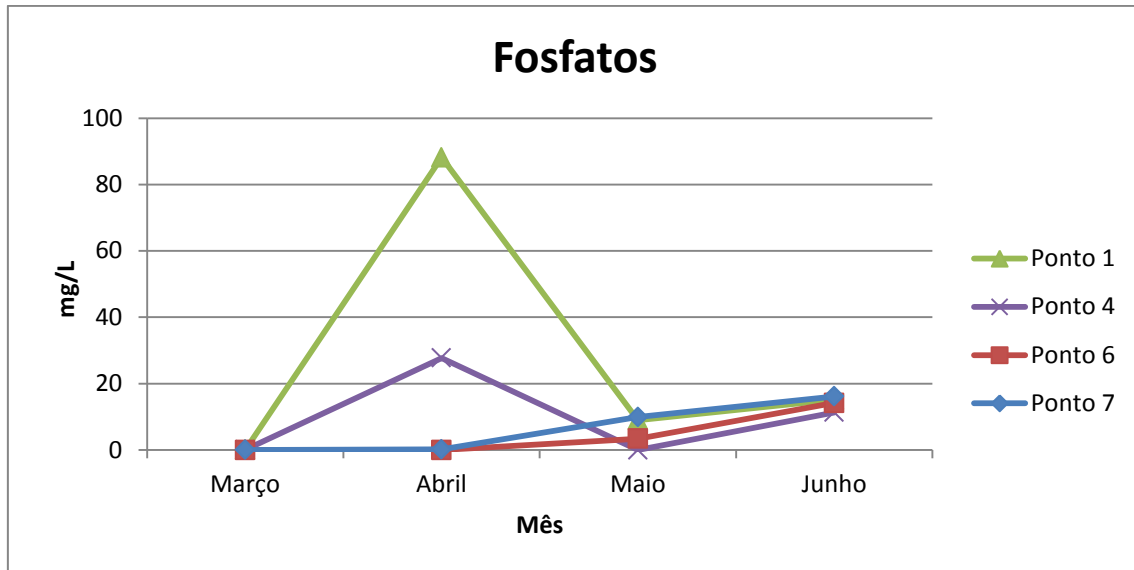


Figura 61- Perfil de fosfatos ao longo do período de monitorização

A figura 62 exhibe o gráfico com os valores de nitratos medidos. Nos 3 primeiros meses, a concentração de nitratos é de 0 mg/L. Do mês de Maio para o mês de Junho houve um aumento brusco da concentração de nitratos, possivelmente devido aos fertilizantes utilizados nas plantações. Contudo, apenas no mês de Junho, a concentração de nitratos ultrapassou o valor máximo recomendado de 50 mg/L estabelecido no decreto-lei nº236/98 Anexo XVI para águas destinadas à rega.

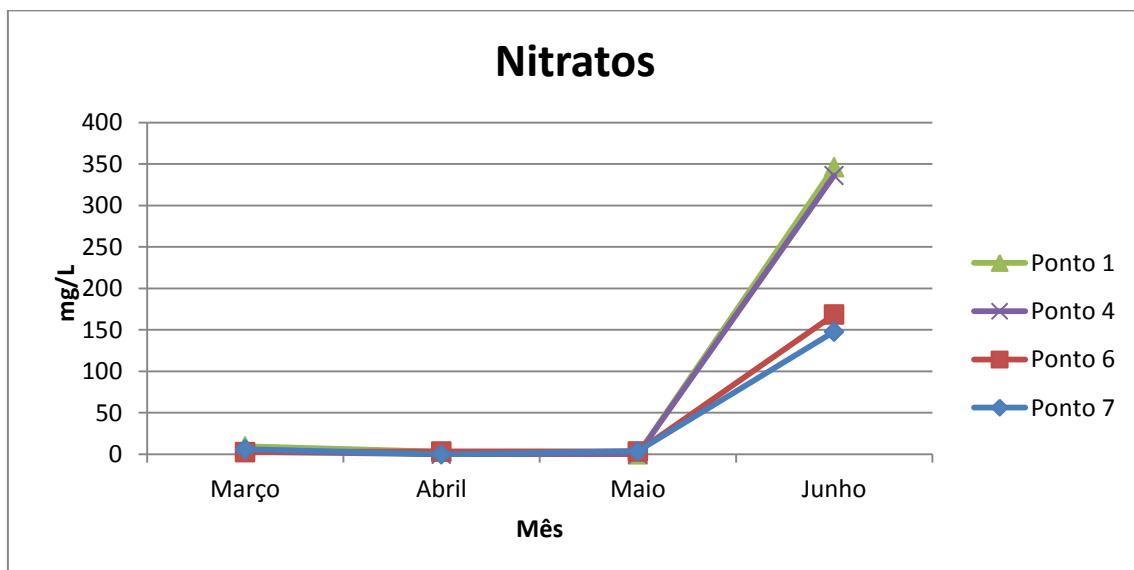


Figura 62- Perfil dos nitratos ao longo do período de monitorização

Em comparação com os resultados do ano de 2012, do mês de Maio para o mês de Junho os valores não se encontram em concordância, visto que a concentração de nitratos desse ano desceu enquanto que no ano corrente essa concentração aumentou consideravelmente.

A carência química de oxigénio (figura 63) mede a quantidade de oxigénio necessária para oxidar quimicamente a matéria orgânica presente numa água. Os pontos 6 e 7 sofrem oscilações semelhantes, aumentando até Abril e diminuído até ao mês de Maio. Pelos resultados exibidos do gráfico, percebe-se que a água do lago da Reserva Integral (Limnígrafo) e a água à saída da Reserva apresentam os teores mais elevados de poluição orgânica passível de degradação química.

Segundo o decreto-lei nº236/98 Anexo XVIII, os valores obtidos em todos os pontos encontram-se dentro do valor limite de emissão na descarga de águas residuais (150 mg O₂/L).

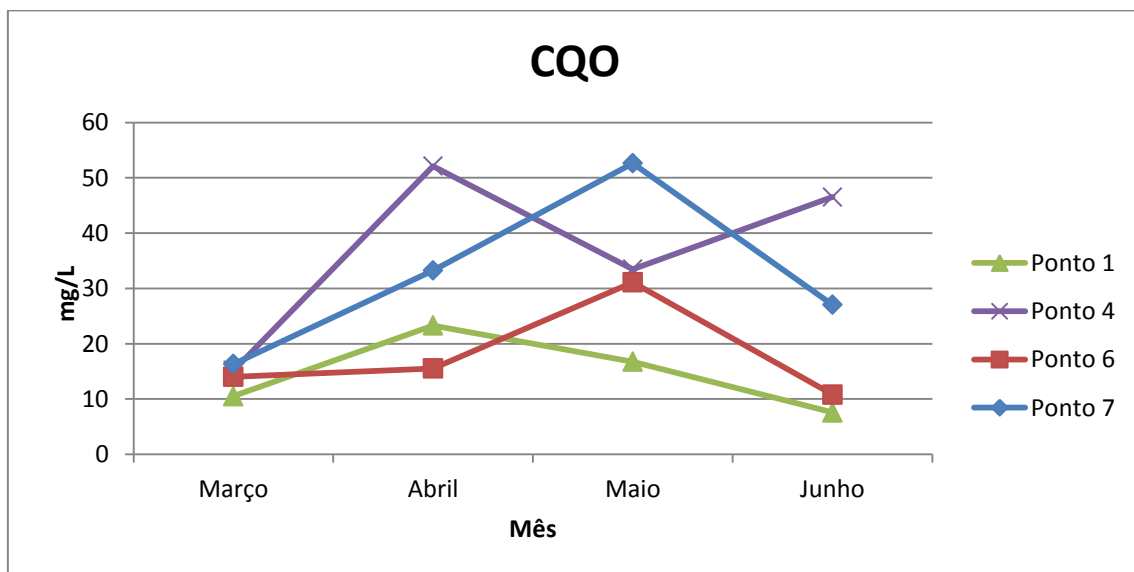


Figura 63- Perfil de CQO ao longo do período de monitorização

As curvas representadas na figura 64 referentes aos valores de CBO₅ apresentam um comportamento semelhante em todos os pontos.

No ano corrente, na generalidade, os valores de CBO_5 são inferiores aos dos anos anteriores (por exemplo, em Maio os valores estão compreendidos entre 15 $\text{mg O}_2/\text{L}$ e 43 $\text{mg O}_2/\text{L}$, enquanto que no ano anterior os valores em Maio encontravam-se entre 200 $\text{mg O}_2/\text{L}$ e 250 $\text{mg O}_2/\text{L}$), o que nos mostra que no ano passado a poluição das águas em matéria orgânica biodegradável era mais elevada em relação ao ano corrente.

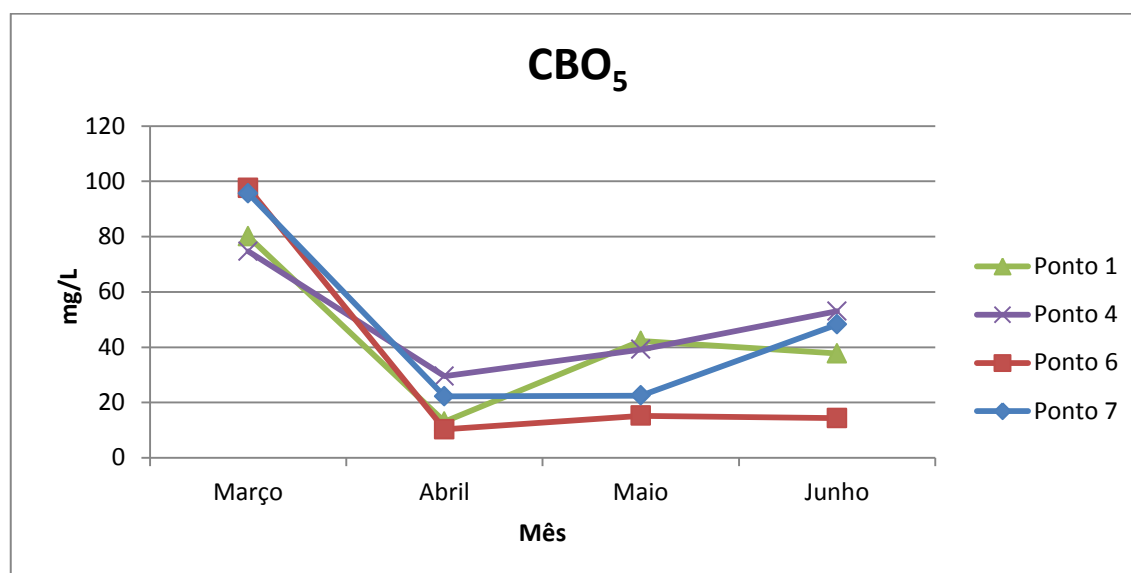


Figura 64- Perfil de CBO_5 ao longo do período de monitorização

Segundo o decreto-lei, em que o valor limite de emissão é de 40 $\text{mg O}_2/\text{L}$, verifica-se que os valores de CBO_5 obtidos não respeitam a legislação na descarga de águas residuais.

Relativamente às análises microbiológicas, apenas foram efectuadas 3 recolhas porque ocorreu um problema com o material esterilizado de laboratório, não sendo possível realizar a primeira recolha em Março.

O gráfico da figura 65 apresenta a quantidade de microrganismos cultiváveis a 36°C presentes nas águas. Foi necessário aplicar o \log_{10} aos valores das unidades formadoras de colónias visto que o intervalo de UFC era muito elevado não permitindo uma adequada escala para o eixo das ordenadas (yy).

Analisando o gráfico, pode-se verificar que todas as curvas representativas dos pontos apresentam comportamento semelhante. Na recolha de Maio registaram-se temperaturas da água baixas, o que eventualmente pode justificar o decréscimo do número de

microrganismos cultiváveis em relação ao mês anterior. Posteriormente, quando houve uma melhoria das condições meteorológicas (em Junho), o número de microrganismos começou a aumentar. Este fenómeno é também comprovado pelo trabalho realizado no ano de 2012.

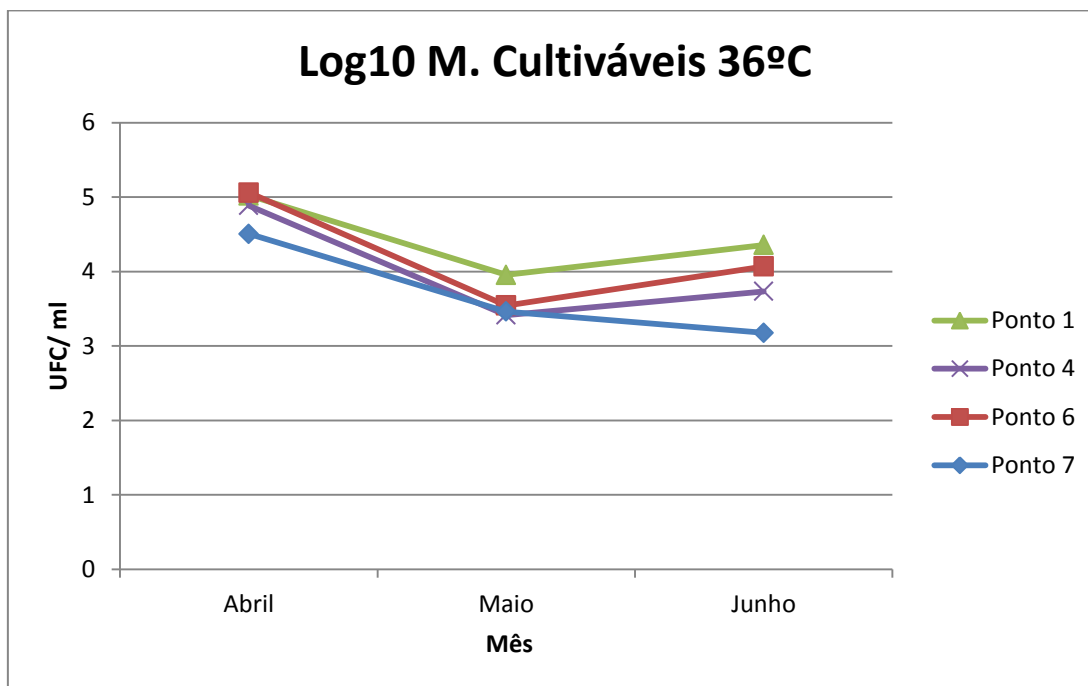


Figura 65- Perfil de M. Cultiváveis a 36° C ao longo do período de monitorização

O gráfico da figura 66 representa o número de bactérias coliformes presentes nas águas dos 4 pontos de recolha. O grupo coliforme é usado como bioindicador de contaminação fecal. Quanto maior a quantidade de coliformes presentes numa água, mais contaminada ou poluída ela se encontra. Os coliformes totais são bactérias gram-negativas (aeróbias ou anaeróbias) que fermentam a lactose produzindo ácido e gás. Neste grupo insere-se a bactéria *E. Coli*, que também se pesquisa correntemente para avaliar a poluição fecal.

Analisando o gráfico, verifica-se que o número de coliformes é bastante elevado nas águas dos pontos 1 e 6. Isto revela inequivocamente a poluição do rio Almonda a montante da Reserva.

O valor máximo determinado é de aproximadamente 3360 UFC/mL, registado no início da Reserva no primeiro local de análise referente ao rio Almonda.

As águas dos pontos 4 e 7 apresentam valores de coliformes muito próximos, sendo que o seu número foi estável ao longo dos 4 meses de estudo. Regista-se que no lago da Reserva Integral e na Saída da Reserva a qualidade da água no que respeita a este tipo específico de poluição é superior.

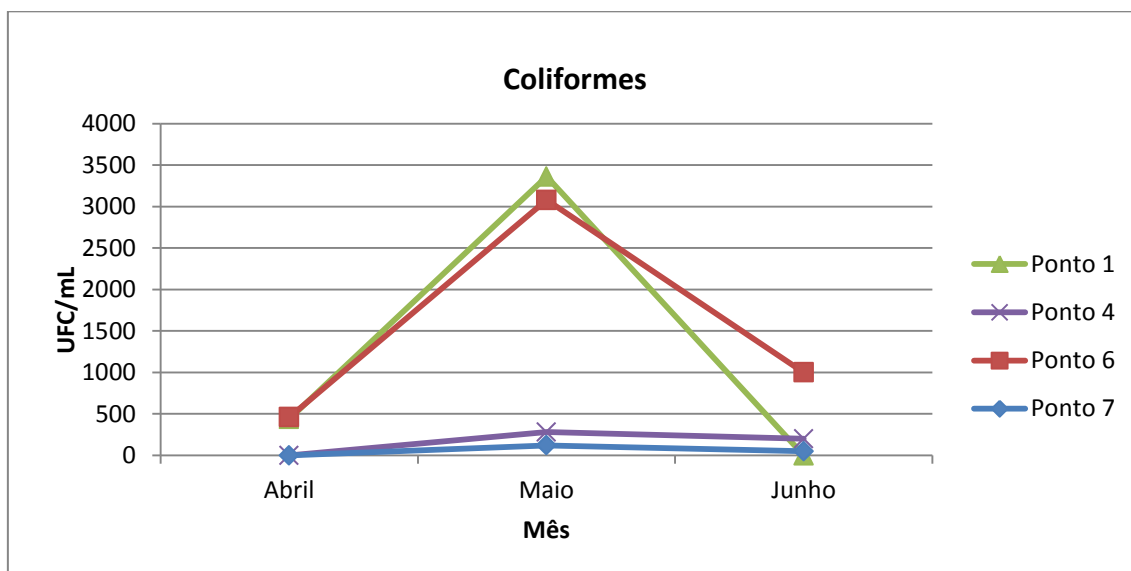


Figura 66- Perfil de coliformes ao longo do período de monitorização

Os valores obtidos de coliformes totais indicam um elevado grau de poluição, sendo o valor máximo recomendado de 100 UFC/100 ml para água de rega para coliformes fecais.

Os resultados obtidos nestes dois parâmetros microbiológicos estão directamente relacionados com a carga poluente a montante da RNPB e com a temperatura.

3.3.2. Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados foi efectuado com a ajuda do software MINITAB, com o objectivo de elaborar uma análise exploratória dos resultados gráficos analisados anteriormente, pretendendo-se obter respostas para o comportamento de cada um dos parâmetros estudados.

Para esta análise, foi usada a tabela do Anexo D com todos os parâmetros físico-químicos e microbiológicos organizados por Pontos (locais de recolha) e Amostras (data de recolha). A esta tabela foram adicionados os índices de diversidade de Simpson, Abundância e BMWP'.

No âmbito da análise exploratória utilizou-se o estudo multivariado em função da quantidade de variáveis em estudo, optando-se pela análise de clusters, com o objectivo de agrupar as variáveis que inicialmente isoladas foram dispostas em dendrogramas de correlação identificando-se o grau de similaridade expresso em percentagem. A análise estatística dos dados, realizada pelo programa MINITAB, permite-nos identificar a similaridade entre os clusters gerados. Um dos motivos para elaborar esta análise é reduzir a importância de variáveis isoladas, facilitando a descrição dos comportamentos dos parâmetros.

O presente trabalho apenas contém 4 recolhas, pelo que o número de parâmetros a analisar era muito superior ao número de datas de recolha. Como tal, foram efectuados dois dendrogramas para que se pudesse fazer um estudo completo de todos os parâmetros. Foi portanto efectuado um primeiro dendrograma que relaciona as variáveis físico-químicas com os índices biológicos (figura 67). Este procedimento é um método de agregação hierárquica que, primeiramente, analisa todas as variáveis separadamente, onde cada uma irá formar um cluster através do cálculo da sua correlação com ele próprio e com as restantes variáveis. De seguida, irá analisar as variáveis mais próximas, formando-se um novo cluster. Os novos clusters criados sofrem o mesmo processo, até que todos os clusters possíveis sejam criados e se complete o dendrograma. Para esta análise foram seleccionados 3 e 4 clusters, verificando-se que os 3 clusters seriam o número indicado para evitar ramos isolados com apenas uma variável.

O primeiro cluster (representado a vermelho) compreende os parâmetros Temperatura, pH, Oxigénio Dissolvido, e Carência Bioquímica de Oxigénio. O segundo cluster (representado a verde) agrupa os parâmetros Condutividade, Sólidos Dissolvidos Totais, Nitratos, Carência Química de Oxigénio e Sólidos Suspensos Totais. O terceiro cluster (representado a azul) compreende os parâmetros Fosfatos, Abundância, Diversidade de Simpson e Índice BMWP'.

Analisando os resultados deste primeiro dendrograma (figura 67), observa-se que as variáveis com maior valor de similaridade são a Condutividade e SDT (99,9(9)%- Cluster verde), isto porque dependendo do tipo de sólidos dissolvidos, a condutividade eléctrica da água aumenta, podendo explicar a sua maior correlação. De seguida, no cluster 3 (representado a azul), apresenta-se o BMWP' e Ds com 91,78% de similaridade, explicado pelo facto de o índice BMWP' ter como base a diversidade biológica no seu cálculo, como tal, a diversidade de simpson está perfeitamente correlacionada. Posteriormente, nesse mesmo cluster, as variáveis com maior similaridade são os Fosfatos e Abundância com 87,38% de similaridade, isto porque os fosfatos são um dos elementos essenciais para o crescimento da vegetação de macrófitas e algas, consequentemente estas mesmas espécies constituem a base alimentar da maioria dos macroinvertebrados, logo uma possível explicação para o elevado grau de similaridade. De seguida, no cluster 1 (representado a vermelho), encontra-se o pH e OD apresentando 87,02% de similaridade, o que poderá ser explicado pela matriz calcária do rio Almonda, uma vez que o pH das suas águas será sempre elevado e com uma grande capacidade tampão, atendendo a este factor o pH será superior quanto maior o potencial de diluição dos sais, o que ocorre com a observação de maior precipitação. Analogamente, a precipitação aumenta o potencial de oxigenação da água e o consequente aumento de caudal também contribuirá para o incremento do oxigénio dissolvido. Posteriormente, no cluster 2 (representado a verde), encontram-se SDT e Nitratos com 82,01% de similaridade, podendo ser explicado pelos compostos azotados presentes nos adubos da agricultura e nas descargas sofrerem processos químicos de transformação em nitratos, aumentando assim a carga poluente da água da Reserva e consequentemente, os sólidos dissolvidos na água. De seguida, nesse mesmo cluster, encontram-se CQO e SST com 81,21% de similaridade, explicado pelo facto de que quando existem mais sólidos suspensos na água, maior é a quantidade de matéria orgânica susceptível de ser oxidada, assim quanto mais elevada for a quantidade de sólidos suspensos, maior também o CQO.

A correlação entre factores utilizada no dendrograma da figura 67 encontra-se na tabela 4, explanando todos os cálculos e resultados da análise multivariada de similaridade das variáveis. Os resultados da tabela indicam que os factores (no total 3) sem qualquer tipo de rotação explicam 67,9% da variabilidade dos dados, como pode ser observado na última linha e última coluna da referida tabela, indicando que todas as variáveis estão bem representadas proporcionalmente. Continuando a análise da tabela, podemos verificar que o primeiro factor apresenta 30,3% de variabilidade e o segundo factor apresenta 23,1%, sendo os mais representativos, onde a sua soma representa 53,4% da variabilidade, ou seja os valores são explicados em 53,4%. O primeiro e o segundo factor estão representados no gráfico factorial da figura 69.

Tabela 4- Correlação entre três factores

Variable	Factor1	Factor2	Factor3	Communality
Temperatura (°C)	-0,340	-0,066	-0,429	0,304
pH	0,509	0,312	0,331	0,465
Condutividade (us/cm)	0,046	-0,973	-0,069	0,953
SDT (mg/L)	0,046	-0,973	-0,069	0,954
OD (mg/L)	0,705	-0,139	0,202	0,557
Fosfatos (mg/L)	-0,463	0,011	0,632	0,614
Nitratos (mg/L)	-0,310	-0,674	-0,515	0,816
CQO (mg/L)	0,659	-0,306	0,435	0,717
CBO5 (mg/L)	0,265	0,455	-0,656	0,707
SST (mg/L)	0,721	-0,454	0,179	0,758
DS	-0,677	-0,064	0,222	0,512
Abundância	-0,804	-0,147	0,390	0,820
BMWP´	-0,790	-0,062	0,120	0,643
Variance	3,9401	3,0051	1,8760	8,8212
% Var	0,303	0,231	0,144	0,679

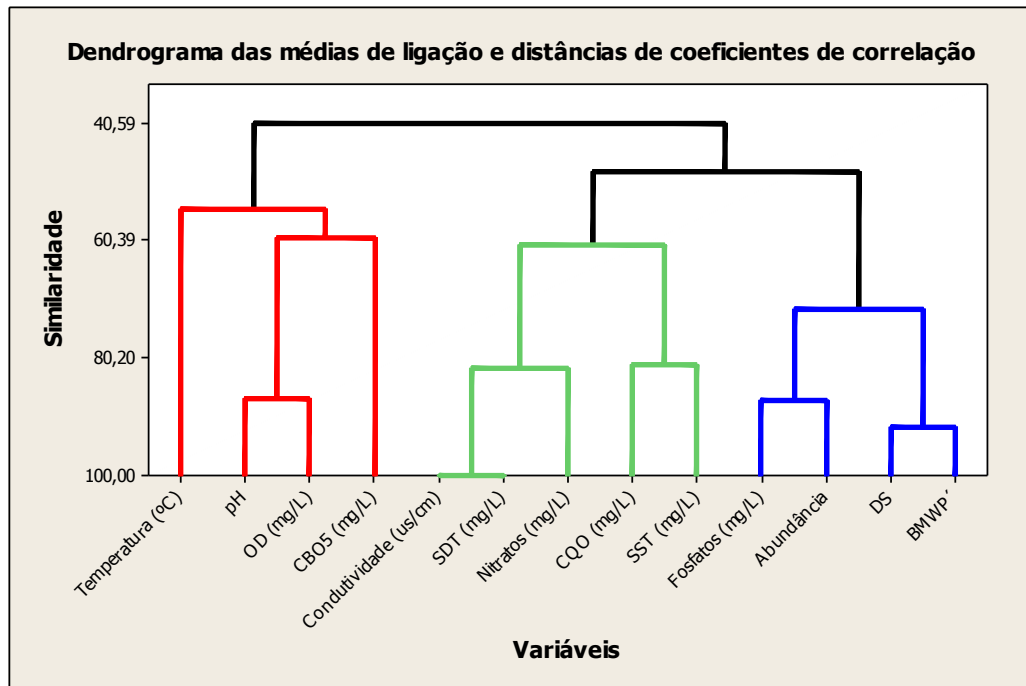


Figura 67- Dendrograma de similaridade das amostras, criado a partir das correlações entre as variáveis

Considerando a análise de similaridade efectuada anteriormente, e devido à divisão em 3 clusters, procedeu-se à análise factorial multivariada utilizando 3 factores, seguido pelo gráfico de discussão dos resultados da análise factorial e finalmente o gráfico representando a linha de percentagem de variação representada por Eigenvalues (valor próprio). Interpretando o gráfico da linha de variação (figura 68), correspondente ao primeiro dendrograma, pode-se verificar que o nosso conjunto de dados é explicado por 13 variáveis, sendo que apenas 2 apresentam Eigenvalues acima de 2,5, sendo as restantes pouco significativas para o comportamento geral das variáveis.

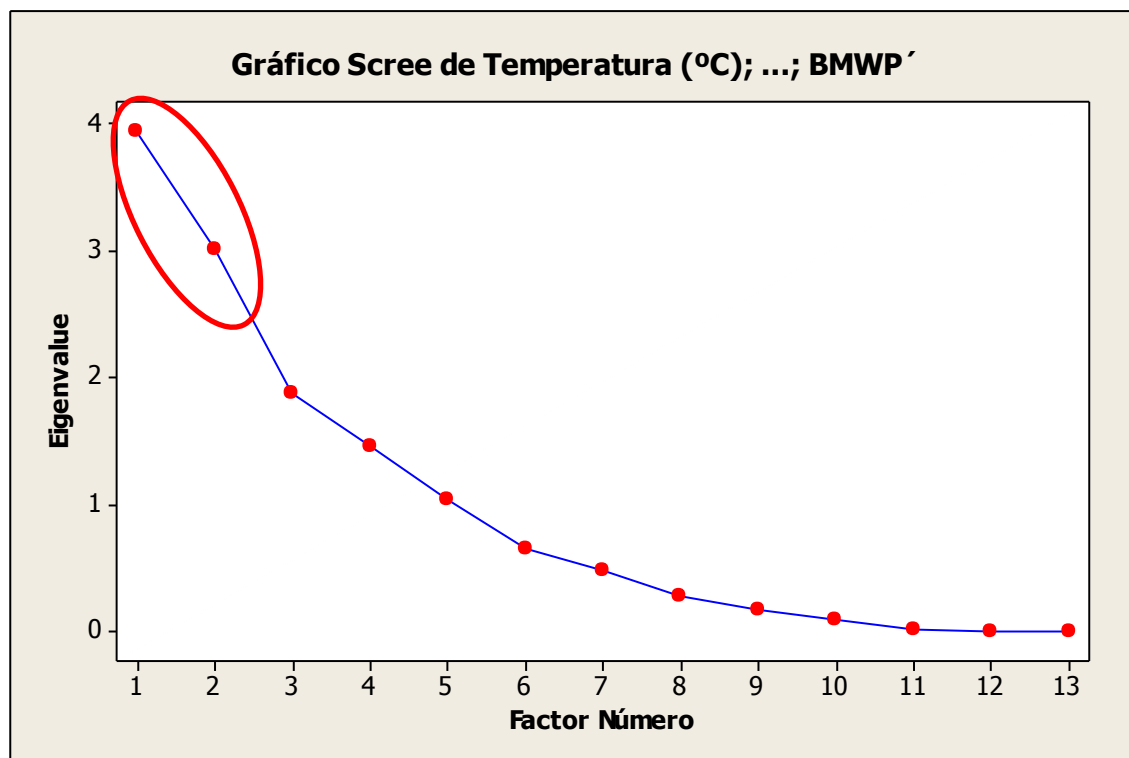


Figura 68- Variância dos principais factores

De seguida, encontra-se representado o gráfico factorial de todas as variáveis químicas (figura 69). Analisando este gráfico, podemos verificar que o primeiro factor é representado positivamente por SST, CQO, OD, pH, CBO₅, SDT e Condutividade, sendo que as restantes variáveis influenciam negativamente este factor. O segundo factor é influenciado positivamente por Fosfatos, CBO₅ e pH, e representa 23,1% de variação sendo, portanto, menos representativo do que o primeiro factor, cuja representação é de 30,3%. Explorando o conjunto de variáveis representadas graficamente podem-se identificar quatro conjuntos de variáveis: o primeiro associado à Ds, Abundância, BMWP', Fosfatos e Temperatura (assim como em anos anteriores é o mais representativo); o segundo associa Nitratos e SDT; o terceiro conjunto associa OD, CQO e SST e, finalmente o quarto associa CBO₅ e pH. Evidencia-se também uma relação directa entre Condutividade e SDT (assim como em anos anteriores a Condutividade encontra-se perfeitamente correlacionada com os SDT). Estes factos são esperados ocorrer no funcionamento Natural dos ecossistemas.

Pode-se por a hipótese de que o primeiro factor poderá representar, à semelhança do ocorrido em trabalhos de anos anteriores, uma variável condicionada pelas características do local e pelo grau de poluição apresentado. Quanto ao segundo factor, este é poderá ser

dependente da sazonalidade e da variação de ciclos naturais, assim como verificado em anos anteriores.

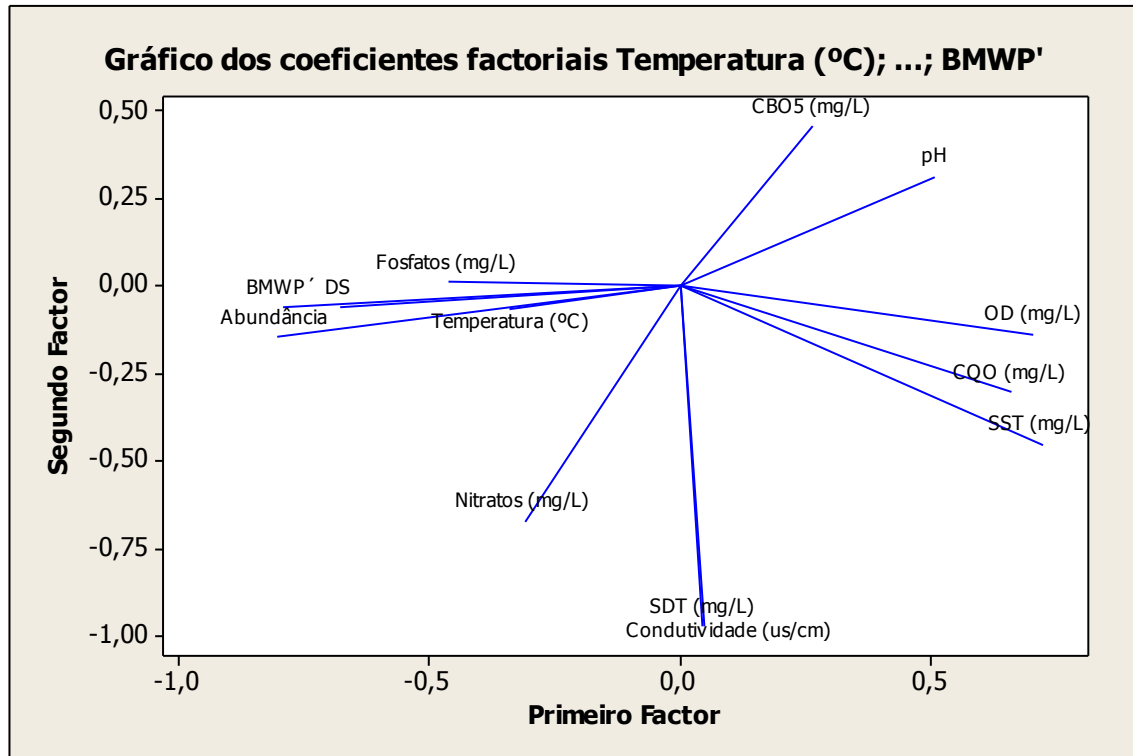


Figura 69- Plot de todas as variáveis químicas com três factores

Na tentativa de confirmar as hipóteses em relação aos factores, fez-se uma exploração dos valores, criando-se um gráfico de dispersão agrupando as datas de acordo com os pontos de recolha (figura 70).

Analisando o gráfico, pode-se verificar que o ponto 4 (Ponte da Broa) se encontra influenciado positivamente pelo primeiro factor, enquanto que o ponto 6 (Ponte do Himalaia) se encontra influenciado negativamente por esse factor. Tendo as águas do ponto 4 um caudal baixo, e portanto serem águas mais paradas, e sendo que este local se encontra consideravelmente mais poluído que os restantes, pode-se apoiar a hipótese que o primeiro factor depende das características do local e do grau de poluição existente. Pelo contrário, o ponto 6 é um local com elevado caudal e com menor poluição que o ponto 4, encontrando-se afectado negativamente pelo primeiro factor.

Em relação ao segundo factor, analisando este gráfico, não se verifica uma conclusão óbvia, pois no ano actual houve grandes variações de condições meteorológicas, não se

podendo obter uma comparação com anos anteriores. O segundo factor será explicado por um gráfico de dispersão agrupando os pontos de acordo com as datas de recolha, apresentado mais a frente (figura 74).

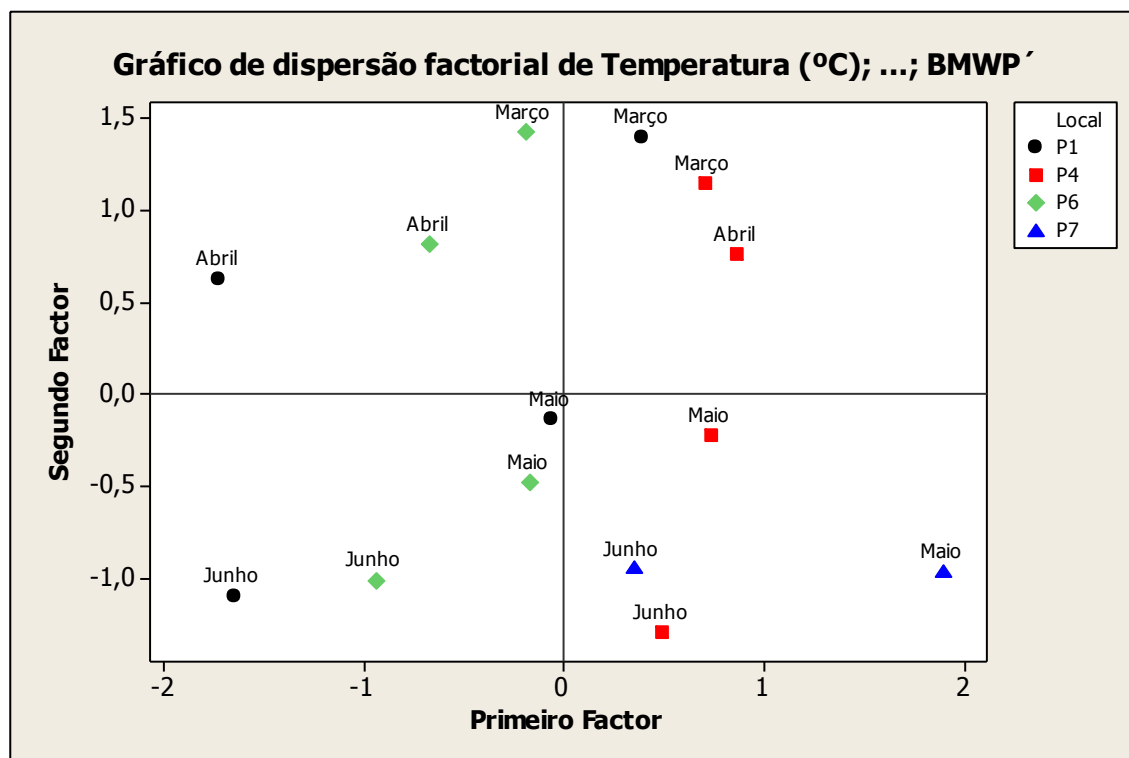


Figura 70-Valores de análise dos factores com os dados agrupados pelo local de recolha

Pela razão apresentada anteriormente, foi necessário criar um segundo dendrograma (figura 71) que representa alguns dos parâmetros físico-químicos estudados e a sua inferência nos parâmetros microbiológicos. Para esta análise foram seleccionados 3 clusters, visto que foi o número mais indicado, em consonância com as análises anteriores.

O primeiro cluster (representado a vermelho) compreende os parâmetros Temperatura, Nitratos e CBO₅. O segundo cluster (representado a verde) agrupa os parâmetros pH, OD e Cultiváveis (22°C). O terceiro cluster (representado a azul) compreende os parâmetros Fosfatos, Cultiváveis (36°C), Ds, coliformes e *E.coli*.

Analisando os resultados deste segundo dendrograma, observa-se que as variáveis com maior valor de similaridade são o pH e OD (85,57%), pela razão anteriormente descrita no primeiro dendrograma. Se seguida, no cluster a vermelho, encontram-se a Temperatura e Nitratos com 80,54% de similaridade, explicado pelo facto de que a temperatura poderá influenciar a quantidade de nitrato existente nas águas. Posteriormente, no cluster

representado a azul, encontram-se os Fosfatos e os microrganismos Cultiváveis (36°C) com 76,05% de similaridade, o que poderá ser explicado pelo facto de os Fosfatos serem um elemento essencial para o crescimento de várias famílias de microrganismos. De seguida, ainda nesse mesmo cluster, encontram-se os coliformes e *E.coli* com 72,86% de similaridade, isto porque a *Escherichia coli* é uma bactéria pertencente ao grupo das bactérias coliformes, sendo lógico uma boa similaridade entre as duas variáveis.

A correlação entre factores utilizada no dendrograma da figura 71 encontra-se explicada na tabela 5. Os resultados da tabela indicam que os factores (no total 3) sem qualquer tipo de rotação explicam 72,2% da variabilidade dos dados, como pode ser observado na última linha e última coluna da referida tabela, indicando que todas as variáveis estão bem representadas proporcionalmente. Continuando a análise da tabela, podemos verificar que o primeiro factor apresenta 28,0% da variabilidade e o segundo factor apresenta 23,3%, sendo os mais representativos, onde a sua soma representa 51,3% da variabilidade, embora menor que no anterior representa mais de 50% dos dados. O primeiro e o segundo factor estão representados no gráfico factorial da figura 73.

Tabela 5- Correlação entre três factores

Variable	Factor1	Factor2	Factor3	Communality
Temperatura (°C)	-0,461	-0,303	0,722	0,826
Nitratos (mg/L)	-0,102	0,081	0,949	0,919
CBO5 (mg/L)	0,558	-0,106	0,559	0,635
pH	0,202	-0,859	-0,284	0,860
OD (mg/L)	0,645	-0,487	-0,160	0,678
Cultiváveis (22°C) (UFC/ml)	-0,944	0,034	0,155	0,915
Fosfatos (mg/L)	-0,629	-0,205	-0,149	0,460
Cultiváveis (36°C) (UFC/ml)	-0,780	-0,318	-0,352	0,833
DS	-0,376	0,446	-0,278	0,418
Coliformes (UFC/ml)	0,204	0,853	-0,376	0,911
E.Coli (UFC/ml)	0,102	0,637	0,274	0,491
Variance	3,0790	2,5617	2,3054	7,9462
% Var	0,280	0,233	0,210	0,722

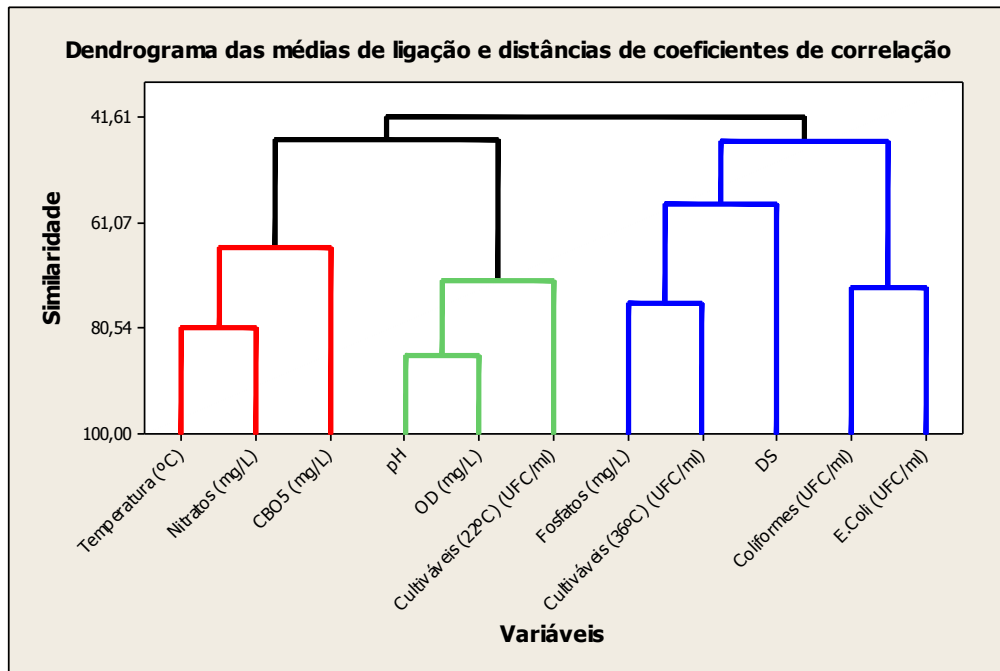


Figura 71- Dendrograma de similaridade das amostras criado a partir das correlações entre as variáveis

Interpretando o gráfico da linha de variação (figura 72), correspondente ao segundo dendrograma, pode-se verificar que o conjunto de dados é explicado por 11 variáveis, sendo que apenas 2 apresentam Eigenvalues acima de 2,5, sendo as restantes pouco significativas para o comportamento geral das variáveis.

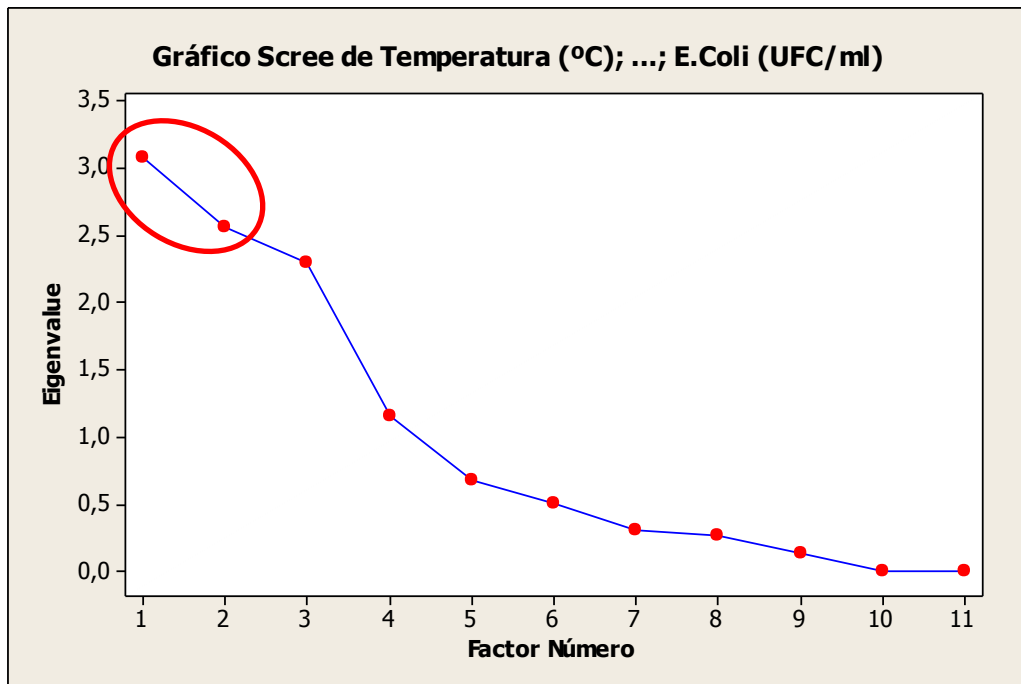


Figura 72- Variância dos principais factores

De seguida, encontra-se representado o gráfico factorial de todas as variáveis químicas (figura 74). Analisando este gráfico, podemos verificar que o primeiro factor é representado positivamente por *E.coli*, coliformes, CBO₅, OD e pH, sendo que as restantes variáveis influenciam negativamente este factor. O segundo factor é influenciado positivamente por Cultiváveis (22°C), Ds, Nitratos, *E.coli* e coliformes, e representa 23,3% de variação sendo, portanto, menos representativo do que o primeiro factor, cuja representação é de 28,0% (tabela 5). Explorando o conjunto de variáveis representadas graficamente podem-se identificar 3 conjuntos de variáveis: o primeiro associado à Ds, Nitratos, Cultiváveis (22°C), Fosfatos, Cultiváveis (36°C) e Temperatura; o segundo associado à *E.coli* e coliformes, e o terceiro associado ao OD, CBO₅ e pH. Evidencia-se também uma relação inversa entre o OD e a Ds, e CBO₅ e Cultiváveis (22°C). A relação inversa entre OD e a Ds é explicada pelo tipo de espécie encontrada no Paul, um vez que a família Diptera, ao contrário da maior parte dos seres vivos, não necessita de grandes quantidades de oxigénio para a sua sobrevivência. Existe também uma ótima relação entre coliformes e a *E.coli*, que é devido ao facto da *E.coli* estar inserida no grupo dos coliformes, assim como explicado anteriormente. À semelhança do primeiro gráfico, pode-se observar que estes factos são esperados ocorrer no funcionamento Natural dos ecossistemas.

É de referir novamente a hipótese de que o primeiro factor poderá representar uma variável condicionada pelas características do local e pelo grau de poluição apresentado. O segundo factor poderá ser dependente da sazonalidade e da variação de ciclos naturais.

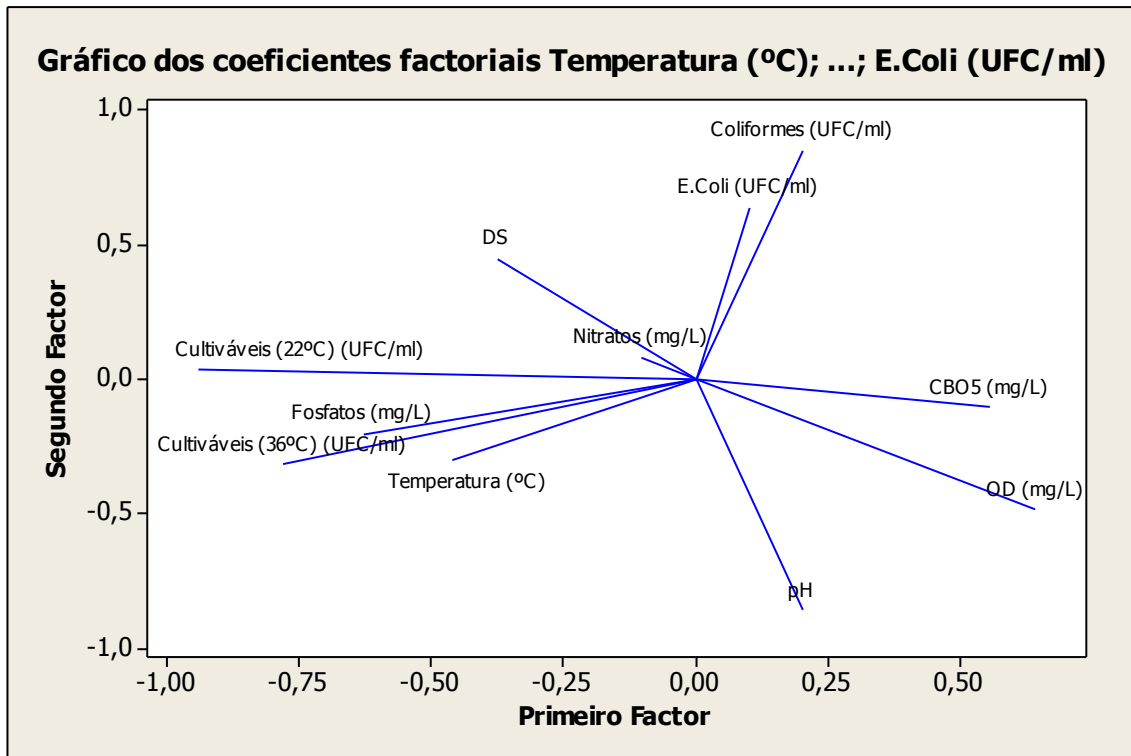


Figura 73- Plot de todas as variáveis químicas com três factores

Novamente, com o objectivo de confirmar as hipóteses em relação aos factores, fez-se uma exploração dos valores, criando-se, desta vez, um gráfico de dispersão agrupando os pontos de acordo com as datas de recolha (figura 74).

A primeira recolha não se encontra representada no gráfico seguinte, uma vez que não foram efectuadas análises microbiológicas nessa data.

Analisando o gráfico, pode-se verificar que os resultados obtidos diferenciam claramente os meses mais chuvosos dos meses mais secos, sendo que, por exemplo, no mês de Abril ocorreu uma elevada precipitação, e nos meses de Maio e Junho já havia uma melhoria das condições meteorológicas. Isto é comprovado no gráfico, uma vez que a recolha de Abril é maioritariamente influenciada de forma negativa pelo segundo factor e as recolhas de Maio e Junho são influenciadas positivamente pelo mesmo factor, embora se encontrem também negativamente influenciadas pelo segundo factor, isso deveu-se às condições meteorológicas adversas ocorridas no ano corrente, que foram fora do comum para os meses em questão, o que suporta a hipótese colocada de que o segundo factor corresponde à variação sazonal que se prende com as variáveis de temperatura e precipitação observadas.

O primeiro factor corresponderá, portanto, às características dos pontos de recolha e ao seu grau de poluição, assim como explicado no gráfico de dispersão da figura 69.

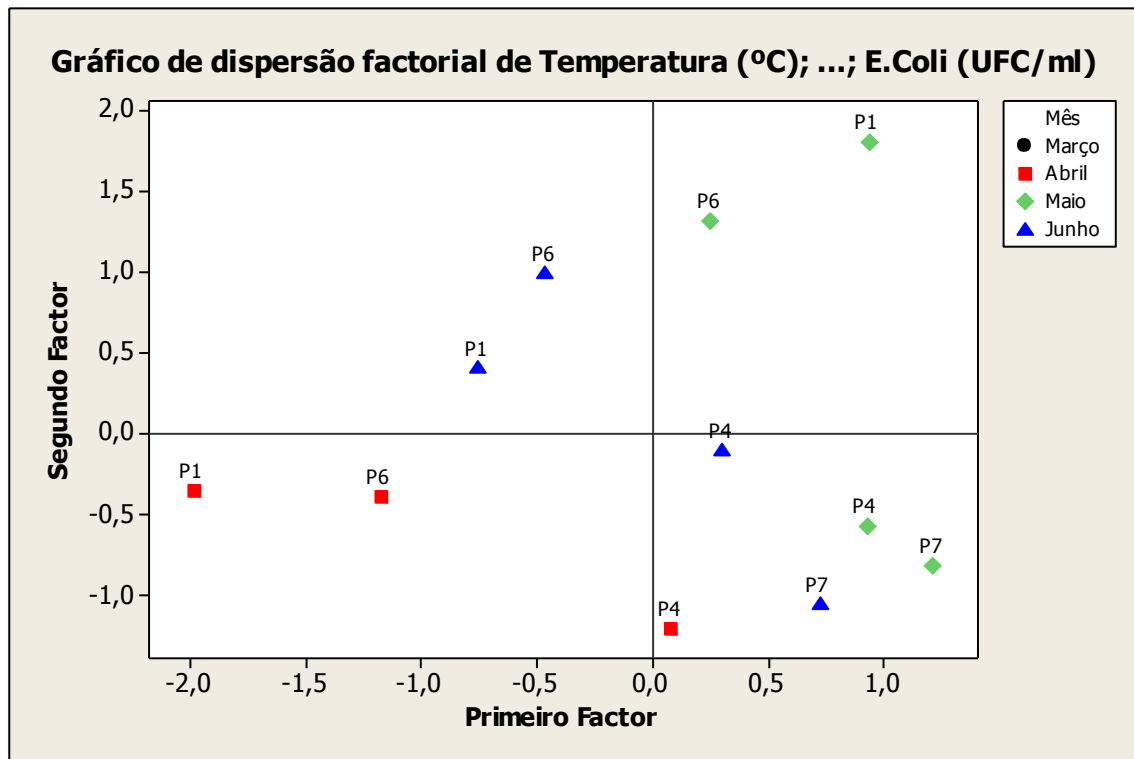


Figura 74- Valores de análise dos factores com os dados agrupados pela data de recolha

Conclusão

Resumo: Neste capítulo apresentam-se as conclusões a tirar sobre a monitorização da Reserva Natural do Paul do Boquilobo

Com o decorrer deste estudo de monitorização da Reserva Natural do Paul do Boquilobo, obtiveram-se resultados que permitiram fazer uma análise dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos das águas dos diversos pontos da Reserva.

O uso de macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores da qualidade da água permitiu conhecer um pouco mais sobre o comportamento desta Reserva. No ano corrente (2014) verificou-se uma maior diversidade de macroinvertebrados em relação aos anos anteriores. Pode-se também comprovar a existência de espécies, características de ambientes lênticos, em ambientes lóticos. No geral, a abundância de indivíduos foi maior nos pontos 1 e 6, tendo registado o seu maior valor em Abril, o que era de esperar visto que é uma das épocas favoráveis à existência destas espécies. As famílias de macroinvertebrados mais representativas dos pontos da Reserva foram Physidae e Chironomidae, sendo organismos tolerantes à poluição. Através do cálculo do índice BMWP', obteve-se classificações para a qualidade da água, obtendo-se uma maioria de classes IV e V, correspondendo a “Crítica” e “Muito Crítica”, respectivamente. Segundo esta classificação, pode-se concluir que as águas do Paul se encontram muito poluídas e com ecossistemas naturais alterados, assim como verificado em anos anteriores.

Em relação aos resultados obtidos nas análises físico-químicas, verificou-se que as águas, à semelhança do comprovado anteriormente, apresentavam grande poluição. Comparativamente com anos anteriores, os resultados não diferiram muito, excepto o caso dos Fosfatos e Nitratos, que foram bastante mais elevados no ano corrente. O parâmetro Oxigénio Dissolvido, no ano corrente, encontrava-se dentro dos valores estabelecidos pelo decreto-lei nº238/98 no que diz respeito a águas doces para fins piscícolas, o que não se verificou em anos anteriores, tal facto pode indicar uma melhoria da qualidade das águas. Os valores de CBO₅ determinados em vários meses e locais ultrapassam o VLE para a descarga de águas residuais, o que compromete a qualidade das águas superficiais da Reserva. Propõem-se como factores explicativos da variação encontrada para a qualidade da água, em primeiro lugar, as características do local e a carga poluente e, em segundo lugar, a sazonalidade.

A Reserva Natural do Paul do Boquilobo representa uma área de grande importância ao nível da fauna, flora e processos naturais, pelo que é necessária uma maior sensibilização

ambiental para que se possa melhorar a qualidade das águas, e assim preservar a biodiversidade e os ecossistemas naturais desta Área Protegida.

Bibliografia/Webgrafia

- Agropecuária, E. B. (2011). *Manual de Procedimentos de amostragem e análise físico-química de água*. Brasil.
- Alba-Tercedor, J. (1996). *Macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas de los ríos*. Almeria: IV SIAGA.
- anpromis. (sd). *Preparação do solo e sementeira*. Obtido em 3 de Outubro de 2014, de Associação Nacional dos Produtores de Milho e Sorgo: <http://www.anpromis.pt/i.-preparacao-do-solo-e-sementeira.html>
- António, N. C. (2009). *Ficha do Sobreiro*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Naturlink: <http://naturlink.sapo.pt/Natureza-e-Ambiente/Fichas-de-Especies/content/Ficha-do-Sobreiro?bl=1>
- Araújo, M. (sd). *Infoescola*. Obtido em 2 de Julho de 2014, de <http://www.infoescola.com/reino-monera/coliformes/>
- Arpin, T. (sd). *Como medir a salinidade pela condutividade elétrica*. Obtido em 15 de Agosto de 2014, de eHow Brasil: http://www.ehow.com.br/medir-salinidade-pela-condutividade-eletrica-como_242489/
- avesdeportugal. (sd). *Paul do Boquilobo*. Obtido em 12 de Agosto de 2014, de [avesdeportugal: http://www.avesdeportugal.info/sitboquilobo.html](http://www.avesdeportugal.info/sitboquilobo.html)
- Azevedo, J. B., Cabral, L. L., Galizes, P. F., Sampaio, R. N., & Mesquita, T. B. (2013). *Monitorização Ambiental da Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Tomar: IPT.
- Baptista, C. (2013). *Manual Prático das Aulas de Bioquímica*. Tomar: Instituto Politécnico de Tomar.
- Barbosa, B. C. (2014). *Bioindicadores*. Obtido em 25 de Agosto de 2014, de InfoEscola: <http://www.infoescola.com/ecologia/bioindicadores/>
- Barbour, M., Gerritsen, J., Snyder, B. D., & Stribling, J. B. (1999). *Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic*

macroinvertebrates and fish. United States: Environmental Protection Agency EPA.

Battafarano, M. (18 de Dezembro de 2000). *CARPA COMUNE - Cyprinus carpio*. Obtido em 19 de Agosto de 2014, de Inseparabile: http://www.inseparabile.com/pesci/carpa_comune.htm

Brasil, A. (2010). *Ambiente Água*. Obtido em 12 de Agosto de 2014, de http://ambientes.ambientebrasil.com.br/agua/artigos_agua_doce/qualidade_da_agua_e_os_bioindicadores.html

Braz, R., & Cruz, M. J. (2009). *Cobra-de-água-viperina, como peixe na água*. Obtido em 19 de Agosto de 2014, de Naturlink: <http://naturlink.sapo.pt/Natureza-e-Ambiente/Fichas-de-Especies/content/Cobra-de-agua-viperina-como-peixe-na-agua?bl=1&viewall=true>

Caldas, A. (sd). *Marrequinha-comum*. Obtido em 18 de Agosto de 2014, de Aves de Portugal: <http://www.avesdeportugal.info/anacre.html>

Campo, B. d. (sd). *Lagostim-vermelho (Procambarus clarkii)*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Borda do Campo: <http://bordadocampo.com/arroz/lagostim-vermelho-procambarus-clarkii/>

Cardoso, A. (2007). *Directiva Quadro da Água*. Obtido em 28 de Agosto de 2014, de Gestão Costeira Integrada: <http://www.aprh.pt/rgci/glossario/DQA.html>

Carreira, P. (01 de 05 de 2001). *Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Obtido em 4 de Agosto de 2014, de torresnovas.no: <http://torresnovas.no.sapo.pt/ReservaPaul.htm>

CEGAT. (2002). *Centro de Estudos de Gestão de Ambiente e do Território*. Edição 1 Revisão 0.

Chang, R. (1994). *Química 5ª edição*. Mc Graw Hill.

CMG. (2011). Obtido em 5 de Agosto de 2014, de Reserva Natural do Paul de Boquilobo: <http://www.guiadacidade.pt/pt/poi-reserva-natural-do-paul-de-boquilobo-16511>

- CMGolegã. (2011). *Reserva Natural do Paúl do Boquilobo*. Obtido em 15 de Agosto de 2014, de Câmara Municipal da Golegã: <http://www.cm-golega.pt/concelho/turismo/item/194-reserva-natural-do-pa%C3%BAI-do-boquilobo>
- Coatfish. (16 de Outubro de 2009). *Quinta da Broa*. Obtido em 11 de Agosto de 2014, de http://www.geocaching.com/geocache/GC1ZVXV_quinta-da-broa?guid=67f7977d-517b-48b5-a04f-07d7aa5449ba
- COPEBRÁS. (sd). Obtido em 13 de Junho de 2014, de http://www.copebras.com.br/our-market/phosphates.aspx?sc_lang=pt-PT
- Costa, H. (2009). *Toirão, o parente selvagem do Furão*. Obtido em 19 de Agosto de 2014, de Naturlink: <http://naturlink.sapo.pt/Natureza-e-Ambiente/Fichas-de-Especies/content/Toirao-o-parente-selvagem-do-Furao?bl=1>
- Cruz, M. J. (2009). *Ficha do Cágado-de-carapaca-estriada*. Obtido em 19 de Agosto de 2014, de Naturlink: <http://naturlink.sapo.pt/Natureza-e-Ambiente/Fichas-de-Especies/content/Ficha-do-Cagado-de-carapaca-estriada?bl=1>
- Curado, N. (2009). *Reserva Natural do Paúl do Boquilobo, uma zona húmida a cuidar no coração de Portugal*. Obtido em 6 de Agosto de 2014, de Naturlink: <http://naturlink.sapo.pt/Natureza-e-Ambiente/Fauna-e-Flora/content/Reserva-Natural-do-Paul-do-Boquilobo-uma-zona-humida-a-cuidar-no-coracao-de-Portugal?bl=1>
- ducks. (22 de Julho de 2013). *Fotografias*. Obtido em 18 de Agosto de 2014, de ducks: <http://www.pt-ducks.com/Fotos.htm>
- ecodepur. (sd). Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Tecnologias de protecção ambiental: <http://www.ecodepur.pt/115/glossario>
- esb. (sd). Obtido em 14 de Agosto de 2014, de Determinação do teor em sólidos totais, suspensos e dissolvidos de uma água: http://www1.esb.ucp.pt/twt5/motor/display_texto.asp?pagina=determinacaotds200309024242463&bd=cec

- Europa. (24 de Março de 2010). *Protecção e gestão da água (Directiva-quadro no domínio da água)*. Obtido em 28 de Agosto de 2014, de europa.eu: http://europa.eu/legislation_summaries/agriculture/environment/l28002b_pt.htm
- Fagar. (sd). Obtido em 20 de Maio de 2014, de http://www.fagar.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=53&Itemid=77
- Ferreiro, N. R. (2007). *Caracterização da Qualidade Ecológica do Rio Tua*. Obtido em 28 de Agosto de 2014, de Faculdade de Ciências- Universidade do Porto: http://www.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t_040370156.pdf
- Godinho, A., Fróis, A., Oliveira, A., Marôco, J., & Lopes, V. (2012). *Cartografia Ecológica e Monitorização Ambiental da Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Tomar: Instituto Politécnico de Tomar.
- Gonçalves, L. (sd). *Pica-pau-galego*. Obtido em 18 de Agosto de 2014, de Aves de Portugal: <http://www.avesdeportugal.info/denmin.html>
- Greenberg, A. E., Clesceri, L. S., & Eaton, A. D. (1992). *Standard Methods*. 18 th edition.
- guiaverde. (2014). *BUTOMUS UMBELLATUS*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Guia Verde: http://guiaverde.com/plant_guide/butomus_umbellatus_1606?id_lang=3
- Hellawell, J. M. (1978). *Biological surveillance of rivers: A biological monitoring handbook*. England: Water Research Center, Stevenage Laboratory, Elder Way, Harts.
- Henriques, J. (2009). *Ficha do Tritão-de-ventre-laranja*. Obtido em 19 de Agosto de 2014, de Naturlink: <http://naturlink.sapo.pt/NaturSAPO/Fichas-de-Anfibios/content/Ficha-do-Tritao-de-ventre-laranja?bl=1&viewall=true>
- Hering, D., Moog, O., Sandin, L., & Verdonschot, P. F. (2004). *Overview and application of the AQUEM assessment system*. United Kingdom.
- Hídricos, S. d. (sd). *Avaliação da Qualidade da Água Através dos Macroinvertebrados Bentônicos - Índice BMWP*. Obtido em 27 de Agosto de 2014, de Secretaria do

- Meio Ambiente e Recursos Hídricos- Paraná, Governo do Estado:
<http://www.meioambiente.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=91>
- ICNF. (sd). Obtido em 12 de Setembro de 2014, de
<http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb/class-carac>
- ICNF. (sd). *Classificação/ Caracterização*. Obtido em 4 de Agosto de 2014, de Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb/class-carac>
- ICNF. (sd). *Fauna*. Obtido em 12 de Agosto de 2014, de Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb/fauna>
- ICNF. (sd). *Flora*. Obtido em 15 de Agosto de 2014, de Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb/flora>
- ICNF. (sd). *Geologia | Hidrologia | Clima*. Obtido em 16 de Agosto de 2014, de Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb/geo>
- ICNF. (sd). *Habitats*. Obtido em 14 de Agosto de 2014, de Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb/habit>
- ICNF. (sd). *História | Cultura*. Obtido em 9 de Agosto de 2014, de Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb/hist-cult>
- ICNF. (sd). *Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Obtido em 4 de Agosto de 2014, de Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb>
- Invasoras. (4 de Fevereiro de 2013). *jacinto-de-água*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Invasoras: <http://invasoras.uc.pt/gallery/eichhornia-crassipes/>
- JN. (14 de Abril de 2011). *Aquário Vasco da Gama liberta 400 ruivacos-do-Oeste no rio Alcabrichel*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Jornal de Notícias:

<http://www.jn.pt/blogs/osbichos/archive/2011/04/14/aqu-225-rio-vasco-da-gama-liberta-400-ruivacos-do-oeste-no-rio-alcabrichel.aspx>

Kiely, G. (1999). *Ingenieria Ambiental*. Madrid: McGraw-Hill.

LookForDiagnosis. (Abril de 2009). *Salix*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de LookForDiagnosis:

http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Salix&lang=3

Lopes, L. (sd). *CANIÇO*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Biorede: <http://www.biorede.pt/page.asp?id=598>

Lopes, L. (sd). *LÍRIO-AMARELO-DOS-PÂNTANOS*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Biorede: <http://www.biorede.pt/page.asp?id=603>

meioambiente. (sd). Obtido em 27 de Agosto de 2014, de Web site de Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos- Paraná, Governo do Estado: <http://www.meioambiente.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=91>

Mira, A. (2012). *O rio Almonda e a Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Obtido em 5 de Agosto de 2014, de Jovens Repórteres para o Ambiente: <http://www.abae.pt/programa/JRA/concursos/2012/index.php?p=artigo&l=ptg&id=548>

Morais, A., Ferreira, C., Hilário, P., & Oliveira, S. (2011). *Contribuição para a análise ambiental da Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Tomar: Instituto Politécnico de Tomar.

Morais, A., Ferreira, C., Hilário, P., & Oliveira, S. (2011). *Contribuição para a análise ambiental da Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Instituto Politécnico de Tomar.

MVBio. (sd). *Garça-boieira*. Obtido em 17 de Agosto de 2014, de Museu Virtual da Biodiversidade: <http://www.museubiodiversidade.uevora.pt/content/view/line/561>

MVBio. (sd). *Papa-ratos*. Obtido em 17 de Agosto de 2014, de Museu Virtual da Biodiversidade: <http://www.museubiodiversidade.uevora.pt/content/search>

- Nunes, A. (sd). *Typha domingensis*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de biodiversidade-somincor: <http://biodiversidade-somincor.pt/web/index.php/pt/grupos/9-lista-de-especies/130-typha-dominguensis>
- Padilha, C. F., Leitzke, F. L., Silva, J. M., & Scremin, L. B. (2010). *Determinação de Fosfatos em Água*. Brasil: Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- Parron, L. M., Muniz, D. H., & Pereira, C. M. (2011). *Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água*. Brasil: Embrapa Florestas Colombo.
- Passos, P. (2008). *Galeria de Fotos*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Web site de Observatório da Bio/Geodiversidade Independente de Mafra: <http://www.obimafra.com/galeria/bosques?page=1>
- Planetazul. (21 de Outubro de 2009). *Reserva Natural do Paul de Boquilobo*. Obtido em 7 de Agosto de 2014, de Planetazul: <http://www.planetazul.pt/edicoes1/planetazul/desenvArtigo.aspx?a=15956&c=2502&r=37>
- Portal da Educação*. (10 de Agosto de 2012). Obtido em 2 de Julho de 2014, de <http://www.portaleducacao.com.br/biologia/artigos/15543/microbiologia-aquatica#ixzz3AwntV4I9>
- Portal da Educação*. (6 de Março de 2013). Obtido em 14 de Junho de 2014, de <http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/37277/metodos-eletoquimicos-de-analise-quantitativa>
- Prantera, M. T., & Bussons, M. (2009). *Bioindicadores de qualidade da água*. Obtido em 25 de Agosto de 2014, de Web site de publicacoes.unigranrio: <http://publicacoes.unigranrio.br/index.php/sare/article/view/676>
- Programa Água Azul*. (sd de sd de sd). Obtido em 13 de Junho de 2014, de http://www.programaaguaazul.rn.gov.br/indicadores_03.php
- programaaguaazul*. (sd de sd de sd). Obtido em 16 de Agosto de 2014, de Programa Água Azul: http://www.programaaguaazul.rn.gov.br/indicadores_03.php

- Queiroz, J. F., Silva, M. S., & Trivinho-Strixino, S. (2008). *cnpma*. Obtido em 25 de Agosto de 2014, de Organismos Bentônicos: Biomonitoramento de Qualidade de Águas: <http://www.cnpma.embrapa.br/download/LivroBentonicos.pdf>
- Ramos, S. (sd). Obtido em 26 de Agosto de 2014, de Web site de Instituto Ambiental do Paraná:
http://www.iap.pr.gov.br/arquivos/File/Pesquisa%20em%20UCs/resultados%20de%20pesquisa/Sandra_M_Ramos.pdf
- Resh, V., Norris, R., & Barbour, M. (1995). *Design and implementation of rapid assessment approaches for water resource monitoring using benthic macroinvertebrates*. Oxford: Australian journal of ecology.
- Ribeiro, J. T. (2009). *Ficha da Rã-ibérica*. Obtido em 19 de Agosto de 2014, de Web site de Naturlink: <http://naturlink.sapo.pt/NaturSAPO/Fichas-de-Anfibios/content/Ficha-da-Ra-iberica?bl=1&viewall=true>
- Roldán, & Álvarez. (2006). Obtido em 25 de Agosto de 2014, de Web site de scielo.org: <http://www.scielo.org.co/img/revistas/eia/n9/n9a10tab2.gif>
- Rubino, C. A. (sd). *eHow*. Obtido em 15 de Junho de 2014, de O que fazer quando há níveis altos de nitratos na água?: http://www.ehow.com.br/niveis-altos-nitrato-agua-potavel-info_154969/
- Sawyer, C. N. (1994). *Chemistry for environmental engineering*. Singapore: McGraw-Hill International Editions.
- Serra, S., Coimbra, N., & Graça, M. (2009). *Invertebrados de água doce- Chave de identificação das principais famílias*. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra.
- Silva, C. M. (27 de Maio de 2012). *Scrophularia scorodonia Linnaeus*. Obtido em 20 de Agosto de 2014, de Web site de Naturdata: <http://naturdata.com/Scrophularia-scorodonia-19564.htm>
- Simões, D. (sd). *Águia-pesqueira*. Obtido em 18 de Agosto de 2014, de Web site de Aves de Portugal: <http://www.avesdeportugal.info/panhal.html>

Simões, D. (sd). *Peneireiro-vulgar*. Obtido em 18 de Agosto de 2014, de Web site de Aves de Portugal: <http://www.avesdeportugal.info/faltin.html>

Sobiologia. (sd). Obtido em 20 de Maio de 2014, de Sobiologia: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Agua/>

Sousa, E. R. (2001). *Noções sobre a qualidade da água*. Lisboa.

Sousa, E. R. (2010). *NOÇÕES SOBRE QUALIDADE DA ÁGUA*. Lisboa.

Tachet, H., Bournand, M., & Richoux, P. (1980). *Introduction à L'étude des macroinvertébrés des eaux douces (Systématique élémentaire et aperçu écologique)*. Associaton Française de Limnologie.

Vartiana, J. (sd). *La fauna de la Grevolosa*. Obtido em 19 de Agosto de 2014, de Web site de La Grevolosa: <http://www.nitium.com/fageda-grevolosa/biodiversitat-fauna.html#geneta>

Viana, J. (sd). *Zarro-comum*. Obtido em 18 de Agosto de 2014, de Web site de Aves de Portugal: <http://www.avesdeportugal.info/aytfer.html>

Anexo A

Bioindicadores

Tabela do Anexo A 1- Dados de abundância relativa das famílias de macroinvertebrados utilizados para elaborar o gráfico da figura 51

Espécie	Número	%
Physidae	320	34,56
Chironomidae	270	29,16
Simuliidae	215	23,22
Ephemeroptera	7	0,76
Viviparidae	2	0,22
Lumbricidae	12	1,30
Tubificidae	5	0,54
Hydraenidae	2	0,22
Thaumaleidae	67	7,24
Glossiphoniidae	8	0,86
Noteridae	2	0,22
Piscicodidae	1	0,11
Chaoboridae	1	0,11
Dixidae	2	0,22
Ceratopogonidae	11	1,19
Culicidae	1	0,11

926

100

Tabela do Anexo A 2- Pontos atribuídos às diferentes famílias de macroinvertebrados aquáticos para a obtenção do Índice BMWP' (Roldán & Álvarez, 2006)

Famílias				Pontos
Anomalopsychidae, Atriplectididae, Blephariceridae,	Ptilodactylidae, Chordodidae, Gripopterygidae	Lampyridae, Odontoceridae, Perlidae	Polymitarcyidae, Polythoridae, Psephenidae	10
Coryphoridae, Ephemeridae, Euthyplociidae,	Gomphidae, Hydrobiosidae, Leptophlebiidae	Limnephilidae, Oligoneuriidae, Philopotamidae	Platystictidae, Polycentropodidae, Xiphocentronidae	9
Atyidae, Calamoceratidae, Hebridae, Helicopsychidae, Hydraenidae,	Hydroptilidae, Leptoceridae, Limnephilidae, Lymnaeidae, Naucoridae	Palaemonidae, Planorbidae (cuando es dominante Biomphalaria)	Pseudothelpusidae, Saldidae, Sialidae, Sphaeriidae	8
Ancylidae, Baetidae, Calopterygidae, Coenagrionidae,	Dicteriadidae, Dixidae, Glossosomatidae, Hyalellidae	Hydrobiidae, Hydropsychidae, Leptohyphidae, Lestidae	Pyralidae, Simuliidae, Veliidae	7
Aeshnidae, Ampullariidae, Caenidae, Corydalidae,	Dryopidae, Dugesiidae, Elmidae, Hyriidae	Limnichidae, Lutrochidae, Megapodagrionidae	Mycetopodidae, Pleidae, Staphylinidae	6
Ceratopogonidae, Corixidae, Gelastocoridae,	Glossiphoniidae, Gyrinidae, Libellulidae	Mesoveliidae, Nepidae, Notonectidae	Tabanidae, Thiaridae	5
Belostomatidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Ephydriidae,	Haliplidae, Hydriidae, Muscidae	Scirtidae, Empididae, Dolichopodidae	Hydrometridae, Noteridae. Sciomyzidae	4
Chaoboridae, Cyclobdellidae,	Hydrophilidae (larvas)	Physidae, Stratiomyidae	Tipulidae	3
Chironomidae (cuando no es la familia dominante, si domina es 1)		Culicidae, Psychodidae	Syrphidae	2
Tubificidae				1

Anexo B

Análises Físico-Químicas e Microbiológicas

Procedimentos Experimentais

Determinação dos Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais

MATERIAL UTILIZADO

- Estufa;
- Exsicador;
- Bomba de Vácuo;
- Balança Analítica SCALTEC SBC31;
- Kitasato;
- Filtro Standard de Fibra de Vidro;
- Funil;
- Material de Vidro Corrente.

TÉCNICA (Baptista, 2013)

- a) Preparação do Filtro para a filtração
 1. Secar o filtro na estufa a 103-105°C;
 2. Pesar o filtro na balança analítica.

- b) Preparação da cápsula do vidro de relógio
 1. Secar a cápsula na estufa a 180°C;
 2. Secar um vidro de relógio numa estufa a 103-105°C durante 1h;
 3. Arrefecer os recipientes num exsicador e pesá-los na balança analítica imediatamente antes de usar.

- c) Análise da Amostra
1. Colocar o filtro no funil com a face rugosa para cima;
 2. Pipetar 100mL de amostra homogeneizada para dentro do funil, aplicando vácuo;
 3. Lavar sucessivamente com 3 porções de 10mL de água destilada, deixando drenar a água completamente entre cada lavagem;
 4. Transferir todo o volume filtrado (incluindo as águas de lavagem) para a cápsula e evaporar até à secura num banho termostaticado. Se o volume exceder a capacidade da cápsula, fazer adições sucessivas;
 5. Secar, pelo menos, durante 1h na estufa a 180°C;
 6. Arrefecer num exsiccador e pesar;
 7. Repetir o ciclo de pesagem, arrefecimento e pesagem da cápsula até se atingir massa constante;
 8. Transferir o filtro de fibra de vidro para um vidro de relógio e secar na estufa a 103-105°C durante 1h;
 9. Arrefecer o filtro no exsiccador e pesar;
 10. Repetir o ciclo de secagem, arrefecimento e pesagem de filtro até se atingir massa constante.

CÁLCULO

- SDT

Sólidos dissolvidos totais

$$= \frac{[(\text{massa do resíduo seco} + \text{cápsula}) - (\text{massa da cápsula})] \times 1000}{\text{Volume da amostra}}$$

Onde:

- Massa do resíduo seco+ Cápsula (mg)
- Massa da cápsula (mg)
- Volume da Amostra (mL)
- Sólidos dissolvidos totais (mg/L)

- SST

Sólidos suspensos totais

$$= \frac{[(\text{massa do resíduo seco} + \text{papel de filtro}) - (\text{massa do papel de filtro vazio})] \times 1000}{\text{Volume da amostra}}$$

Onde:

- Massa do resíduo + Papel de Filtro (mg)
- Massa do papel de filtro vazio (mg)
- Volume da Amostra (mL)
- Sólidos suspensos totais (mg/L)

EXEMPLO DE CÁLCULO

Recolha 1 – Limnígrafo

Sólidos suspensos totais

$$= \frac{[(\text{massa do resíduo seco} + \text{papel de filtro}) - (\text{massa do papel de filtro vazio})] \times 1000}{\text{Volume da amostra}}$$

$$\begin{aligned} \text{Sólidos suspensos totais} &= \frac{[(0,1218 \times 1000) - (0,1210 \times 1000)] \times 1000}{100} \\ &= 8 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Recolha 1 - Limnígrafo

Sólidos dissolvidos totais

$$= \frac{[(\text{massa do resíduo seco} + \text{cápsula}) - (\text{massa da cápsula})] \times 1000}{\text{Volume da amostra}}$$

$$\begin{aligned} \text{Sólidos dissolvidos totais} &= \frac{[(74,2451 \times 1000) - (74,2127 \times 1000)] \times 1000}{100} \\ &= 324 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

DETERMINAÇÃO DO OXIGÊNIO DISSOLVIDO (MÉTODO DE WINKLER MODIFICADO PELA AZIDA DE SÓDIO)

REAGENTES

- Sulfato de Manganês;
- Iodeto Alcalino com Azida de Sódio;
- Solução de Amido;
- Ácido Sulfúrico Concentrado;
- Tiosulfato de Sódio 0,025N.

MATERIAL UTILIZADO

- Material de vidro corrente;
- Frascos de Winkler.

TÉCNICA (Baptista, 2013)

A) Método de Winkler

1. Encher totalmente um frasco de Winkler com a água a analisar e tapá-lo;
2. Juntar 1mL de solução de sulfato de manganês, introduzindo a pipeta quase até ao fundo do frasco;
3. Juntar 1mL do reagente álcali-iodeto-azida, introduzindo a pipeta quase até ao fundo do frasco;
4. Expulsar as bolhas de ar contidas no frasco;
5. Tapar e inverter o frasco várias vezes para homogeneizar;
6. Deixar sedimentar o precipitado até, pelo menos, este se encontrar na metade inferior do frasco;

7. Juntar 1mL de ácido sulfúrico concentrado;
8. Tapar e agitar como anteriormente, até à dissolução completa do precipitado;
9. Verter todo o conteúdo do frasco de Winkler para dentro de um erlenmayer de 500mL;
10. Titular com tiosulfato de sódio 0,025 M até coloração amarelo-palha;
11. Juntar algumas gotas de cozimento de amido;
12. Continuar a titulação até desaparecimento da cor azul.

B) Aferição da solução de tiosulfato de sódio 0,025 N

Esta solução é titulada diariamente com uma solução padrão de dicromato de potássio 0,025N, do seguinte modo:

1. Dissolver aproximadamente 2g de iodeto de potássio isento de iodato em 100-150mL de água destilada num erlenmayer de 500mL;
2. Adicionar 10mL de solução de ácido sulfúrico de 10%;
3. Adicionar com uma pipeta 20mL da solução padrão de dicromato de potássio;
4. Agitar e colocar 5 minutos ao abrigo da luz;
5. Diluir aproximadamente para 400mL e titular com tiosulfato de sódio 0,025N até ao amarelo-palha;
6. Juntar 2 a 4mL de cozimento de amido;
7. Continuar a adição de tiosulfato de sódio até ao desaparecimento da cor azul.

Nota: o volume de água a analisada corresponde ao volume do frasco de Winkler menos 2mL (correspondente à adição dos 2 reagentes iniciais).

CÁLCULOS

Tiosulfato de Sódio

$$= \frac{[\text{Dicromato de Potássio}] \times \text{Volume de Dicromato de Potássio}}{\text{Volume Gasto na Aferição}}$$

$$OD = \frac{[\text{Tiosulfato de Sódio}] \times \text{Volume Gasto na Titulação} \times 8000}{\text{Volume da Amostra}}$$

EXEMPLO DE CÁLCULO

Recolha 1- Limnígrafo

Tiosulfato de Sódio

$$= \frac{[\text{Dicromato de Potássio}] \times \text{Volume de Dicromato de Potássio}}{\text{Volume Gasto na Aferição}}$$

$$\text{Tiosulfato de Sódio} = \frac{[0,025] \times 20}{19,7} = 0,025$$

$$OD = \frac{[\text{Tiosulfato de Sódio}] \times \text{Volume Gasto na Titulação} \times 8000}{\text{Volume da Amostra}}$$

$$OD = \frac{[0,025] \times 17,70 \times 8000}{295,80 - 2} = 12,23 \text{ mg } O_2/L$$

DETERMINAÇÃO DA CARÊNCIA QUÍMICA DE OXIGÊNIO

REAGENTES (Baptista, 2013)

- **Solução padrão de dicromato de potássio 0,250N:** Dissolver 12,259g de $K_2Cr_2O_7$ pró-análise, previamente seco a $103^\circ C$ durante 2 horas, em água destilada e diluir para 1000mL.
- **Reagente de ácido sulfúrico:** Solução comercializada, com 10g de Ag_2SO_4 em 1000mL de H_2SO_4 concentrado ($d=1,84$).
- **Solução padrão de sulfato ferroso amoniacal 0,125N:** Dissolver 49,02g de sulfato de ferro (II) e amônio hexa-hidratado [$Fe (NH_4)_2 (SO_4)_2 \cdot 6H_2O$], em cerca de 100mL de água destilada. Adicionar cautelosamente 20mL de H_2SO_4 concentrado, arrefecer e diluir para 1000mL com água destilada. Esta solução deve ser titulada diariamente com uma solução padrão de dicromato de potássio 0,25N do seguinte modo:
 - Diluir 10mL de solução padrão de $K_2Cr_2O_7$ até 100mL com água destilada. Adicionar 30mL de H_2SO_4 concentrado. Adicionar 2 a 3 gotas de solução indicadora de ferroína e titular com a solução de sulfato ferroso amoniacal;
 - A concentração desta solução é calculada por:

$$N_{red.} = \frac{(V_{ox.} \times 0,25)}{V_{red.}}$$

- **Solução indicadora de ferroína:** Dissolver 1,60g de 1,10-o-fenantrolina mono-hidratada e 625mg de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ em água destilada e diluir para 100mL.
- **Sulfato de mercúrio:** Sólido cristalino.
- **Solução padrão de referência de hidrogenoftalato de potássio:** Dissolver 425mg deste composto, previamente seco a $120^\circ C$ durante 2 horas, em água destilada e diluir para 1000mL. Este padrão deve ser guardado do frigorífico a $4^\circ C$ e deve ser renovado trimestralmente. Esta solução tem um CQO teórico de $500 \mu gO_2/mL$.

MATERIAL UTILIZADO

- Material de vidro corrente;
- Balança Técnica METTLER TOLEDO SB 16002;
- Tubo cilíndrico adaptável ao Termo-Reactor;
- Termo-Reactor VELP-ECO6.

TÉCNICA

A. Digestão

Os reagentes devem ser sempre medidos com pipetas volumétricas e devem ser introduzidos nos tubos do reactor pela ordem seguinte:

1. Sulfato de Mercúrio- 400mg;
2. Dicromato de Potássio 0,25N- 10mL;
3. Reagente de Ácido Sulfúrico- 30mL;
4. Amostra- 20mL.

Pode haver a formação de um precipitado após a adição dos reagentes, o que não irá interferir com os resultados.

Assim que estiverem no tubo todos os reagentes devem adicionar-se 5 ou 6 pérolas de vidro e deve colocar-se no condensador.

Preparar um ensaio em branco, substituindo a amostra por 20mL de água destilada. Colocar as pérolas de vidro e o condensador. Este tubo pode apresentar uma ebulição bastante violenta.

Ligar e programar o termo-reactor para 150°C durante 120 minutos, findos os quais se deixa arrefecer a amostra, antes da titulação, durante 3 ou 4 minutos.

B. Titulação

Transferir o conteúdo do tubo para um erlenmayer de colo largo e lavar o tubo 3 a 4 vezes com cerca de 15mL de água destilada. Adicionar as águas de lavagem ao erlenmayer.

Deixar arrefecer e juntar 5 a 6 gotas de ferroína. Titular o excesso de dicromato de potássio com a solução aferida de sulfato ferroso amoniacal 0,125N. o ponto de viragem é indicado pela mudança da cor verde para castanho arroxeadado.

C. Aferição da solução de sulfato ferroso amoniacal 0,25N

Esta solução é titulada diariamente com uma solução padrão de dicromato de potássio 0,25N, do seguinte modo:

Diluir 10mL de solução padrão de dicromato de potássio até cerca de 100mL com água destilada. Adicionar 30mL de ácido sulfúrico concentrado e arrefecer. Adicionar 2 a 3 gotas de solução indicadora de ferroína e titular com a solução de sulfato ferroso amoniacal a aferir.

A normalidade desta solução é dada por:

$$N = \frac{V \times 0,25}{V1}$$

Onde V= volume em mL de dicromato de potássio

V1= volume em mL de sulfato ferroso amoniacal

CÁLCULOS

O valor de CQO (em mg O₂/L) é obtido através da expressão:

$$CQO = \frac{(B-A) \times 8000 \times N}{V}, \text{ Onde}$$

A= volume do titulante usado no ensaio da amostra, mL

B=volume de titulante usado no ensaio em branco, mL

N= normalidade da solução de titulante

V= volume da amostra, mL

Nota: para cada 10mg de ião cloreto é necessário adicionar 100mg de sulfato de mercúrio. Se a amostra apresentar uma concentração elevada de cloretos, é necessário aumentar a quantidade de sulfato de mercúrio, mantendo a proporção de 10:1. Geralmente o CQO perde a exactidão em amostras contendo mais do que 2000mg/L de cloretos.

EXEMPLO DE CÁLCULO

Recolha 1- Limnígrafo

$$N = \frac{V \times 0,25}{V_1}$$

$$N = \frac{10 \times 0,25}{21,4} = 0,12$$

$$CQO = \frac{[(B - A) \times 8000 \times N]}{V}$$

$$CQO = \frac{[(20,8 - 20,45) \times 8000 \times 0,12]}{20} = 16,36 \text{ mg/L}$$

DETERMINAÇÃO DA CARÊNCIA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO

REAGENTES

- Sulfato de Manganês;
- Sulfato de Magnésio;
- Cloreto de Cálcio;
- Cloreto de Ferro;
- Iodeto Alcalino com Azida de Sódio;
- Solução Tampão Fosfato;
- Solução de Amido;
- Ácido Sulfúrico Concentrado;
- Tiosulfato de Sódio 0,025M;
- Hidróxido de Sódio.

MATERIAL UTILIZADO

- Material de vidro corrente;
- Micro Ph 2000, Crison;
- Frascos de Winkler transparentes;
- Frascos de Winkler opacos.

TÉCNICA (Baptista, 2013)

1. Preparação da água de diluição

Medir 4 litros de água destilada para um recipiente de volume ligeiramente superior e arejá-la utilizando um compressor ou sistema de ar comprimido até esta se encontrar quase saturada. Para cada litro de água adicionar 1mL das seguintes soluções: tampão fosfato, sulfato de magnésio, cloreto de cálcio e cloreto de ferro (descritas no standard methods p.

5-3 ponto 3). Saturar com oxigénio por incorporação de ar sob pressão. Acertar o pH da água de diluição com tampão fosfato, atendendo ao pH deste.

2. Preparação de amostras diluídas

As diluições efectuadas no ano corrente foram as mesmas utilizadas em anos anteriores. As diluições podem preparar-se em provetas graduadas transferindo posteriormente as águas para 2 frascos de Winkler, ou então podem preparar-se directamente nos frascos de Winkler.

- a) Transferir, evitando a entrada de ar, a água de diluição até aproximadamente metade da capacidade da proveta;
- b) Juntar a quantidade calculada (tendo em conta a diluição escolhida) de água a analisar;
- c) Diluir até ao nível apropriado com a água de diluição arejada;
- d) Tapar a proveta e agitar bem;
- e) Transferir a mistura obtida para 2 frascos de Winkler;
- f) Determinar o oxigénio dissolvido num dos frascos (OD_i);
- g) Incubar o outro frasco de Winkler durante 5 dias a 20°C.

3. Determinação do OD_i

4. Incubação do frasco para determinação posterior de OD_f

Utilizar o método de Winkler com modificação pela azida de sódio.

5. Controlo de água de diluição

Deve fazer-se um branco da água de diluição para testar a sua qualidade e a limpeza dos frascos de Winkler. O ensaio realiza-se do seguinte modo:

- a) Preparam-se com a água de diluição remanescente 2 frascos de Winkler;
- b) Determina-se o OD_i de um deles e deve levar-se o outro a incubar, de modo igual ao descrito para a amostra;
- c) Após o período de incubação determina-se o OD_f ;

d) O diferencial de OD não deve ultrapassar 0,2mg/L.

CÁLCULOS

$$\begin{aligned} & [\text{Tiosulfato de Sódio}] \\ &= \frac{[\text{Dicromato de Potássio}] \times \text{Volume de Dicromato de Potássio}}{\text{Volume Gasto na Aferição}} \end{aligned}$$

$$OD_i = \frac{[\text{Tiosulfato de Sódio}]_{\text{inicial}} \times \text{Volume Gasto na Titulação} \times 8000}{\text{Volume da Amostra}}$$

$$OD_f = \frac{[\text{Tiosulfato de Sódio}]_{\text{final}} \times \text{Volume Gasto na Titulação} \times 8000}{\text{Volume da Amostra}}$$

$$CBO_5 = \frac{OD_i - OD_f}{\text{Diluição}}$$

EXEMPLO DE CÁLCULO

Recolha 1- Limnígrafo (1º ensaio)

$$\begin{aligned} & [\text{Tiosulfato de Sódio}] \\ &= \frac{[\text{Dicromato de Potássio}] \times \text{Volume de Dicromato de Potássio}}{\text{Volume Gasto na Aferição}} \end{aligned}$$

$$[\text{Tiosulfato de Sódio}] = \frac{[0,025] \times 20}{19,7} = 0,025 \text{ N}$$

$$OD_i = \frac{[\text{Tiosulfato de Sódio}]_{\text{inicial}} \times \text{Volume Gasto na Titulação} \times 8000}{\text{Volume da Amostra}}$$

$$OD_i = \frac{0,025 \times 12,2 \times 8000}{295,6 - 2} = 8,44 \text{ mg } O_2/L$$

$$OD_f = \frac{[\text{Tiosulfato de Sódio}]_{\text{final}} \times \text{Volume Gasto na Titulação} \times 8000}{\text{Volume da Amostra}}$$

$$OD_f = \frac{0,025 \times 9,5 \times 8000}{275,78} = 7,05 \text{ mg } O_2/L$$

$$CBO_5 = \frac{8,44 - 7,05}{0,017} = 81,18 \text{ mg } O_2/L$$

O valor de CBO_5 aqui calculado corresponde apenas ao primeiro ensaio, tendo-se efectuada também os cálculos para o segundo ensaio. O valor apresentado no gráfico (CBO_5) referido anteriormente, corresponde à média dos dois ensaios.

DETERMINAÇÃO DO pH

O aparelho de pH deve ser calibrado de acordo com o manual de instruções para que toda a informação dada por este seja fidedigna e não contenha erros.

TÉCNICA (Baptista, 2013)

1. Lavar o eléctrodo com água destilada, com a ajuda de um esguicho passando posteriormente um papel absorvente;
2. Mergulhar o eléctrodo na solução tampão de referência com valor de pH 4,0. Aguardar e verificar o resultado. Caso o valor registado pelo aparelho seja diferente

- do esperado para a solução tampão referência, deve fazer-se o ajuste no botão de calibração;
3. Retirar a solução tampão e lavar novamente o eléctrodo com água destilada e secá-lo com papel absorvente;
 4. Voltar a mergulhar o eléctrodo numa segunda solução tampão de referência pH 7,0 e aguardar a verificação de valor de pH registado. Se necessário, ajustar no botão de calibração;
 5. Validando os valores, voltar a lavar o eléctrodo com água destilada e secá-la com papel absorvente;
 6. A medição do pH da solução deve ser realizada logo depois da última lavagem do eléctrodo após a calibração, mergulhando o eléctrodo na amostra e carregando na tecla do aparelho que corresponde ao início da leitura.

CONDUTIVIDADE

TÉCNICA (Baptista, 2013)

1. Calibrar o aparelho, Micro CM 2220, Crison, com a solução standard de cloreto de potássio (KCl) à temperatura ambiente;
2. Colocar a amostra da água à temperatura ambiente num copo e em seguida mergulhar o eléctrodo no recipiente;
3. Fazer a medição e registar o valor obtido.

DETERMINAÇÃO DOS FOSFATOS

MATERIAL

- Espectrofotómetro – as leituras são efectuadas a 880 nm em células de 1 cm.
- Autoclave.

REAGENTES (CEGAT, 2002)

- Solução aquosa de indicador de fenolftaleína
 - Dissolver 80 mg de fenolftaleína em 100 mL de metanol
- Solução de Ácido Sulfúrico a 5,4 mol/L
 - Adicionar cuidadosamente 300 mL de ácido H₂SO₄ concentrado a 600 mL de água destilada e dilua até 1 L com água destilada;
- Persulfato de Amônio, (NH₄)₂S₂O₈ sólido
- Hidróxido de Sódio, NaOH, 1 mol/L
 - Dissolva 40 g de NaOH em 1 L de água destilada;
- Ácido Sulfúrico, H₂SO₄ a 5N
 - Diluir 70 mL de ácido concentrado em 500 mL de água destilada;
- Solução de Tartarato de Potássio e Antimônio
 - Dissolver 1,3715 g de K(SbO)C₄H₄O₆. ½ H₂O em 400 mL de água destilada e transferir para um balão de 500 mL e completar o volume.

Armazenar num frasco com rolha de vidro.

- Solução de molibdato de amônio
 - Dissolver 20 g de (NH₄)₆Mo₇O₂₄. 4H₂O em 500 mL de água destilada;

Armazenar num frasco com rolha de vidro

- Ácido Ascórbico, 0,1 mol/L
 - Dissolver 1,76 g de ácido ascórbico em 100 mL de água destilada;
 - Esta solução é estável durante cerca de uma semana a 4°C.
- Reagente combinado
 - Misturar os reagentes acima nas seguintes proporções para 200 mL de reagente combinado: 100 mL de H₂SO₄ a 5N, 10 mL de solução tartarato de potássio e antimônio, 30 mL de solução de molibdato de amônio e 60 mL de solução de ácido ascórbico;

Atenção: misturar a seguir à adição de cada reagente. Deixar todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes de serem misturados e adicioná-los na ordem dada. Caso se

forme turvação no reagente combinado, agitar e deixar repousar durante uns minutos até a turvação desaparecer e só depois prosseguir.

Este reagente é estável por 4h.

- Solução padrão de fosfatos a 50 mg/L
 - Pipetar $10 \pm 0,02$ mL da solução-padrão de fosfatos e transfira para um balão de $200 \pm 0,15$ mL e complete com água destilada;

PREPARAÇÃO DOS PADRÕES E DAS AMOSTRAS

Pipetar $50 \pm 0,05$ mL de padrão/amostra bem agitada para frascos de Schott adicionar 0,05 mL (1 gota) de indicador fenolftaleína. Se se desenvolver uma cor vermelha, adicionar gota a gota solução de H_2SO_4 5,4 mol/L até a cor desaparecer.

Adicionar $1 \pm 0,007$ mL de solução de H_2SO_4 e 0,4 g de $(NH_4)_2S_2O_8$ sólido.

Levar à autoclave durante 30 minutos à temperatura de $120^\circ C$. Deixar arrefecer, adicione 0,05 mL (1 gota) de indicador fenolftaleína e neutralize com NaOH até se atingir uma cor de rosa ténue. Dilua até $100 \pm 0,1$ mL com AD.

Em alguns casos poder-se-á formar um precipitado, mas não se deve filtrá-lo. Para qualquer subdivisão da amostra, agite bem. O precipitado (possivelmente de fosfato de cálcio) redissolve nas condições ácidas do método do ácido ascórbico.

Os padrões também são submetidos à digestão.

Determinação

Para um erlenmayer pipetar $50 \pm 0,05$ mL da amostra. Adicionar 0,05 mL (1 gota) de indicador de fenolftaleína. Se se desenvolver cor vermelha, adicionar H_2SO_4 a 5N gota a gota até a cor desaparecer. Adicionar $8,0 \pm 0,02$ mL de reagente combinado e misture bem. Depois de pelo menos 10 minutos, mas não mais de 30 minutos, meça a absorvância de cada padrão/amostra a 880 nm, utilizando o branco como a solução de referência.

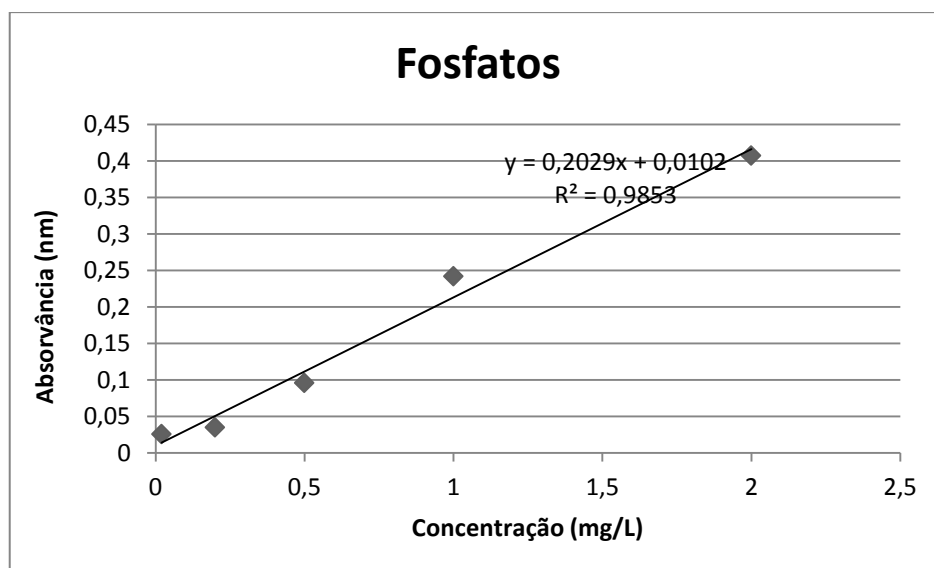
APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS

Os resultados devem ser apresentados em mg/L e de acordo com o intervalo de confiança determinado a 95% de confiança.

EXEMPLO DE CÁLCULO

Recta de Calibração:

Concentração (mg/L)	Absorvância (nm)
0,02	0,026
0,2	0,035
0,5	0,096
1	0,242
2	0,407



Recolha 1- Linnígrafo

Ponto	Absorvância
1	0,0125

Equação da recta:	$Y=0,2029x+0,0102$
-------------------	--------------------

$$Fosfatos = \frac{0,0125 - 0,0102}{0,2029} = 0,011 \text{ mg/L}$$

DETERMINAÇÃO DOS NITRATOS

MATERIAL

- Espectrofotómetro- as leituras são efectuadas a 324 nm em células de 1 cm.

REAGENTES (CEGAT, 2002)

Durante a análise todos os reagentes devem ser de qualidade analítica reconhecida e a água deve ser destilada ou de pureza equivalente.

- Ácido acético glacial, CH_3COOH , $\rho = 1,05 \text{ g/mL}$
- Solução de 2,6-dimetilfenol, $[(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{OH}]$ a 1,2 g/L
 - Dissolve-se $1,2 \pm 0,1 \text{ g}$ de 2,6-dimetilfenol em $1000 \text{ mL} \pm 10 \text{ mL}$ de ácido acético glacial. Esta solução é estável durante 1 semana e deve ser conservada em frasco de vidro;
- Mistura ácida

Atenção: quando da utilização desta mistura ácida, é indispensável dispor de uma protecção ocular, luvas e de roupas de protecção.

 - Misturam-se com precaução $1000 \pm 10 \text{ mL}$ de ácido sulfúrico (H_2SO_4) ($\rho = 1,84 \text{ g/mL}$) e $1000 \pm 10 \text{ mL}$ de ácido ortofosfórico (H_3PO_4) ($\rho = 1,71 \text{ g/mL}$) num copo de precipitação de 3000 mL. Adiciona-se $0,080 \pm 0,010 \text{ g}$ de ácido amidossulfónico ($\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$) e dissolve-se (este ácido é pouco solúvel, sendo por isso recomendável que se prepare a mistura na véspera da sua utilização e se deixe sob agitação durante a noite).

Esta solução é indefinidamente estável e deve ser conservada em frasco de vidro rolhado.

- Solução padrão de nitrato, 100 mg/L
 - Para balão volumétrico, de 500 mL medem-se, com uma pipeta, 50 mL da solução-padrão de nitrato de 1000 mg/L. Perfaz-se o volume com água até ao traço e homogeneiza-se.

A solução deve ser conservada em frasco de vidro por um período não superior a 2 meses.

TÉCNICA

- **Curva de Calibração**
 - a) **Preparação das soluções-padrão**

Padrão (mg/L)	Solução de partida (mg/L)	Volume de Solução de partida (mL)	Volume dos balões (mL)
0	100	0	100
5	100	5	100
20	100	20	100
40	100	40	100
50	100	50	100

Estas soluções devem de ser conservadas em frascos de vidro por período não superior a uma semana.

b) Desenvolvimento da cor

- Para uma série de 7 erlenmayer de 100 mL, mede-se com o dispensador, 35 mL da mistura ácida.
- Adiciona-se a cada um dos copos, com o auxílio de pipetas, 5 mL da solução de 2,6-dimetilfenol.
- Mistura-se cuidadosamente, por agitação, e lê-se a absorvância após 10 minutos de repouso (a cor deverá ser estável por um tempo de repouso máximo de 60 minutos).

c) Leituras espectrométricas

- Medir as absorvâncias usando um branco como referência.
- Mede-se a absorvância de cada solução padrão a 324 nm, em células de 1 cm de percurso óptico.
- O branco é preparado como se de uma amostra se trata-se mas com AD.

d) Traçado da curva

- Traça-se a curva em função das absorvâncias e das respectivas concentrações, expressas em miligrama de nitratos por litro.

Esta curva deve ser linear.

- **Preparação da amostra e sua leitura**

Procede-se como acima indicado, curva de calibração, utilizando um erlenmayer de 100 mL e uma toma da amostra para ensaio de 5 mL, em vez das soluções padrão.

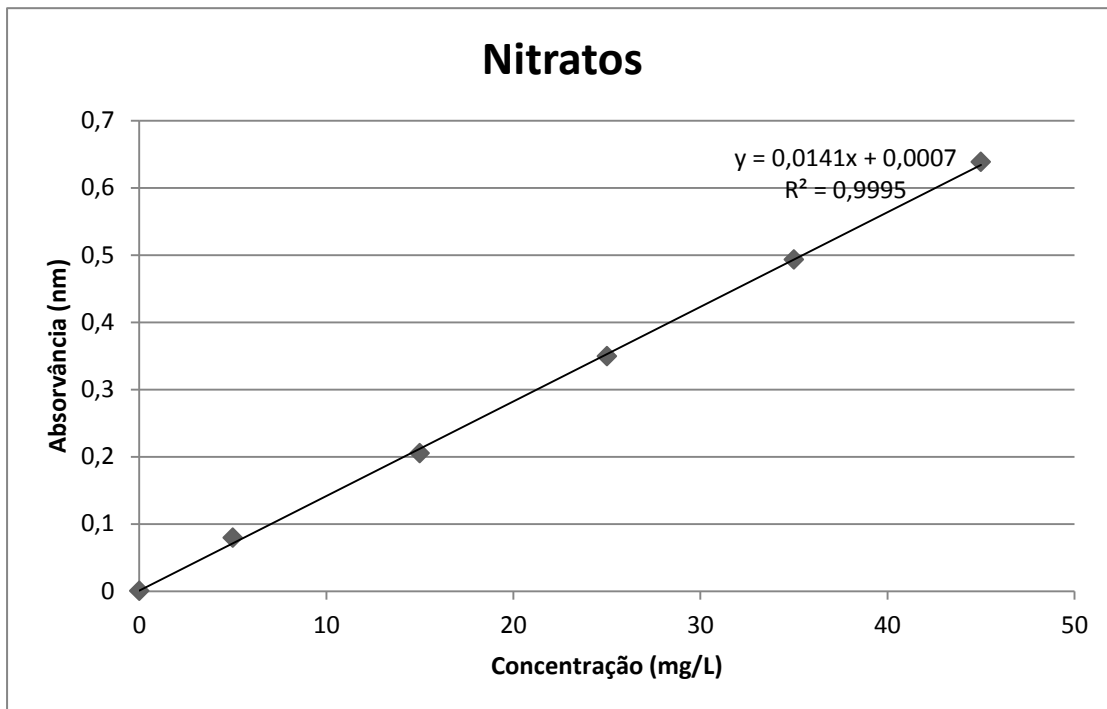
CÁLCULOS

Calcula-se a partir da curva de referência, a concentração de nitratos, expressa em miligrama por litro, correspondente ao valor da absorvância.

EXEMPLO DE CÁLCULO

Recta de Calibração:

Concentração (mg/L)	Absorvância (nm)
0	0
5	0,079
15	0,205
25	0,349
35	0,493
45	0,638



Recolha 1- Linnígrafo:

Ponto	Absorvância
1	0,0855

Equação da recta:	$Y=0,0141x+0,0007$
-------------------	--------------------

$$\text{Nitratos} = \frac{0,0855 - 0,0007}{0,0141} = 6,01 \text{ mg/L}$$

DETERMINAÇÃO DE MICRORGANISMOS CULTIVÁVEIS (NORMA ISO 6222:1999)

DEFINIÇÕES

Microrganismos cultiváveis- todas as bactérias aeróbias, leveduras e fungos filamentosos capazes de formar colónias num meio de cultura específico sob condições determinadas.

PRINCÍPIO

Incorporação da amostra da água (ou das diluições da amostra) num meio de cultura especificado em caixa de Petri.

Incubação de um conjunto de caixas de Petri a 36°C durante 44 horas e de outro conjunto de caixas de Petri a 22°C durante 68 horas.

Cálculo do nº de U.F.C./mL da amostra a partir da contagem do nº de colónias formadas no meio.

TÉCNICA (Baptista, 2013)

1. Preparação e inoculação

Em ambiente asséptico medir com micropipeta 1 mL da amostra (ou de uma diluição apropriada a desta) para dentro de uma caixa de Petri esterilizada vazia. Juntar 15 a 20 mL do meio de cultura (YEA- yeast extract agar) e misturar cuidadosamente através de movimentos de rotação suaves. Deixar solidificar o meio de cultura inoculado.

NOTA: inocular, pelo menos, uma caixa de Petri para incubação a cada temperatura.

2. Incubação e exame

Inverter as caixas de Petri e incubar um conjunto de caixas a 36±2°C durante 44±4 horas e outro conjunto de caixas a 22±2°C durante 68±4 horas. Examinar as caixas de Petri imediatamente após conclusão do tempo de incubação, ou, em caso de possibilidade, guardar as caixas a 5±3°C e examinar até um tempo máximo de 48 horas. Rejeitar todas as caixas com crescimento confluyente.

3. Contagem das colónias

Contar as colónias presentes em cada caixa de Petri.

Calcular o nº estimado de u.f.c. presentes em 1 mL de amostra, para cada temperatura de incubação.

Se não existirem colónias nas caixas de inoculadoras expressar os resultados como não detectadas.

Se existirem mais do que 300 colónias nas caixas inoculadas com a maior diluição usada, expressar os resultados como > 300.

EXEMPLO DE CÁLCULO

Recolha 3- Início da Reserva, Ponte do Rio

36°C	Diluição 1:100	Contagem: 90 Colónias
22°C	Diluição da amostra utilizada – 1:100	Contagem: 124 Colónias

Amostra	36°C	22°C	1/100	UFC/mL Nº contado x 10 ² (36°C)	UFC/mL (22°C)
3	90	124	10 ⁻²	9,0x10 ³	1,24x10 ⁴

DETERMINAÇÃO DE BACTÉRIAS COLIFORMES E E.COLI (NORMA ISO 9308-1:2000)

DEFINIÇÕES

Bactérias lactose-positivas

Bactérias capazes de formar colónias quando incubadas aerobicamente a 36°C durante 24 horas num meio selectivo e diferencial com lactose, produzindo ácido.

Bactérias coliformes

Bactérias lactose-positivas que sejam oxidase-negativas.

Escherichia coli

Bactéria coliforme que também produz indol a partir do triptofano quando incubada a 44°C durante 24 horas.

PRINCÍPIO (Baptista, 2013)

O método baseia-se numa filtração da amostra através de membrana, incubação da membrana num meio selectivo e caracterização bioquímica subsequente das colónias lactose-positivas típicas, levando à detecção e contagem do nº de bactérias coliformes e *E. coli* presentes na amostra num período de 2 ou 3 dias.

As colónias amarelas e laranjas observadas após a 1ª incubação são consideradas típicas e são repicadas para cultura subsequente e testes de confirmação: teste da oxidase e da produção de indol. Determina-se o nº de bactérias coliformes e o nº de *E. coli* presentes em 100 mL da amostra.

TÉCNICA

1. Filtração e incubação

Preparar o sistema de filtração de modo a poder trabalhar em meio asséptico. Com uma pinça esterilizada colocar a membrana filtrante no funil de filtração.

Com uma proveta esterilizada medir 100 mL de água amostra (ou volumes superiores, por exemplo 250 mL para água engarrafada) e filtrar.

Colocar a membrana filtrante no meio MLSA, tendo o cuidado de não deixar bolhas de ar entre o meio e o filtro.

Incubar a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 21 ± 3 horas.

NOTA: a extensão do tempo de incubação para 44 ± 4 horas pode resultar numa maior sensibilidade do teste e pode ser especialmente útil para as caixas de Petri que não mostrem colónias típicas após 24 horas.

2. *Diferenciação e repicagens*

Inverter as caixas de Petri e examinar as membranas. Contar como bactérias lactose-positivas todas as colónias que apresentem por baixo da membrana uma coloração amarela, independentemente do tamanho.

Para realizar os testes de confirmação devem repicar-se e subcultivar todas as colónias características obtidas (ou um nº representativo destas, por exemplo: 10 ou eventualmente menor).

Realizar nova(s) sementeira(s) por estrias em caixa de Petri com agar nutritivo. Incubar a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 21 ± 2 horas.

Realizar nova(s) sementeira(s) em tubo de ensaio com caldo de triptofano. Incubar a $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 21 ± 3 horas.

3. *Testes confirmativos*

Teste da oxidase

Em meio asséptico e utilizando uma ansa, retirar parte de uma das colónias isoladas no agar nutritivo. Realizar a prova da oxidase deixando parte da colónia sobre a tira de teste. O desenvolvimento de uma cor roxa escura em cerca de 30 segundos considera-se como resposta positiva.

Teste de indol

Adicione 0,2 a 0,3 mL (3 gotas) de reagente de Kovacs ao tubo de ensaio com a cultura em caldo de triptofano. O desenvolvimento de um anel carmim na superfície do caldo confirma a produção de indol.

4. *Contagem das colónias*

Contar todas as colónias que deram uma reacção negativa ao teste da oxidase como bactérias coliformes.

Contar todas as colónias que deram uma reacção negativa ao teste de oxidase e uma reacção positiva ao teste de indol como sendo *E. coli*.

A partir do nº de colónias características contados na membrana e tendo em consideração os resultados dos testes confirmativos, calcular o nº de bactérias coliformes e de *E. coli* presentes em 100 mL de água.

EXEMPLO DE CÁLCULO

Recolha 3- Início da Reserva, Ponte do Rio (Ponto 3)

Volume de amostra utilizado	Colónias Amarelas	Colónias Rosa	Colónias Laranja
1:40	79	106	7

Teste de Oxidase:

Colónias	Nº de Caixas	Positivas	Negativas
Amarelas	3	0	3
Rosa	3	3	0
Laranjas	3	1	2

Teste do Indol:

Colónias	Nº de Tubos	Positivas	Negativas
Amarelas	3	2	1
Laranjas	2	0	2

			Repicagem oxidase -				
Amarelo	Laranja	Rosa	Amar.	Laranja	Rosa	Resultado final (nº x 40)	E. Coli (UFC/100 mL)
79	7	106	Negativo	Positivo	Positivo	79+5 = 84 84 x 40 = 3,36x10 ³	2 positivos--3 tubos x-----79 tubos x= 53 53 x 40= 2120 +
			Negativo	Negativo	Positivo		
			Negativo	Negativo	Positivo		

Anexo C

Tabela Geral das Análises efectuadas

Físico-Químicas, Macroinvertebrados e Microbiológicas

	Medições no local					Medições no laboratório																		
	Medidas nos aparelhos de campo				Medidas directamente nos aparelhos				Análises Físico-químicas					Sólidos		Microbiológicas				Macroinvertebrados				
	Mês	Temperatura (°C)	pH	Condutividade (mv)	OD (%)	Temperatura (°C)	pH	Condutividade (us/cm)	SDT (mg/L)	OD (mg/L)	Fosfatos (mg/L)	Nitratos (mg/L)	CQO (mg/L)	CBO ₅ (mg/L)	SST (mg/L)	SDT (mg/L)	Cultiváveis (36°C) (UFC/ml)	Cultiváveis (22°C) (UFC/ml)	Coliformes (UFC/ml)	<i>E.coli</i> (UFC/ml)	Ds=1-D	Abundância	Número de famílias	BMWP'
Ponto 1: Início da Reserva	Março	18,5	6,9	53	60,5	22	7,73	541	271	6,721	0,083	9,489	10,514	80,05	3	325					0,00	0	0	0
	Abril	18,7	5,85	110,4	53,4	22,3	7,78	661	331	5,537	88,172	3,071	23,282	13,033	7	351	105000	23000	440	0	0,52	279	6	29
	Maio	16,6	ND	168,9	52,9	18,4	7,48	1506	750	6,533	9,009	0	16,746	42,257	23	383	9000	13	3360	2120	0,45	51	4	6
	Junho	22,4	9,06	48,2	26,7	23,1	7,51	1867	930	5,848	15,145	346,028	7,576	37,731	2	82	22700	19400	0	0	0,67	105	10	38
Ponto 4: Saída da Reserva (Ponte da Broa)	Março	20,4	7,4	27	74,1	21,9	7,85	535	267	7,004	0,07	3	15,187	74,656	45	371					0,00	2	2	8
	Abril	22,5	5,49	126,5	63,2	22,1	8,02	730	365	7,117	27,728	0	52,106	29,483	8	404	77000	4100	0	0	0,00	0	0	0
	Maio	18,3	ND	44	65,2	18,2	8,16	1702	845	7,039	0	0	33,493	39,169	37	655	2600	3800	280	0	0,42	13	4	14
	Junho	27,3	ND	59	41,1	24,3	7,69	1913	952	5,387	11,301	336,099	46,537	52,987	50	439	5400	6200	200	600	0,00	1	1	2
Ponto 6: Entrada da Reserva Integral	Março	17,9	5,8	73	62,3	21,8	7,82	527	264	6,589	0	2,539	14,018	97,527	8	319					0,48	37	4	19
	Abril	18,85	7,25	43	59,6	22,6	7,85	671	336	6,001	0	3,461	15,521	10,261	2	387	115000	21000	460	0	0,39	75	6	25
	Maio	16,55	ND	92,7	61,7	18,7	7,55	1505	749	6,051	3,391	3,39	31,1	15,196	40	679	3500	5300	3080	0	0,57	71	4	14
	Junho	23,2	8,88	40,2	41,5	24,1	7,49	1945	971	6,152	14,16	168,369	10,823	14,348	2	300	11700	18100	1000	2850	0,12	202	2	10
Ponto 7: Limnígrafo	Março	19,2	6,06	55,3	153	23,1	8,18	522	261	11,967	0,011	6,014	16,355	95,587	8	324					0,00	0	0	0
	Abril	22,6	5,66	118,8	158,5	22,8	8,39	732	366	11,528	0,189	0	33,259	22,182	21	432	32000	58000	0	0	0,00	0	0	0
	Maio	18,9	ND	47	96,8	18,6	7,84	1727	863	9,514	9,897	3,851	52,632	22,508	88	459	2900	72	120	80	0,00	0	0	0
	Junho	27,55	9	57,9	107,1	24,6	7,97	1875	939	8,897	16,156	147,801	27,056	48,204	53	389	1500	5200	50	150	0,26	90	6	20