



**Instituto Politécnico de Tomar**

**Escola Superior de Tecnologia de Tomar**

**Monitorização Dos Ambientes Aquáticos Da Reserva  
Natural do Paul do Boquilobo**

Projeto

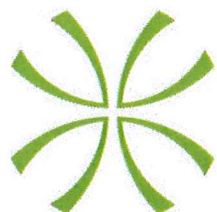
**David Miguel Gaspar Apura**

**Gonçalo Filipe Gomes da Silva**

**Pedro Gonçalves Tancredo**

Licenciatura em Engenharia do Ambiente e Biológica

**Tomar / Outubro / 2015**



Instituto Politécnico de Tomar

**Escola Superior de Tecnologia de Tomar**

David Miguel Gaspar Apura

Gonçalo Filipe Gomes da Silva

Pedro Gonçalves Tancredo

**Monitorização Dos Ambientes Aquáticos Da Reserva Natural  
do Paul do Boquilobo**

Projeto

Orientado por:

Doutor Luís Santos, Instituto Politécnico de Tomar

Doutora Cecília Baptista, Instituto Politécnico de Tomar

Júri:

Doutor Marco António Mourão Cartaxo, Instituto Politécnico de Tomar

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



Este trabalho é dedicado a todos os  
nossos familiares e amigos, que  
sempre nos apoiaram.

## RESUMO

---

Dando continuação ao projeto de monitorização implementado pelo curso de Engenharia do Ambiente que decorre desde 2011, foi desenhado o projeto de fim de curso para o ano de 2015. Os objetivos principais continuam a ser o melhor conhecimento da evolução da qualidade de água nos ambientes aquáticos da Reserva Natural do Paul do Boquilobo, trabalhando sobre a base já construída, adicionando-se as variáveis enterococos e peixes com o intuito de complementar o conhecimento já adquirido sobre as variáveis que afetam esta Reserva Natural.

À semelhança de anos anteriores o período de monitorização decorreu entre Março e Junho de 2015, efetuando-se quatro sessões de recolha mensais em quatro pontos distintos da Reserva. As recolhas envolveram colheita de amostras de água respeitando as indicações legais e em quantidade suficiente para permitir triplicados. Foram também recolhidas amostras de macroinvertebrados bentónicos, excepto no ponto 7 (ambiente lântico), respeitando a diversidade de habitats e sedimentos existentes. E finalmente foi implementada a captura de peixes recorrendo ao método de pesca elétrica e indicações legais implementadas pela credencial de licenciamento desta atividade.

A avaliação da qualidade da água da Reserva, recorreu à análise de vários parâmetros físico-químicos, nomeadamente, pH, temperatura, condutividade, oxigénio dissolvido, fosfatos, nitratos, CQO, CBO<sub>5</sub>, sólidos totais, sólidos suspensos totais e sólidos dissolvidos totais. Efetuaram-se também análises microbiológicas para os microrganismos cultiváveis a 22 e 36°C, coliformes totais, *E. coli* e enterococos intestinais. Nos locais de recolha, com exceção de ponto 7 – Limnígrafo, foram ainda recolhidos macroinvertebrados bentónicos com o objetivo de usar as suas características de bioindicadores da qualidade da água para comparação com resultados físico-químicos. Finalmente, a fauna piscícola foi amostrada em todos os locais propostos de análise, com sucesso limitado em alguns locais e datas, com o objetivo de melhor compreender a cadeia trófica existente.

Após uma exaustiva análise estatística, com recurso a *softwares* específicos como Minitab e Canoco, foi possível implementar a análise multivariada dos resultados obtidos,

permitindo o melhor entendimento de correlações existentes entre as variáveis analisadas que explicam por si só 83,1% da variabilidade do ecossistema.

Os resultados de uma forma global indicam elevados níveis de poluição das águas da Reserva, facto confirmado por todas as análises efetuadas podendo *inclusive* atribuir-se o insucesso parcial da pesca elétrica a estas condições. De forma conclusiva, observam-se elevados valores de todos os parâmetros no ponto 1 - Entrada da Reserva indicando que o fator poluição é externo e oriundo de fontes a montante.

A análise específica das variáveis permite concluir que os nitratos são os principais indicadores de poluição, representados na análise canónica de correspondência pelas famílias dos cluster 1, Hydrobiidae, Lumbriculidae, Physidae, Tubificidae e Chironomidae, todas elas bem representadas e pertencentes ao grupo funcional alimentar de raspadores e filtradores coletores, alimentando-se de matéria orgânica fina particulada (FPOM). Pelos valores observados no ponto 1 pode concluir-se que as fontes de poluição têm origem a montante da Reserva.

Através da análise estatística, tudo indica que os fatores representados nos eixos 1 e 2, podem ser atribuídos à influência das características naturais do Paul dependentes da sazonalidade e à influência de contaminação das águas por fontes de poluição orgânica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Reserva Natural do Paul do Boquilobo, monitorização, qualidade da água, parâmetros físico-químicos, análises microbiológicas, macroinvertebrados bentónicos, pesca elétrica.

## ABSTRACT

---

Giving continuation to the monitoring project implemented by the Environmental Engineering course, in place since 2011, arose the design of the final project for the year 2015. The main objectives maintain the purpose to increment the knowledge of water quality evolution in aquatic environments if the Paul do Boquilobo Natural Reserve, working from the already built base, new variables enterococci and fish were added in order to complement the knowledge already acquired.

As in previous years the monitoring period took place between March and June 2015, making up four monthly collection sessions in four different sites of the Reserve. The collection involved water sampling respecting the legal indications and in sufficient quantity to enable triplicates. Benthic macroinvertebrate samples were also collected, except for site 7 (lentic environment), respecting the diversity of habitats and sediment types. Finally fish monitoring was implemented using the electrofishing method respecting legal fishing restrictions implemented by the licensing credentials of this activity. The assessment of water quality in the Reserve, involved the analysis of various physical and chemical parameters, including pH, temperature, conductivity, dissolved oxygen, phosphates, nitrates, COD, BOD5, total solids, total suspended solids and total dissolved solids. Analysis of microbiological organisms cultivated at 22 and 36 ° C, total coliforms, E. coli and intestinal enterococci were also performed. Collection of benthic macroinvertebrates, with the exception of site 7 – Limnígrafo, complied with the objective of using their freshwater bio-indicator characteristics for comparison with physico-chemical results. Finally, fish fauna was sampled in all proposed sites of analysis, with limited success in some locations and particular dates, in order to better understand the trophic complexity of the ecosystem.

After a thorough statistical analysis, using specific software such as Minitab and Canoco it was possible to implement multivariate analysis of results, allowing a better understanding of correlations among variables which in this particular study explain 83,1% of the total variability of the ecosystem.

Globally, results indicate high levels of water pollution in the Reserve, a fact confirmed by every analysis made, also would be a possible observation for fish species composition, wouldn't be for the partial failure of electrofishing. Conclusively, from the results observed in site 1 delivering high values for all parameters it is possible to state that the pollution factor is external and comes from upstream sources.

The specific analysis of variables leads to the conclusion that nitrates are the major pollution indicators, represented in the canonical correlation analysis by families of cluster 1, Hydrobiidae, Tubificidae and Lumbriculidae, Physidae, Chironomidae, all of them well represented and belonging to the functional group of scrapers/grazers and filtering collectors, feeding on fine particulate organic matter (FPOM). The values observed in site 1 – Reserve Entrance, show that the sources of pollution have an upstream origin.

Through statistical analysis, the factors represented on axes 1 and 2, may be assigned to the influence of the natural features of the Paul influenced by seasonality and organic pollution sources.

**KEYWORDS:** Paul do Boquilobo Natural Reserve, monitoring, water quality, physicochemical parameters, microbiological analysis, benthic macroinvertebrates, electrofishing.



## AGRADECIMENTOS

---

Depois de elaborar este trabalho, é essencial demonstrarmos o nosso reconhecimento apreço pelas pessoas que nos apoiaram.

Antes de mais agradecemos aos nossos orientadores, Professor Doutor Luís Filipe Neves Carreira dos Santos e Professora Doutora Cecília de Melo Correia Baptista, pelo apoio, pela paciência, pela boa disposição e pela destreza que sempre nos prestaram desde o primeiro dia, e que foram determinantes para a conclusão deste trabalho.

À Engenheira Isabel Silva e ao Engenheiro Alcino Serras, responsáveis pelos laboratórios de Engenharia do Ambiente e Biológica, pelos ensinamentos e colaboração no trabalho laboratorial.

Ao responsável pela Reserva Natural do Paul do Boquilobo, Arq. Fernando Pereira, por nos ter permitido a realização deste projeto 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.

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

A todos os nossos familiares e amigos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste projeto.



# Índice

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
AGRADECIMENTOS .....	xi
Índice de Figuras .....	xv
Índice de Tabelas .....	xviii
Lista de abreviaturas e siglas .....	xix
Capítulo 1 - Reserva Natural do Paul do Boquilobo .....	1
1.1 História.....	3
1.2. Classificação e Legislação .....	4
1.3. Caracterização e Localização Geográfica .....	6
1.3.1. Fauna e a Flora .....	9
1.3.2. Geologia, Hidrologia e Clima.....	15
Capítulo 2 - Análises Físico-Químicas e Microbiológicas.....	17
2.1. Introdução .....	19
2.2. Recolha de Amostras .....	21
2.3. Parâmetros Físico-Químicos Analisados .....	23
2.4. Análise Microbiológicas .....	30
2.5. Apresentação e Discussão de Resultados .....	32
Capítulo 3 - Bioindicadores.....	47
3.1. Introdução .....	49
3.2. Macroinvertebrados como bioindicadores da qualidade da água .....	51
3.3. Monitorização .....	55
3.4. A Diretiva-Quadro da Água.....	56
3.5. Material e Métodos .....	58
3.5.1. Locais de amostragem .....	58
3.5.2. Macroinvertebrados.....	59

3.6. Apresentação e Discussão de Resultados .....	62
Capítulo 4 - Amostragem e Análise da Fauna Piscícola da RNPB .....	71
3.1. Introdução .....	73
3.2. Material e Equipamento .....	74
3.3. Amostragem.....	76
4.4 Apresentação e Discussão de Resultados .....	80
Capítulo 5 – Análise Estatística.....	83
5.1. Análise Exploratória Multivariada.....	85
5.2. Análise Canónica .....	90
Conclusão .....	97
Bibliografia/Webgrafia.....	101
Anexo A - Manual de Peixes da RNPB.....	115
Anexo B - Bioindicadores .....	121
Anexo C - Análises Físico-Químicas e Microbiológicas .....	125
Anexo D - Análise Estatística.....	159
Anexo E - Tabela Geral Análises Físico-Químicas e Microbiológicas.....	171

## Índice de Figuras

Figura 1 - Quinta do Paul do Boquilobo (ICNF, sd) .....	3
Figura 2 - Quinta da Broa (ICNF, sd).....	4
Figura 3 - Símbolo da RNPB (ICNF, sd) .....	5
Figura 4 - Localização da Reserva em Portugal Continental com a identificação dos pontos de recolha das amostras de água .....	6
Figura 5 - Mapa da Reserva do Paul do Boquilobo (ICNF, sd) .....	7
Figura 6 - Reserva alagada (blackcrows, blog-olhares cruzados) .....	8
Figura 7 - Lontra ( <i>Lutra lutra</i> ) (geralforum, 2010).....	9
Figura 8 - Rã-verde ( <i>Rana perezi</i> ) (flickr, sd).....	9
Figura 9 - Salamandra-de-costelas-salientes ( <i>Pleurodeles waltl</i> ) (Caiada, 2010) .....	10
Figura 10 - Boga-Portuguesa ( <i>Chondrostoma lusitanicum</i> ) (Webpesca, sd).....	10
Figura 11 - Lagartixa-ibérica ( <i>Podarcis hispanica</i> ) (MuseuCM Manteigas, sd) .....	10
Figura 12 - Garça-boieira ( <i>Bubulcus ibis</i> ) (Rodrigues, sd) .....	11
Figura 13 - Garça-noturna ( <i>Nycticorax nycticorax</i> ) (Paris, 2011) .....	11
Figura 14 - Papa-ratos ( <i>Ardeola ralloides</i> ) (Oliveira, 2015).....	11
Figura 15 - Garças-cinzentas ( <i>Ardea cinerea</i> ) (digital, 2012).....	12
Figura 16 - Garçote ( <i>Ixobrychus minutus</i> ) (ICNF, sd) .....	12
Figura 17 - Garça vermelha ( <i>Ardea purpurea</i> ) (Correia, sd) .....	13
Figura 18 - Mal-casada ( <i>Polygonum amphibium</i> ) (florevirtuelle, sd).....	14
Figura 19 - <i>Narcissus fernandesii</i> (Pereira e Vieira, sd) .....	14
Figura 20 - Choupo ( <i>Populus nigra</i> ) (Eduardo, 2009).....	14
Figura 21 - Jacinto-de-água ( <i>Eichornia crassipes</i> ) (Santos, sd).....	16
Figura 22 - Distribuição da água doce disponível na Terra (adaptado de WBCSD, 2009).....	19
Figura 23 - Mapa da reserva com os locais de amostragem.....	21
Figura 24 - Diferentes frações dos sólidos (Markos, 2001) .....	29
Figura 25 - Variação do pH da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015).....	33
Figura 26 - Relação entre temperatura da água e temperatura ambiente para o ponto 7.34	
Figura 27 - Variação da temperatura da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015) .....	35



Figura 28 - Variação da condutividade da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015) .....	36
Figura 29 - Variação do oxigênio dissolvido da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015) .....	37
Figura 30 - Variação da concentração de fosfatos da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015).....	38
Figura 31 - Variação de CBO5 da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015) .....	40
Figura 32 - Variação de CQO da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015).....	41
Figura 33 - Variação de sólidos suspensos totais da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015).....	42
Figura 34 - Variação de microrganismos cultiváveis a 36 °C ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015).....	43
Figura 35 - Variação de coliformes totais da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015) .....	44
Figura 36 - Variação de enterococos da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015) .....	45
Figura 37 - Espécies de macroinvertebrados bentônicos, com diferentes graus de tolerância à poluição. Grupo 1 – Organismos sensíveis à poluição; Grupo 2 – Organismos tolerantes à poluição; Grupo 3 – Organismos resistentes à poluição (ACES, sd).....	53
Figura 38 - Recolha da amostra.....	59
Figura 39 - Ponto 1 - Entrada da reserva.....	59
Figura 40 - Ponto 3: Saída da Reserva .....	60
Figura 41 - Ponto 2: Entrada da Reserva Integral .....	60
Figura 42 - Triagem e remoção dos organismos presentes .....	61
Figura 43 - Caixas de Petri após primrira triagem .....	61
Figura 44 - Identificação dos macroinvertebrados à lupa binocular .....	61
Figura 45 - Chironomidae.....	62
Figura 46 - Simuliidae .....	62
Figura 47 - Physidae .....	62
Figura 48 - Tubificidae .....	62
Figura 49 - Abundância de famílias e abundância de macroinvertebrados amostrados..	63

Figura 50 - Gráfico da Abundância dos macroinvertebrados nos pontos de amostragem ao longo dos 4 meses de estudo.....	65
Figura 51 - Gráfico da Diversidade nos pontos de amostragem ao longo dos 4 meses de estudo.....	66
Figura 52 - Gráfico com os valores dos índices IBMWP obtidos para diferentes pontos analisados .....	68
Figura 53 - Gráfico com os valores dos índices de IPtIN obtidos para diferentes pontos de amostragens .....	69
Figura 54 - Funcionamento da pesca elétrica Samus -725G, (sd).....	73
Figura 55 - Aparelho SAMUS-725MS, juntamente com o camaroeiro e respectivos elétrodos .....	75
Figura 56 - Aparelho de medição dos parâmetros físico-químicos .....	76
Figura 57 - GPS centimétrico .....	76
Figura 58 - Local de amostragem aquando da maior inundação do Paul (vala de acesso ao Limn�grafo).....	77
Figura 59 - Amostragem no Ponto 3 – Saída da Reserva, com captura efetiva .....	78
Figura 60 - Amostragem no Ponto 7 – Limn�grafo, com captura efetiva.....	78
Figura 61 - Identifica�o e medida de uma captura.....	79
Figura 62 - Peixe devolvido ao habitat cuidadosamente .....	80
Figura 63 - Dendrograma de similaridade entre as variáveis ambientais.....	86
Figura 64 - Scree plot dos valores próprios para todas as variáveis.....	87
Figura 65 - Loading plot para o primeiro e segundo fatores .....	88
Figura 66 - Score plot por local para o primeiro e segundo fatores .....	89
Figura 67 - Score plot por m�s para o primeiro e segundo fatores.....	90
Figura 68 - Análise de redundância.....	93

## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Concentração de nitratos da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015) .....	39
Tabela 2 - Tipos de habitat para as comunidades de macroinvertebrados bentónicos para cada ponto.....	60
Tabela 3 - Índices Biológicos .....	67
Tabela 4 - Classes de qualidade definida para o índice IBMWP (Alba-Tercedor 2000)	68
Tabela 5- Classes de qualidade da água e o seu significado (INAG 2009).....	70
Tabela 6 - Características do aparelho utilizado, SAMUS-725MS.....	75
Tabela 7 - Dados relativos às espécies capturadas .....	80
Tabela 8 - Análise fatorial para 3 fatores .....	87
Tabela 9 - Resumo da análise de correspondência retificada para teste de ajuste.....	92
Tabela 10 - Resumo da análise de redundância.....	92

## **Lista de abreviaturas e siglas**

ASPT – Pontuação média por Taxon

BMWP – Índice de Monitorização biológica do grupo de trabalho

CBO<sub>5</sub> – Carência Bioquímica de Oxigénio passado 5 dias

CCA – Canonical Correspondence Analysis

CQO – Carência Química de Oxigénio

DCA – Detrendend Correspondence Analyses

DQA – Diretiva Quadro da Água

IASPT – ASPT Ibérico, que corresponde ao BMWP Ibérico dividido pelo número de famílias incluídas no cálculo do BMWP Ibérico

INAG – Instituto Nacional da Água

IPtIN – Índice Português de Invertebrados do Norte

OD – Oxigénio Dissolvido

RDA – Redundancy Analysis

RNPB – Reserva Natural do Paul do Boquilobo

SDT – Sólidos Dissolvidos Totais

SST – Sólidos Suspensos Totais

ST – Sólidos Totais

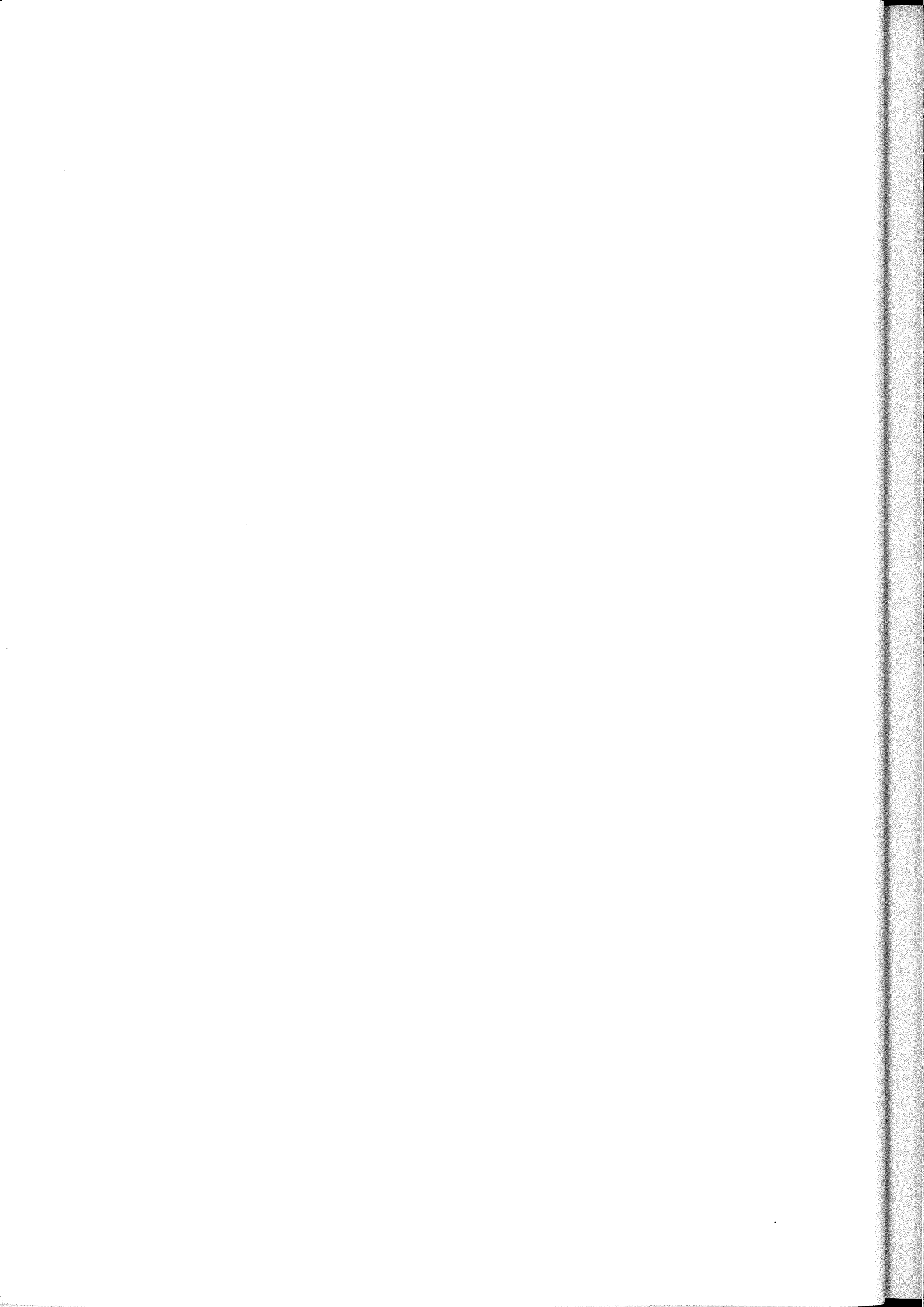
UFC – Unidade de Formação de Colónias





## **Capítulo 1 - Reserva Natural do Paul do Boquilobo**

**Resumo:** Pretende-se neste capítulo dar a conhecer a história e fazer uma caracterização da Reserva Natural do Paul do Boquilobo.





## 1.1 História

A conservação da zona húmida do Paul está associada ao fato de esta estar integrada, principalmente nas quintas do Paul do Boquilobo, de Mato Miranda e da Broa, que possibilitavam a utilização das áreas mais alagadas para a caça, para os arrozais e pastagem para o gado. (ICNF, sd)

A Quinta do Paul do Boquilobo é um dos latifúndios mais importantes de Portugal. Esta pertenceu à ordem do Templo e à ordem de Cristo até ao séc. XV, sendo doada em sesmaria por D. João I a D. Henrique em 1432. Devido à não utilização do Paul, este foi doado a D. Fernando de Castro tornando-o em “terra de lavradio”. A zona mais alagada, no entanto, permaneceu como Paul sendo utilizado para atividades de caça pelos reis e nobreza da altura. Após anos de mau aproveitamento, o Paul foi comprado pelo Dr. José Maria Eugénio de Almeida, alterando as plantações de cânhamo e arroz que predominavam largamente na altura, substituindo por milho e girassol. A antiga capela da Nossa Senhora da Graça foi substituída pela designada Ermida velha. Nas últimas décadas a exploração da atividade agrícola tem sido realizada pelos seus proprietários (Cardoso e Rosado, 1998).



Figura 1 - Quinta do Paul do Boquilobo (ICNF, sd)

A Quinta de Mato Miranda foi uma das propriedades da Casa de Rio Maior, pertence ao Engenheiro João Vicente Saldanha, neto do Sr. Marquês que iniciou a administração da Quinta nos anos 20. José Pedro, tio do Marquês, plantou uma vinha à entrada da Quinta. Esta foi arrancada totalmente na época de 90. 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 ardidado posteriormente. As restantes construções, que permanecem atualmente, existem desde a primeira metade do século XX (ICNF, sd).

A Quinta da Broa, antigamente denominada por Quinta do Almonda, pertenceu à família de Zarco da Câmara. Foi adquirida no século XIX pelos irmãos Manuel e Rafael José da Cunha. Este último devido à sua generosidade ofereceu broa aos mais pobres, fazendo com que a Quinta do Almonda ficasse conhecida até hoje como Quinta da Broa. Das três quintas situadas no interior da Reserva a Quinta da Broa é o património construído mais monumental sendo que o edifício principal, apalaçado, tem 365 janelas. Recentemente, foi recuperado um antigo edifício em ruínas sendo transformado num enorme picadeiro coberto, sendo os cavalos lusitanos produzidos nesta quinta muito conceituados pela sua qualidade (ICNF, sd).

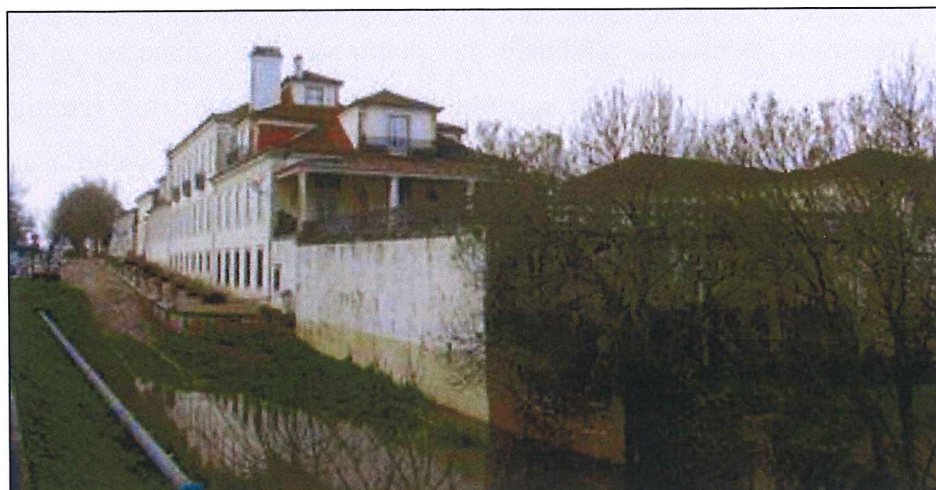


Figura 2 - Quinta da Broa (ICNF, sd)

## 1.2. Classificação e Legislação

A RNPB está inserida no troço do rio Almonda que nasce na Serra de Aire e desagua na margem direita do rio Tejo. É o maior ecossistema aquático representativo de zonas húmidas interiores. Apresenta uma elevada biodiversidade no que diz respeito à fauna, sendo as aves o principal valor da Reserva (ICNF, sd).

Esta área abriga uma das maiores colónias de garças da Península Ibérica oriundas do Continente Africano, bem como colhereiros e outras espécies. É também um ponto de paragem importante para as aves invernantes, como por exemplo os anatídeos que vêm do norte da Europa (ICNF, sd).



O Paul do Boquilobo foi classificado como Reserva Natural em 1980 Decreto-Lei N° 198/80 de 24 de Junho (ICNF, sd) e reclassificado em 1997 Decreto Regulamentar N° 49/97 de 20 de Novembro (Curado, 2009). Pertence à rede de Reservas da Biosfera da UNESCO (15 de dezembro de 1981), tendo como objetivo preservar espaços naturais representativos dos principais ecossistemas mundiais. (ICNF, sd).

Após o reconhecimento do Governo Português, foi possível melhorar o aproveitamento agrícola da área central mais sensível da reserva (ICNF, sd)

A reserva teve os seus limites alargados a 23 de Março de 2005 pelo Decreto Regulamentar n° 2/2005, englobando o Concelho de Torres Novas e aumentando a sua área total de 529 ha para 817 ha (ICNF, sd).

A Resolução de Conselho de Ministros n° 50/2008, de 18 de Março, veio definir o Plano de Ordenamento da Reserva (ICNF, sd).

A reserva está também integrada na lista de Zonas Húmidas de Importância Internacional da Convenção de Ramsar (1996), devido a abrigar um grande número de aves. Foi ainda considerada Zona de Proteção Especial (1999), ao abrigo da Diretiva n° 79/409/CEE, relativamente à conservação de aves selvagens e como Important Bird Area pela BirdLife International (Curado, sd).

A Zona de Proteção Especial para as Aves Selvagens da Reserva integra a Rede Natura 2000, sendo o Paul uma das áreas naturais portuguesas integradas na Rede de Reservas da Biosfera da UNESCO (Planetazul, 2009).

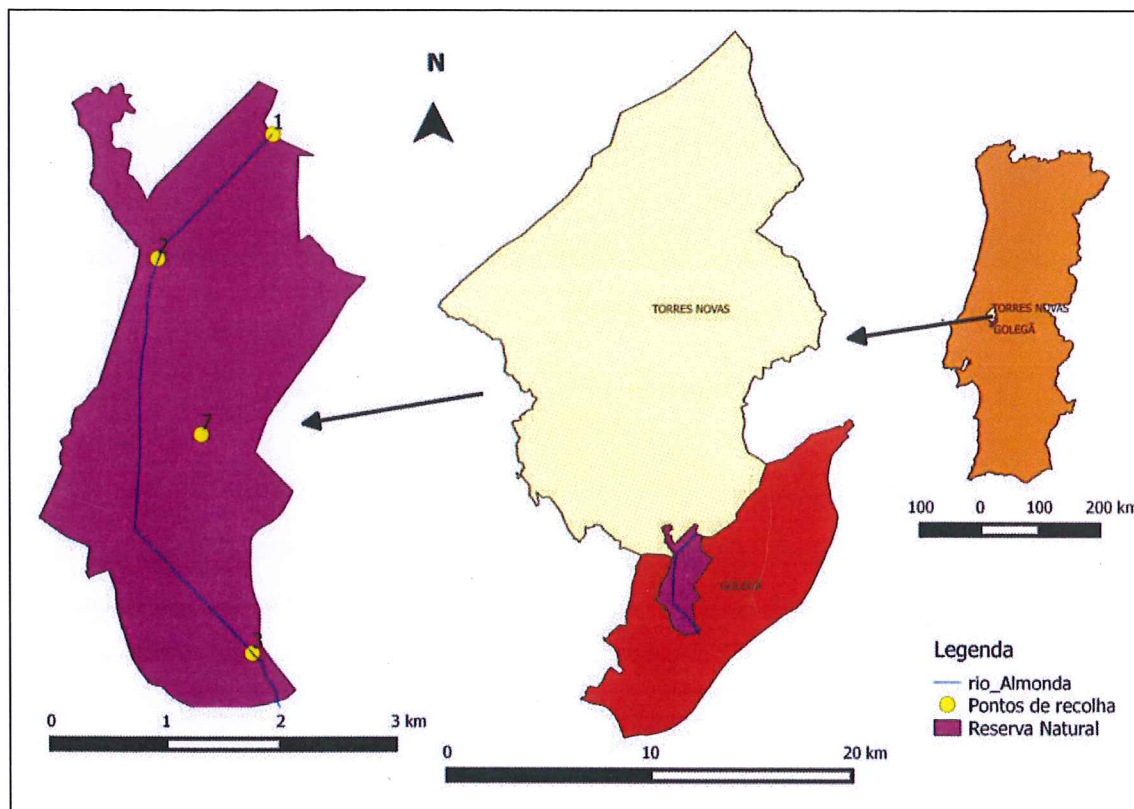


Figura 3 - Símbolo da RNPB (ICNF, sd)

O símbolo da Reserva (Figura 3) é a representação de uma garça-boieira (*Buculus ibis*), devido ao facto da Reserva Natural do Paul do Boquilobo ter uma das mais importantes colónias de garças da Península Ibérica.

### 1.3. Caracterização e Localização Geográfica

A RNPB situa-se no centro de Portugal, entre os concelhos de Torres Novas e Golegã (Figura 4), mais propriamente na freguesia da Brogueira. Localiza-se nos depósitos quaternários da Bacia Mesocenozóica do Tejo junto à confluência entre os rios Almonda e Tejo. Está assente numa planície aluvial, inserida numa zona húmida e de água doce, rodeada de pântanos, com as suas zonas interiores alagadas praticamente todo o ano. Estas no inverno inundam devido às cotas onde se situa serem mais baixas que as áreas circundantes fazendo com que fique inundada devido ao transbordo do rio Tejo. As cheias são particularmente influenciadas pela gestão das barragens de controlo existentes na bacia hidrográfica do rio Tejo.





No Verão o Paul apresenta uma taxa de seca muito elevada. Nesta época os campos ficam a descoberto, criando vastas áreas férteis para cultivo, contribuindo assim para o desenvolvimento económico do local (ICNF, sd).

A fertilidade dos terrenos de aluvião permite uma agricultura intensiva e rentável. O milho para grão predomina nos campos intercalando com o melão na época Primavera/Verão. Nas valas de drenagem, os salgueiros e os marmeleiros, caracterizam a paisagem de lezíria. Existem ainda outras atividades importantes na Reserva, como: - A criação de cavalos na Quinta da Broa; - O pastoreio de cabras e ovelhas; - A pesca, atividade com tradição; - O turismo e lazer; - A investigação científica.

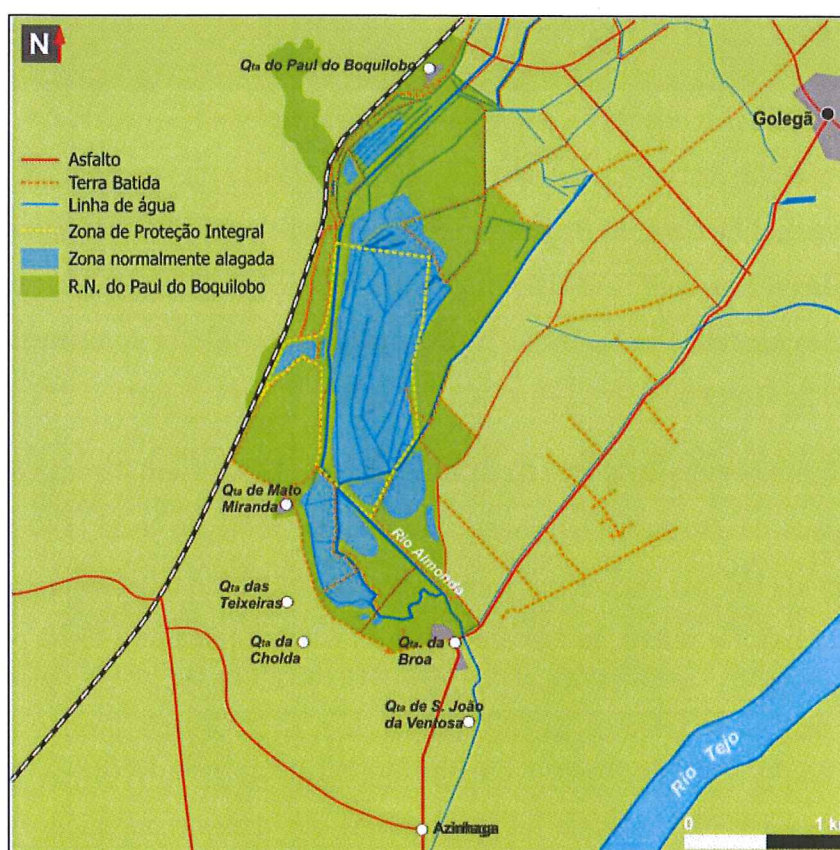


Figura 5 - Mapa da Reserva do Paul do Boquilobo (ICNF, sd)

Enquanto reserva da biosfera o Paul tem o objetivo de preservar a diversidade e estabilidade das comunidades bióticas vegetais e animais, bem como a promoção da pesquisa ecológica e ambiental. O Paul atua como uma zona tampão, protegendo as zonas agrícolas da erosão provocada pelas cheias no Inverno. Desempenha ainda um papel importante na regulação dos sistemas hídricos, melhorando a qualidade da água devido à sua capacidade depuradora (ICNF, sd).



**Figura 6 - Reserva alagada (blackcrows, sd)**

A Reserva Natural do Paul do Boquilobo abriga uma das maiores colónias de garças da Península Ibérica, bem como anatídeos, galeirões e limícolas (invernantes), tendo por isso um papel fundamental na conservação de aves aquáticas. As aves constituem o principal valor do Paul do Boquilobo.

A Reserva Natural ocupa uma área de 817 ha que se subdivide em 4 zonas distintas com diferentes graus de proteção. As zonas são: área de proteção total (189 ha), área de proteção parcial (167 ha), área de proteção complementar (436 ha) e zona de intervenção específica (25 ha). De referir que da área total da reserva cerca de 177 ha pertencem ao Estado (ICNF, sd).

A manutenção do título de Reserva da Biosfera atribuído pela UNESCO implica uma maior interação das atividades da Reserva com as atividades económicas da zona, pelo que desde 21 de Setembro deste ano que a área abrangida pela Reserva da Biosfera aumentou para 5900 ha abrangendo áreas urbanas com 8400 habitantes de cinco freguesias dos dois concelhos limítrofes (O Riachense, 2015a)

O Paul do Boquilobo luta constantemente contra problemas ecológicos. A dispersão descontrolada do jacinto-de-água, a regularização da quantidade de água retirada para efeitos agrícolas (maior impacto em períodos de seca), a proximidade de uma área de caça, são exemplos de ameaças que a reserva encontra. Muito importante de referir ainda é a poluição industrial e doméstica do Rio Almonda, ameaçando a qualidade da água e de



toda a Fauna e Flora existente no Paul (Curado, sd). Por exemplo, no passado dia 26 de setembro, a APA mandou suspender a licença de descarga da empresa Fabrióleo que há anos é referenciada como poluidora do ribeiro do Serradinho, afluente da ribeira da Boa Água, tributária direta do rio Almonda (O Riachense, 2015b). As descargas clandestinas desta empresa têm tido impacto negativo claro na qualidade da água do rio Almonda e consequentemente das águas superficiais da Reserva.

### 1.3.1. Fauna e a Flora

Na RNPB foram já identificadas cerca de 221 espécies de aves, que representam 77% dos vertebrados existentes na Área Protegida. Existem na RNPB 27 espécies de mamíferos, destacando-se a presença da lontra (*Lutra lutra*) (Figura 7), do rato-do-cabrera (*Microtus cabreræ*) e do morcego-arborícola-gigante (*Nyctalus lasiopterus*). Existem também 11 espécies de répteis, sendo a cobra-de-água-viperina (*Natrix maura*), a lagartixa-ibérica (*Podarcis hispanica*) (Figura 11) e a lagartixa-do-mato (*Psammotromus algirus*), as espécies mais comuns. Há 13 espécies de anfíbios que são avistados com mais frequência no Outono e Primavera, sendo em maior número a rã-verde (*Rana perezi*) (Figura 8), o tritão-marmorado (*Triturus marmoratus*) e a salamandra-de-costelas-salientes (*Pleurodeles waltl*) (Figura 9). Há 16 espécies de peixes, que são endémicos lusitânicos, tais como, a boga portuguesa (*Chondrostoma lusitanicum*) (Figura 10) e o ruivaco (*Rutilus macrolepidotus*). Existe também uma grande diversidade de insetos, que representam os principais componentes fitófagos, saprófagos e xilófagos, incluindo predadores e parasitóides (Raposo et al., 2006). Não se pode deixar de fazer referência à existência de fataça (*Lisa ramada*) e de enguia (*Anguilla anguilla*), ambas com grande interesse a nível comercial (Cardoso e Rosado, 1998).



Figura 7 - Lontra (*Lutra lutra*)  
(geralforum, 2010)



Figura 8 - Rã-verde (*Rana perezi*) (flickr, sd)



Figura 9 - Salamandra-de-costelas-salientes (*Pleurodeles waltl*) (Caiada, 2010)



Figura 10 - Boga-Portuguesa (*Chondrostoma lusitanicum*) (Webpesca, sd)



Figura 11 - Lagartixa-ibérica (*Podarcis hispanica*) (Museu CMManteigas, sd)

A Reserva Natural do Paul do Boquilobo abriga um grande número de espécies de aves mais do que qualquer outro lugar em Portugal (Curado, sd).

Enquanto zona húmida, o seu valor de conservação encontra-se relacionado com um grande número de espécies aquáticas.

A RNPB proporciona boas condições de refúgio, alimentação, descanso, reprodução e hibernação de várias espécies de aves migradoras (Curado, sd).

As garças, os colhereiros e as cegonhas começam a chegar de África em Fevereiro/Março e permanecem na Reserva até Agosto (Raposo et al., 2006). Na colónia central nidificam a garça-boieira (*Bubulcus ibis*) (Figura 12), a garça-branca-pequena (*Egretta garzetta*), a garça-noturna (*Nycticorax nycticorax*) (Figura 13) e o colhereiro (*Platalea leucorodia*) (Hugo e Mónica, 2006). Para a garça-noturna (*Nycticorax nycticorax*) e o colhereiro (*Platalea leucorodia*) a RNPB constitui um dos poucos locais de reprodução do país, apresentando, assim, as maiores populações nidificantes, ambas consideradas como vulneráveis no Livro Vermelho de Vertebrados de Portugal (Raposo et al., 2006). Esta



colónia, até há bem pouco tempo, era a única onde se tinha conhecimento da nidificação, embora esporádica, de papa-ratos (*Ardeola ralloides*) (Figura 14) em Portugal (Cardoso e Rosado, 1998).



Figura 12 - Garça-boieira (*Bubulcus ibis*)  
(Rodrigues, sd)



Figura 13 - Garça-noturna (*Nycticorax nycticorax*) (Paris, 2011)



Figura 14 – Papa-ratos (*Ardeola ralloides*) (Olivença, 2015)

Depois da sua ausência, que se supõe ter sido de 30 anos, em 1989, o colhereiro voltou como nidificante à Reserva, tendo o número de casais aumentado desde então (Cardoso e Rosado, 1998).

Por vezes na Reserva observam-se garças-reais ou garças-cinzentas (*Ardea cinerea*) (Figura 15) durante todo o ano, esta espécie não nidifica no Paul, sendo sobretudo invernante (Cardoso e Rosado, 1998).

Na parte da RBPB denominada Braço do Cortiço, nidificam duas espécies de garça, o garçote (*Ixobrychus minutus*) (Figura 16) e a garça-vermelha (*Ardea purpurea*) (Figura 17), que preferem nidificar em espaços mais recônditos longe das confusões da colónia. Estas espécies por vezes passam despercebidas entre a vegetação sendo por isso de difícil

observação por parte dos visitantes que apenas as conseguem vislumbrar quando estas levantam voo ou se movimentam entre o bunho ou o caniço (Cardoso e Rosado, 1998).

Uma vez que no Paul existem sete espécies de garça e uma de colhereiro, torna-se inevitável a sobreposição dos seus nichos ecológicos. A evolução fez com que muitas destas espécies desenvolvessem diversas características morfológicas particulares, do bico à cor da plumagem. Como consequência, as espécies distribuem-se espacialmente de acordo com o tipo de alimentação e com a presença ou ausência de vegetação. A garça-branca-pequena e o colhereiro alimentam-se em bandos, em zonas abertas, pouco profundas e isoladas ao longo dos vales e rios.

A garça-vermelha, a garça-real e a garça-noturna, preferem alimentar-se isoladas à espera das presas entre a vegetação. Como o nome indica, a garça-noturna alimenta-se durante a noite de forma a diminuir a competição com outras espécies de garças, no entanto podem ser vistas aves desta espécie a deixar a colónia durante o dia. Já o colhereiro apresenta o bico em forma de espátula, que o ajuda na procura das presas enquanto varre a coluna de água de um lado para o outro. A alimentação em grupos facilita a captura de presas, visto que uma presa ao ser detetada tem maior probabilidade de ser ingerida por uma das aves, tornado a pesca mais eficiente (Raposo *et al.*, 2006).



Figura 15 - Garças-cinzentas (*Ardea cinerea*)  
(digital, 2012)



Figura 16 - Garçote (*Ixobrychus minutus*)  
(ICNF, sd)





Figura 17 - Garça vermelha (*Ardea purpurea*) (Correia, sd)

Na parte central da Reserva Natural predominam os habitats naturais ou seminaturais, já as principais linhas de água revestem-se de galerias ripícolas arbóreas, como salgueiros, freixos e choupos. Nas planícies, zonas inundáveis, dominam espécies de portes arbustivos como bunho, caniço, tabúia e arrelvados rasteiros de graminhão.

Na zona húmida dominam comunidades herbáceas de graminhão (*Paspalum paspalodes*); mal-casada (*Polygonum amphibium*) (Figura 18); comunidades arbustivas de caniço (*Phragmites australis*); comunidades arbóreas de borrazeiras (*Salix salvifolia* ssp. *Salvifolia* e *Salix atrocinerea*), salgueiros (*Salix neotricha*, *Salix alba* e *fragilis*) e choupos (*Populus nigra*) (Figura 20); comunidades arbóreas de freixos (*Fraxinus angustifolia*) e choupos (*Populus nigra*), na sua maioria ao longo das margens dos cursos de água; e as comunidades arbustivas de madressilva (*Lonicera periclymenum* ssp. *hispania*) e silvas (*Rubus ulmifolius*), que resultam da destruição de bosques ripícolas.

Nas zonas de transição para as zonas húmidas e nos terraços fluviais, é de referir uma pequena área com características mediterrânicas, com sobreiro (*Quercus suber*), zambujeiro (*Olea europea* var. *sylvestris*), azinheira (*Quercus rotundifolia*), carvalho-cerquinho (*Quercus faginea*), abrunheiro-bravo (*Prunus spinosa* ssp. *Institiodes*), rosilha-pequena (*Cistus crispus*), murta (*Myrtus communis*), roseira-brava (*Rosa sempervirens*), gilbardeira (*Ruscus aculeatus*), aderno (*Phillyrea latifolia*), aderno-bastardo (*Rhamnus alaternos*) e pilriteiro (*Crataegus monogyna* ssp. *brevispina*).

As principais espécies arbóreas são o salgueiro-branco (*Salix alba*), o salgueiro-preto (*S. atrocinerea*), a borrazeira-branca (*Salix salvifolia*), salgueiro-frágil (*Salix fragilis*) e o álamo (*Populus nigra*).

Como espécies endémicas incluídas no Livro Vermelho das Plantas de Portugal, destaque-se, a borrazeira-branca (*Salix salvifolia*), o abrunheiro-bravo (*Prunus spinosa* ssp. *institioides*), a gilbardeira (*Ruscus aculeatus*) e as campainhas-amarelas (*Narcissus bulbocodium*).

É de referir também a recente descoberta de uma população de *Narcissus fernandesii* (Figura 19), um endémico ibérico, considerado ameaçado. Esta população é considerada atualmente como o maior núcleo desta espécie dentro de uma área protegida e o segundo maior de todo o território nacional.



Figura 18 - Mal-casada  
(*Polygonum amphibium*) (florevirtuelle, sd)



Figura 19 - *Narcissus fernandesii*  
(Pereira e Vieira, sd)



Figura 20 - Choupo (*Populus nigra*) (Eduardo, 2009)



No que diz respeito a espécies não autóctones (as que adquirem um comportamento infestante, aproveitando as condições especiais do meio e da abundância de nutrientes), como é o caso do jacinto-de-água (*Eichornia crassipes*) (Figura 21), do carrapiço (*Xanthium strumarium*) e do malvão (*Abutilon theophrasti*) e a estrela-comum (*Aster squamatus*) (Raposo et al., 2006).



Figura 21 - Jacinto-de-água (*Eichornia crassipes*) (Santos, sd)

### 1.3.2. Geologia, Hidrologia e Clima

O Paul do Boquilobo localiza-se sobre depósitos Quaternários da Bacia Mesocenosóica do Tejo. Nele estão situados aluviões Olocénicos, terraços fluviais Plistocénicos designados por Charneca (cotas mais elevadas) ou Espargal (cotas mais baixas) (ICNF, sd).

Os terrenos da área protegida são maioritariamente calcário de textura mediana, juntamente com lençóis freáticos com profundidades de 10m. A parte central da Reserva tem maior foco na conservação da Natureza, tendo solos com grandes limitações para a agricultura devido a um excesso de água. À volta da zona central, existem solos classificados, em termos de aproveitamento agrológico, mais ainda assim com limitações devido também ao seu alagamento. Os solos de aluvião muito férteis são pouco significativos no que toca à área total da reserva, mas ainda assim são cobertos por cheias

com um período de retorno inferior a 10 anos. (ICNF, 2015) Na transição para os terraços fluviais, é mais comum a existência de solos com textura arenosa a franco arenoso, pedregosos com seixos rolados, designados por cascalheiras (ICNF, sd).

Ao chegarmos às zonas mais elevadas da Reserva (terraços fluviais), apresentam um solo mediterrânico, não calcários, para-hidromórficos de arenitos (ICNF, sd).

Relativamente à hidrologia a dinâmica hídrica do Paul inicia-se após as primeiras chuvas (Outubro), aumentando consideravelmente o nível da água. Até maio os níveis de água são muito elevados, observando uma redução dos níveis após o início das atividades agrícolas na primavera devido à captação subterrânea de água. Em anos húmidos a área inundada cobre totalmente a área protegida à exceção de algumas zonas mais elevadas, enquanto em anos secos a área alagada é muito menor (ICNF, sd).

A Reserva tem 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. Por sua vez, a agricultura intensiva com recurso a captação de vastas quantidades de água, constitui uma ameaça a este tipo de sistema (ICNF, sd).

Em relação ao clima, este apresenta uma transição entre as condições mediterrânicas e atlânticas, sendo por isso um clima muito húmido, com temperaturas médias e uma grande escassez de água no verão (ICNF, sd)

## **Capítulo 2 - Análises Físico-Químicas e Microbiológicas**

**Resumo:** Neste capítulo são descritos os parâmetros que foram analisados e apresentam-se os resultados dessas análises.





## 2.1. Introdução

Todos nós sabemos que a água é um bem essencial à vida, no entanto muitos de nós só agora começam a compreender a verdadeira importância da água no seu dia-a-dia e o impacto que esta tem nas suas vidas. Desde a indústria alimentar à energética, dos transportes ao lazer, a água é um elemento central do qual praticamente todos os produtos que usamos diariamente, direta ou indiretamente, dependem.

De toda a água existente na Terra apenas cerca de 3% é água doce sendo a restante salgada e portanto imprópria para consumo. No entanto, grande parte desta água doce encontra-se retida, sobre a forma de gelo, nos Pólos e glaciares, e portanto inacessível ao Homem. Assim sendo, todas as necessidades de água doce a nível mundial devem ser colmatadas apenas com um sexto do total de água doce disponível na Terra (WBCSD, 2009). Na figura 22 podemos verificar como se distribui essa água doce disponível.

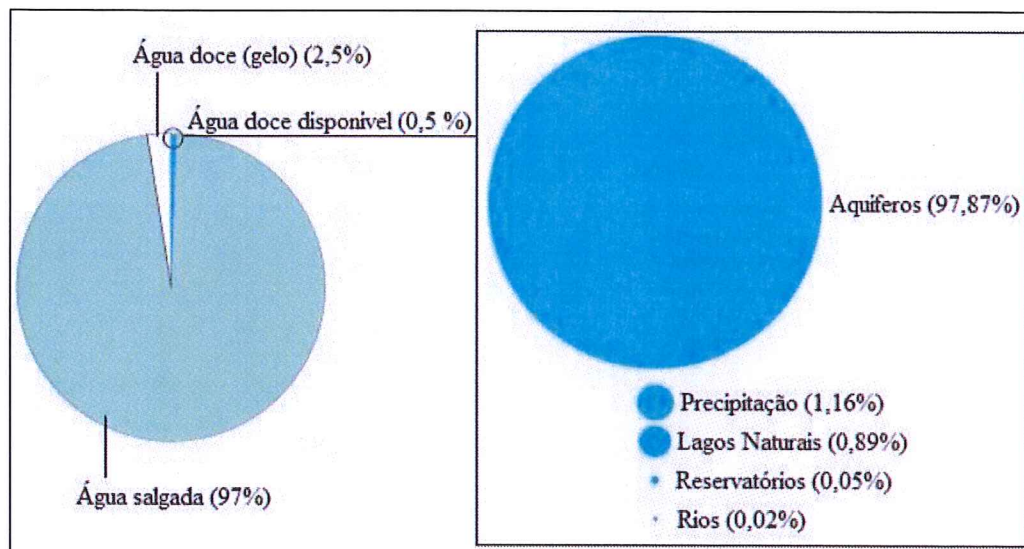


Figura22 - Distribuição da água doce disponível na Terra (adaptado de WBCSD, 2009)

Para além da pouca disponibilidade de água doce no nosso planeta, outra das grandes preocupações prende-se com a qualidade dessa mesma água. O conceito de qualidade da água é relativo, já que depende do uso a que se destina ou do objetivo do seu utilizador. Assim, a qualidade da água pode ser definida, para fins específicos, como o conjunto de características físicas, químicas e biológicas adequadas à sua utilização para determinado propósito. Para cada uso da água é pois necessário estabelecer as exigências relativas à sua qualidade, isto é, definir parâmetros de qualidade e estabelecer os seus valores-limite (Abelho, 2013).

A qualidade natural da água, quer seja subterrânea quer seja superficial, está intimamente relacionada com aos tipos de terrenos por onde circula. No entanto as águas superficiais têm maiores probabilidades de serem poluídas, em resultado das atividades humanas (Reis, 2003). A qualidade da água tende a degradar-se progressivamente com as intervenções humanas, tais como alterações hidrológicas, alterações no uso da terra, uso de fertilizantes e outros produtos químicos, e outras ações que podem levar a alterações das propriedades físico-químicas da água. Todas estas perturbações podem levar a uma série de problemas ambientais, como por exemplo, a falta de água potável, a deterioração dos sistemas aquáticos, e o surgimento de doenças endémicas. Contudo a maior consciência e exigência da comunidade relativamente à qualidade da água, tem levado a que existam cada vez mais estudos que controlem e garantam essa mesma qualidade (Xin *et al.*, 2015).

A avaliação da qualidade da água baseia-se geralmente na medição de parâmetros físico-químicos e biológicos. Para a determinação da qualidade das águas em estudo neste projeto analisaram-se os seguintes parâmetros físico-químicos:

- pH;
- Temperatura;
- Condutividade;
- Oxigénio Dissolvido;
- Fosfatos;
- Nitratos;
- Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO);
- Carência Química de Oxigénio (CQO);
- Sólidos Totais (ST);
- Sólidos Dissolvidos Totais (SDT);
- Sólidos Suspensos Totais (SST).

Realizaram-se também análises microbiológicas em que foram analisados os seguintes parâmetros:

- Microrganismos Cultiváveis;
- Bactérias Coliformes e *Escherichia coli*;
- Enterococos Intestinais.



## 2.2. Recolha de Amostras

Os locais de recolha das amostras de água para a realização das análises físico-químicas e microbiológicas foram os mesmos do ano 2014 e encontram-se representados na figura 23.



Figura 23 - Mapa da reserva com os locais de amostragem

A recolha de uma amostra de água é uma operação delicada e que requer um grande cuidado uma vez que pode influenciar os resultados analíticos e posteriormente, as conclusões que se possam retirar da interpretação desses mesmos resultados. Para que os resultados de um estudo de qualidade da água seja credível e conclusivo, é fundamental desenvolver e adotar técnicas de amostragem adequadas, garantindo sempre que a amostra recolhida é representativa do sistema aquático em estudo (APA, sd). Assim sendo, a amostra de água a ser analisada deve ser recolhida de modo correto, em recipiente adequado e o seu transporte desde o local de amostragem até ao laboratório deve ser realizado em condições de conservação apropriadas procurando evitar qualquer alteração das propriedades dessa água.

A escolha do tipo de recipientes a ser utilizados na recolha das amostras de água, a sua prévia preparação e limpeza, bem como o seu manuseamento na recolha e posterior transporte e armazenamento, depende fundamentalmente dos parâmetros que se pretendem analisar. Assim a preparação e o tipo de recipiente no qual se recolheu a amostra difere caso se pretenda realizar uma análise á concentração de fosfatos ou por outro lado á concentração de nitratos. Independentemente do tipo de recipiente escolhido, existe algo que deve ser comum a todos eles, que é a sua devida identificação. Todos os recipientes devem, pelo menos, estar identificados com os parâmetros ou grupo de parâmetros a analisar, local, data e hora da recolha.

Apresenta-se de seguida, e de acordo com parâmetros a analisar, os vários tipos de recipientes utilizados, a sua prévia preparação e procedimento de amostragem (Greenberg *et al.*, 1992)

Tendo em vista a análise ao oxigénio dissolvido, nitratos, CBO, CQO, ST, SDT e SST, a recolha da amostra foi efetuada em garrafas de plástico de 1,5 L. Antes de recolher a amostra efetuam-se duas lavagens às garrafas, mergulhando-as de seguida debaixo de água. De seguida, e sem deixar entrar ar, devem encher-se totalmente as garrafas com a amostra rolando as mesmas ainda dentro de água.

Já para a análise aos fosfatos a amostra foi recolhida em frascos de Schott de 50 mL que foram previamente lavados em laboratório com ácido nítrico e água destilada. O procedimento de recolha da amostra é idêntico ao dos parâmetros anteriores.

A recolha de amostra para a realização das análises microbiológicas efetuou-se utilizando frascos de Schott de 50 mL previamente esterilizados. Os frascos devem estar bem fechados até ao momento da recolha, altura na qual devem ser mergulhados 20 cm abaixo da superfície da água em sentido contrário ao da corrente. Ao recolher a amostra, e antes de fechar os frascos, deve garantir-se que estes não se encontram completamente cheios permitindo assim uma boa homogeneização da mistura e um bom fornecimento de oxigénio aos microrganismos presentes na amostra (Greenberg *et al.*, 1992).

Após a recolha, todas as amostras foram colocadas em malas térmicas com placas de gelo, de forma preservar todas as propriedades da água em estudo durante o transporte até ao laboratório.



Nos locais de recolha efetuou-se também a medição do pH, temperatura, sólidos dissolvidos totais e condutividade da água. Estas medições efetuaram-se *in situ* uma vez que os valores destes parâmetros podem apresentar uma grande variabilidade em função do tempo e das condições climatéricas (Greenberg *et al.*, 1992). Na realização destas medições *in situ* recorreu-se a um aparelho de medição da marca Hanna Instruments modelo HI 98129, que foi previamente calibrado antes da sua utilização.

## 2.3. Parâmetros Físico-Químicos Analisados

### pH

O pH ou potencial de hidrogénio permite determinar se um meio é neutro, ácido ou alcalino e em que grau. Matematicamente define-se como o logaritmo decimal do inverso da concentração de iões livres de hidrogénio (Chang, 1994). A molécula de água, H<sub>2</sub>O, dissocia-se em iões H<sup>+</sup> e OH<sup>-</sup>, que reagem com outras substâncias dissolvidas na água, podendo ficar um deles em excesso. Assim quando existe uma maior concentração de iões H<sup>+</sup>, a água é dita ácida, caso contrário, a água é alcalina. Quando a quantidade de iões se encontra em proporções iguais, a água designa-se neutra (Aguaciclo, sd).

Os valores da escala do pH variam entre 0 (maior acidez) e 14 (maior alcalinidade), permitindo assim determinar o grau de acidez ou de alcalinidade da água. Quando estes valores são superiores a 7 a água considera-se alcalina, já para valores inferiores a 7, esta será ácida. No caso do valor de pH ser igual a 7, este indica que a água será neutra.

Os valores de pH da água adequados para que exista condições para vida aquática situam-se entre 6 e 9 (Decreto Lei nº 238/98, 1998). Valores extremos de pH prejudicam o crescimento e a reprodução dos peixes, podendo também causar episódios de elevada mortalidade nas espécies piscícolas. Por outro lado o pH da água pode determinar os efeitos tóxicos de substâncias poluentes como o alumínio, o mercúrio, o amoníaco entre outros (Nascimento, 2007).

A determinação do pH efetuou-se nos locais de amostragem, uma vez que se trata de um parâmetro que pode variar numa questão de minutos (Greenberg *et al.*, 1992)

## Temperatura

A temperatura é um parâmetro que tem grande importância no que se refere à qualidade da água, uma vez que influencia, entre outras coisas, a velocidade das reações químicas que ocorrem na água, a solubilidade dos gases ou taxa de crescimento dos microrganismos (Sousa, 2001).

A vida piscícola é bastante sensível à variação da temperatura da água, uma vez que todas as atividades fisiológicas dos peixes (respiração, digestão, reprodução, alimentação, deslocação) estão intimamente ligadas à temperatura da água. Caso exista, por exemplo, um aumento brusco na temperatura da água, isto levará a um aumento do metabolismo dos peixes e conseqüentemente a um maior consumo de oxigênio, que, devido a esse mesmo aumento, se encontrará menos dissolvido na água, podendo levar assim à morte da fauna piscícola (RAMP, sd). Para águas de salmonídeos os valores da temperatura da água devem estar entre os 10 e 21,5 C°, já no caso de águas de ciprinídeos, como é o caso que melhor se aplica às águas em estudo, esses valores devem variar entre 10 e 28 C° (Decreto Lei nº 238/98, 1998).

A temperatura da água está bastante dependente da temperatura ambiente e como consequência disso é um parâmetro que varia bastante ao longo do tempo (dia, mês, ano) (Peixoto, 2008). Assim devido a esta dependência da temperatura ambiente e à alteração rápida que pode sofrer, a temperatura da água deve ser medida no local de amostragem.

## Condutividade

A condutividade de uma água pode definir-se como a capacidade que esta tem de conduzir corrente elétrica. Esta capacidade está dependente da concentração, mobilidade e valência dos íons presentes na água. Assim, por exemplo, uma maior concentração de íons na água corresponderá a uma maior condutividade desta. De referir ainda que a correta representação da temperatura da água é um fator preponderante na medição da condutividade (Greenberg *et al.*, 1992).

A condutividade de uma água é influenciada na sua maioria por sólidos dissolvidos nesta, sendo que a sua medição permite-nos perceber qual é a carga mineral presente na água, o que pode relacionar-se estreitamente com a geologia local ou regional. Assim, em formações predominantemente graníticas a condutividade elétrica é extremamente baixa,



pois não existem sais nesse tipo de formação geológica. Pelo contrário, em solos de elevada concentração de argilas, os valores de condutividade são bastante altos (AgSolve, 2013).

A partir dos valores da condutividade da água podem retirar-se algumas conclusões relativamente à qualidade desta, pois, de uma forma geral, o aumento da condutividade indica também um aumento nos níveis de poluição dessa água. Uma água doce considerada de excelente ou boa qualidade não deve possuir uma condutividade superior a 750  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (20 C°) (Gonçalves, 2001).

### **Oxigénio Dissolvido (OD)**

O oxigénio dissolvido é um dos parâmetros que melhor consegue expressar a qualidade de um ambiente aquático. De uma forma ou de outra, todos os organismos vivos estão dependentes do oxigénio para manter a sua atividade metabólica produzindo assim energia para o seu crescimento e reprodução. Tal como acontece com todos os gases, a dissolução do oxigénio na água depende de vários fatores ambientais, sendo os principais a temperatura, a pressão atmosférica e a salinidade. Por exemplo, o aumento da temperatura da água traduz-se numa diminuição do teor de oxigénio dissolvido porque diminui a sua solubilidade e aumenta o número de microrganismos consumidores de oxigénio (Sousa, 2001).

O oxigénio dissolvido na água tem duas fontes diferentes. A primeira é o oxigénio existente na atmosfera que é transferido para a água através do processo de difusão. A outra fonte são os organismos aquáticos fotossintetizantes que produzem o oxigénio através da fotossíntese.

Em ambientes aquáticos de águas lóticas um baixo teor de oxigénio dissolvido num determinado ponto não implica que a fonte de poluição esteja próxima, geralmente ela encontra-se a montante do local de amostragem. Já em águas paradas e devido à estratificação térmica e outros fatores, os valores de oxigénio dissolvido variam com a profundidade, sendo mais elevados na superfície do que no fundo (Vieira, sd).

Para a manutenção da vida aquática aeróbica são necessários teores mínimos de oxigénio dissolvido de 2 a 5 mg/L. A concentração de oxigénio disponível mínima necessária para

sobrevivência das espécies piscícolas é de 4 mg/L para a maioria dos peixes. (FUNASA, 2014).

### **Fosfatos**

O fósforo existe em águas naturais e em águas residuais quase exclusivamente sobre a forma de fosfatos. As formas mais vulgares da ocorrência do fósforo incluem os ortofosfatos, fosfatos condensados (piro-, meta-, e outros polifosfatos) e fosfatos orgânicos. Estes podem estar presentes em solução, em partículas ou detritos, ou nos corpos de organismos aquáticos (Greenberg *et al.*, 1992).

Na sua forma elementar, o fósforo, é particularmente tóxico e sujeito a bioacumulação, sendo que a sua presença na água está relacionada com processos naturais (dissolução de rochas, decomposição de matéria orgânica, chuva) ou antropogênicos (lançamento de esgotos, detergentes, fertilizantes, pesticidas).

O fósforo é um elemento de grande importância nos sistemas aquáticos pois trata-se de um nutriente que limita o crescimento de algas e outros organismos biológicos, mas a sua presença em excesso pode levar a um processo de eutrofização das águas. Neste processo o elevado crescimento de algas, nomeadamente fitoplâncton, dificulta a penetração da luz solar na massa de água afetando a comunidade de macrófitas que servem de refúgio e alimento para muitos organismos que vivem no sistema aquático em questão. Com o aumento da biomassa algal ocorre também uma diminuição da capacidade de auto-purificação do sistema, isto é, a capacidade de reciclar a matéria orgânica diminui, levando à acumulação de detritos e sedimentos. Por fim, a eutrofização das águas pode levar a uma diminuição considerável nos níveis de oxigénio dissolvido provocando assim uma redução na biodiversidade (Odum, 1985) (João e Braz, sd).

### **Nitratos**

O azoto é um dos elementos necessários à vida e essenciais ao desenvolvimento das plantas e dos animais. Ele está presente na natureza sob forma gasosa (constituindo 80% da atmosfera), sob a forma de compostos orgânicos (proteínas e ácidos nucleicos, por exemplo) e sob a forma mineral (nitratos, entre outros) (Odum, 1988). Estas diferentes formas relacionam-se entre si pelo ciclo do azoto (Moraes, sd).



Os nitratos são um dos compostos azotados de maior importância, uma vez que são um componente essencial à formação da biomassa de plantas e animais. Por outro lado, quando se encontram em elevadas concentrações, os nitratos podem contaminar as águas superficiais levando, tal como acontece com os fosfatos, à eutrofização dos sistemas aquáticos.

As principais fontes de contaminação de água por nitratos são a produção agrícola intensiva, os resíduos domésticos e industriais, os esgotos e a poluição atmosférica por azoto (Vale, sd).

### **Carência Bioquímica de Oxigênio (CBO)**

A Carência Bioquímica de Oxigênio é um dos critérios mais utilizados para a avaliação da qualidade da água. Ele fornece informações sobre a fração biodegradável de toda a carga orgânica presente na água (Jouanneau *et al*, 2013).

O CBO é uma medida aproximada da quantidade de matéria orgânica presente numa amostra de água que pode ser oxidada aerobicamente por microrganismos. Este parâmetro representa a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica presente na água através da decomposição microbiana aeróbia a uma determinada temperatura durante um determinado período de tempo (Ahmed e Shah, 2015). Uma vez que este processo de oxidação é algo moroso, decidiu-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 ( $CBO_5^{20}$ ) (Sousa, 2001).

Valores elevados de  $CBO_5^{20}$  levam a uma diminuição dos valores de oxigênio dissolvido na água, o que pode provocar a morte da fauna piscícola e a eliminação de outros organismos aquáticos. De uma forma geral, os valores elevados deste parâmetro têm origem no lançamento de cargas orgânicas, provenientes principalmente de esgotos domésticos e industriais.

O valor máximo recomendável para o  $CBO_5^{20}$ , é de 3 e 6 mg  $O_2/L$ , respetivamente, para águas de salmonídeos e ciprinídeos (Decreto Lei nº 238/98, 1998).

### **Carência Química de Oxigênio (CQO)**

Tal como acontece com o valor de CBO, também a determinação da CQO serve como indicador da presença de matéria orgânica na água. A diferença entre CBO e CQO está na forma como a matéria orgânica presente na água é oxidada. Enquanto o CBO se refere exclusivamente à matéria orgânica oxidada por atividade dos micro-organismos, o CQO engloba, também, a oxidação da matéria orgânica através de processos químicos (FUNASA, 2014).

Elevados valores deste parâmetro contribuem também para a redução do oxigênio dissolvido na água, e conseqüentemente para todos os problemas ambientais que daí resultam e que já foram referidos anteriormente.

### **Sólidos Totais (ST), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) e Sólidos Suspensos Totais (SST)**

Os sólidos presentes nas águas correspondem a toda matéria que permanece como resíduo, após as operações de evaporação, secagem ou calcinação de uma amostra a uma determinada temperatura durante um determinado período de tempo (Piveli, sd). Os sólidos podem apresentar uma distribuição das partículas em relação ao tamanho (sólidos em suspensão e dissolvidos) e em relação à natureza química (fixos ou minerais e voláteis ou orgânicos) (Trentin e Bostelmann, 2010). Na figura 24, apresentam-se as diversas frações de sólidos presentes na água bem como, de uma forma geral, as operações que as definem.

No desenvolvimento do projeto, foram analisados os Sólidos Totais (ST), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) e Sólidos Suspensos totais (SST).

Os SDT são constituídos por partículas de diâmetro inferior a  $10^{-3}$   $\mu\text{m}$ , que permanecem em solução mesmo após a filtração e que podem alterar as propriedades física e químicas da água. Já os SST representam a quantidade de sólidos que ficam retidos num filtro de 2  $\mu\text{m}$  após um processo de filtração (FUNASA, 2014). Estas duas frações de sólidos incluem-se dentro dos ST (Greenberg *et al.*, 1992).



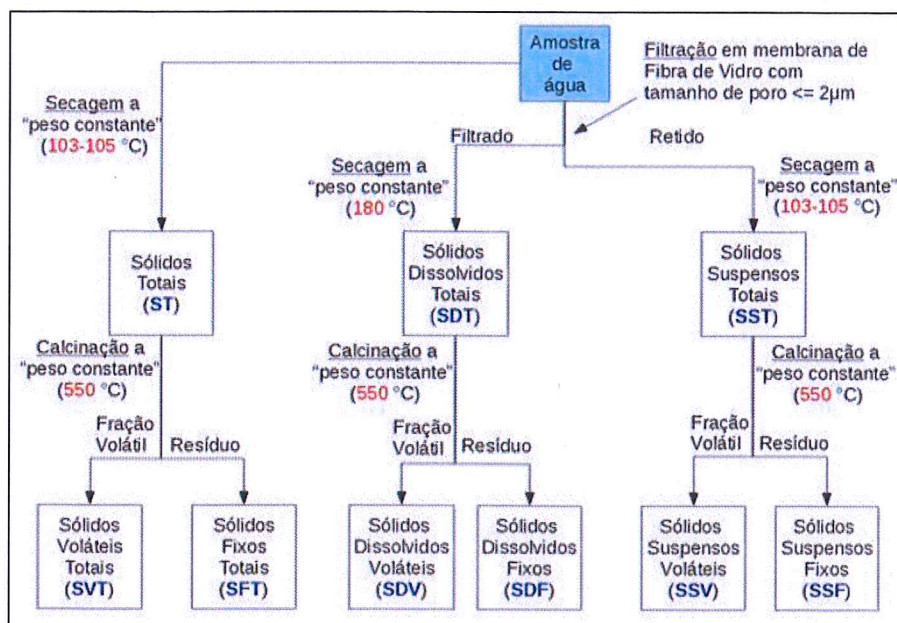


Figura 24 - Diferentes frações dos sólidos (Markos, 2001)

A determinação dos níveis de concentração das diversas frações de sólidos é uma das ferramentas utilizadas nos estudos de controle de poluição das águas naturais. A entrada de sólidos na água pode ocorrer de forma natural (processos erosivos, organismos e detritos orgânicos) ou antropogénica (lançamento de lixo e esgotos).

As principais fontes de emissão de SDT em águas são de origem agrícola e residencial, de lixiviados de contaminação do solo e de fontes pontuais de descarga de poluição das águas industriais ou estações de tratamento de esgoto. Os sólidos dissolvidos na água podem conter diferentes substâncias como o carbonato, bicarbonato, cloreto, sulfato, fosfato, nitrato, cálcio, entre outras que em concentrações elevadas podem ser prejudiciais à vida aquática (Parron *et al*, 2011).

A poluição das águas por SST podem ter um grande impacto na vida aquática, como a diminuição da incidência de luz, o aumento da sedimentação no leito dos rios e consequente destruição de organismos que fornecem alimentos podendo também danificar os locais de desova dos peixes. Os sólidos podem também reter bactérias e resíduos orgânicos no fundo dos rios, promovendo decomposição anaeróbia (Trentin e Bostelmann, 2010).

## 2.4. Análise Microbiológicas

### Microrganismos Cultiváveis

De acordo com a Norma ISO 6222:1999 consideram-se microrganismos cultiváveis todas as bactérias aeróbias, leveduras e fungos filamentosos capazes de formar colónias num meio de cultura específico sob as condições de ensaio estabelecidas.

Os principais fatores determinantes para o crescimento destes microrganismos na água são a temperatura, a disponibilidade de nutrientes, incluindo o carbono orgânico assimilável, a ausência de desinfetante e a estagnação da água (APDA, 2012).

O principal interesse da contagem de colónias presentes numa água reside na possibilidade de detetar alterações anormais em relação ao seu histórico, baseando-se num controlo frequente e a longo prazo. Um aumento repentino do número de unidades formadoras de colónias (UFC) pode significar que existe um foco de poluição na água em análise (Abelho, 2013).

A determinação de microrganismos cultiváveis presentes nas amostras de água recolhidas consiste na contagem de UFC no meio de cultura após incubação aeróbia a 22 e a 36°C. Faz-se a inoculação de um volume conhecido de amostra ou suas diluições, por homogeneização com um meio de cultura em caixas de Petri, com incubação de um conjunto de caixas a 36°C durante 44 horas e de outro conjunto a 22°C durante 68 horas. No final contam-se as colónias das caixas contáveis e faz-se o cálculo do número de UFC por mililitro da amostra.

### Bactérias Coliformes e *Escherichia coli* (*E. coli*)

As bactérias coliformes totais incluem um vasto grupo de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos. São bactérias Gram-negativas em forma de bacilo que têm a capacidade de se desenvolver na presença de sais biliares, fermentando lactose com a produção de ácido, gás e aldeído a 35-37 °C (WHO, 2011). Estas bactérias têm a capacidade de sobreviver e multiplicar-se na água, sendo um bom indicador de contaminação microbiológica em virtude da sua persistência, facilidade de deteção e correlação significativa com a presença de microrganismos indicadores de contaminação fecal como é o caso da *E. coli* (APDA, 2012).



A *Escherichia coli* e os coliformes termotolerantes são um subconjunto do grupo coliforme total que possuem também a capacidade de fermentar a lactose, mas a temperaturas mais elevadas (44-45°C). A bactéria *E. coli* pode ser diferenciada dos outros coliformes termotolerantes pela capacidade que tem de produzir indol a partir de triptofano ou por produzir a enzima  $\beta$ -glucuronidase. Esta bactéria ocorre em números bastante elevados nas fezes humanas e de animais, e embora haja alguma evidência de crescimento em solos tropicais, raramente se encontra presente na ausência de poluição fecal. Como não se multiplica em ambientes aquáticos, a sua presença em águas de consumo é um excelente indicador de poluição fecal, tendo também uma grande importância clínica por ser frequentemente um agente causador de infecções designadamente urinárias, gastrointestinais, pneumonias e septicemias (Fernandes, 2014).

Para a determinar o número de bactérias coliformes e *E. coli* procede-se à filtração de um volume de amostra através da membrana filtrante, a qual se coloca depois em meio Agar Membrana Lauril Sulfato (MLSA) e leva-se a incubar a  $36\pm 2^\circ\text{C}$  durante  $21\pm 3$  h. Após esta incubação, as colónias amarelas e laranjas observadas são consideradas típicas e são repicadas para cultura subsequente e testes de confirmação, nomeadamente o teste da oxidase e da produção de indol. Depois da realização destes testes, contabilizam-se todas as colónias que deram uma reação negativa ao teste da oxidase como bactérias coliformes e todas as colónias que deram uma reação negativa ao teste da oxidase e positiva ao teste do indol como sendo *E. coli*. Tendo em conta a contagem das colónias após a primeira incubação e a reacção a estes testes de confirmação calcula-se o número de bactérias coliformes e de *E. coli* presentes em 100 mL de água (Norma ISO 9308-1:2000).

### **Enterococos Intestinais**

Os enterococos intestinais constituem um subgrupo de um grupo de organismos definidos como estreptococos fecais (Greenberg *et al.*, 1992). Caracterizam-se por serem bactérias com a capacidade de reduzir o cloreto de 2,3,5- trifeniltetrazólio (TTC) a formazana e de hidrolisar a esculina a 44°C no meio especificado. São bactérias Gram positivas e catalase negativas, possuindo uma forma esférica-ovóide e formam geralmente cadeias (Norma ISO 7899-2:2000).

A poluição por parte destes organismos é na sua maioria de origem fecal, porém alguns deles isolados na água, podem ocasionalmente e na ausência de poluição fecal direta, ter origem noutros habitats (solo, por exemplo). A contaminação das águas acontece através de esgotos e resíduos provenientes de humanos e animais. Os enterococos intestinais têm vindo cada vez mais a ser utilizados como um indicador de patogénicos fecais uma vez que tendem a sobreviver mais tempo em ambientes aquáticos do que a *E. coli* (ou coliformes termotolerantes), sendo também mais resistentes à secagem e à desinfeção por cloro (WHO, 2011).

Para a determinação de enterococos intestinais procede-se à filtração de um volume de amostra, seguido da incubação numa caixa de Petri com meio SB a 36 °C durante 44 horas. De seguida, transfere-se a membrana sem a inverter para uma caixa de Petri contendo agar bÍlis-esculina-azida (BEA) previamente aquecido a 44°C e deixa-se incubar durante 2h. Examina-se a placa imediatamente após este período de tempo e conta-se o número de colónias que mostram um escurecimento do meio à sua volta, fazendo de seguida o cálculo do número de UFC por 100 mililitros de amostra (Norma ISO 7899-2:2000).

## 2.5. Apresentação e Discussão de Resultados

Nos gráficos da figura 25 são apresentados os valores de pH medidos em 2014 e 2015 durante o período de monitorização. Deve referir-se no entanto que apenas os valores de 2015 foram medidos nos locais de recolha, uma vez que uma avaria no aparelho de medição portátil em 2014 impossibilitou a correta medição no local, tendo-se efetuado esta medição posteriormente em laboratório.

Numa primeira análise a todos os valores do pH, verifica-se que estes se encontram entre 6,50 e 8,50, respeitando assim o Decreto-Lei nº 236/98 que define que os valores de pH de uma água com boas condições para a vida aquática do sistema biológico, devem variar entre 6 e 9. Uma vez que, com exceção de um, todos os valores de pH são superiores a 7, pode considerar-se que estamos perante águas ligeiramente alcalinas, facto que já seria expectável uma vez que as águas se encontram sobre terrenos calcários, tal como já havia sido indicado por Godinho *et al.*, 2012.



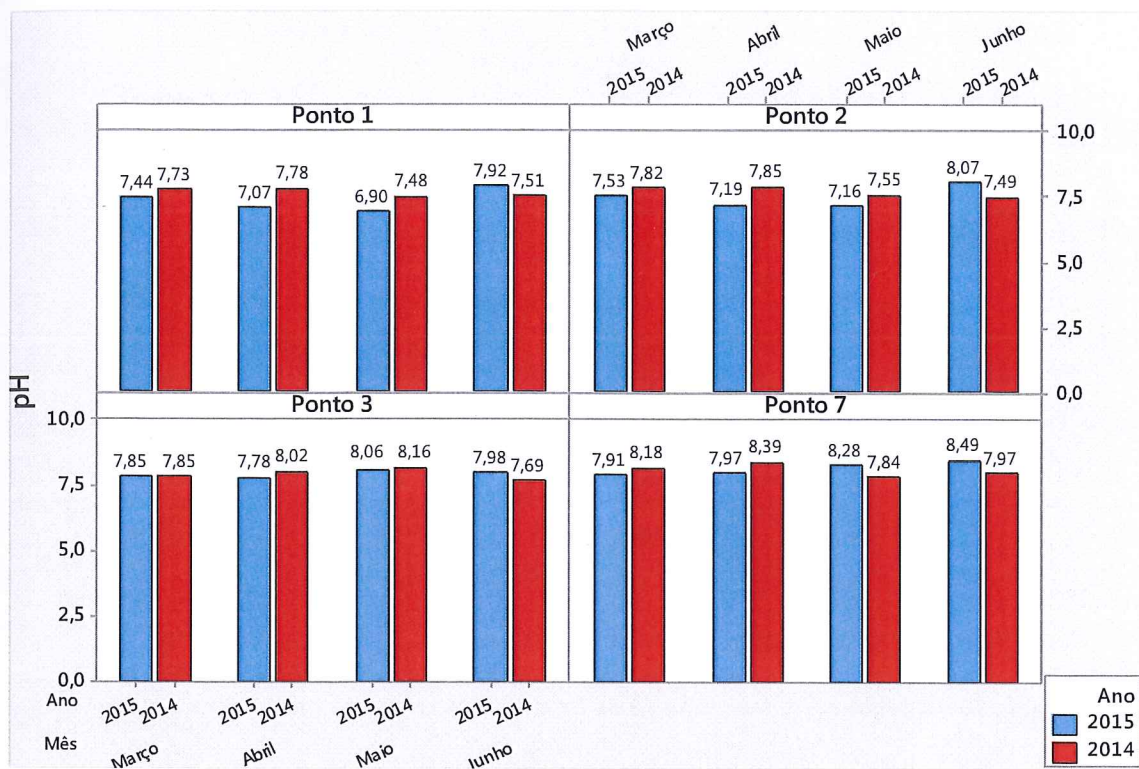


Figura 25 - Variação do pH da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)

Analisando mais detalhadamente os gráficos da figura 25, torna-se evidente que, com exceção de Maio de 2014, o ponto 7 – Limnígrafo é o que apresenta valores mais elevados de pH em cada um dos respetivos anos em análise, indicando assim a existência de uma maior concentração de carbonatos e bicarbonatos nesse ponto (Oliveira, 2007), o que se entende pelo facto de ser um ambiente lântico contrariamente a todos os outros, que são lóticos. Já os valores mais baixos de pH se encontram, em ambos os anos, nos pontos 1 – Início da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral. Nestes dois pontos, e relativamente ao ano de 2015, é possível identificar-se um aumento, ainda que ligeiro, na acidez das águas nos meses de Abril e Maio.

Fazendo uma análise ao gráfico da figura 26, percebe-se, imediatamente, que existe uma relação entre a temperatura ambiente e a temperatura da água, uma vez que nos meses em que se registaram temperaturas ambientes mais elevadas a temperatura da água também aumentou.

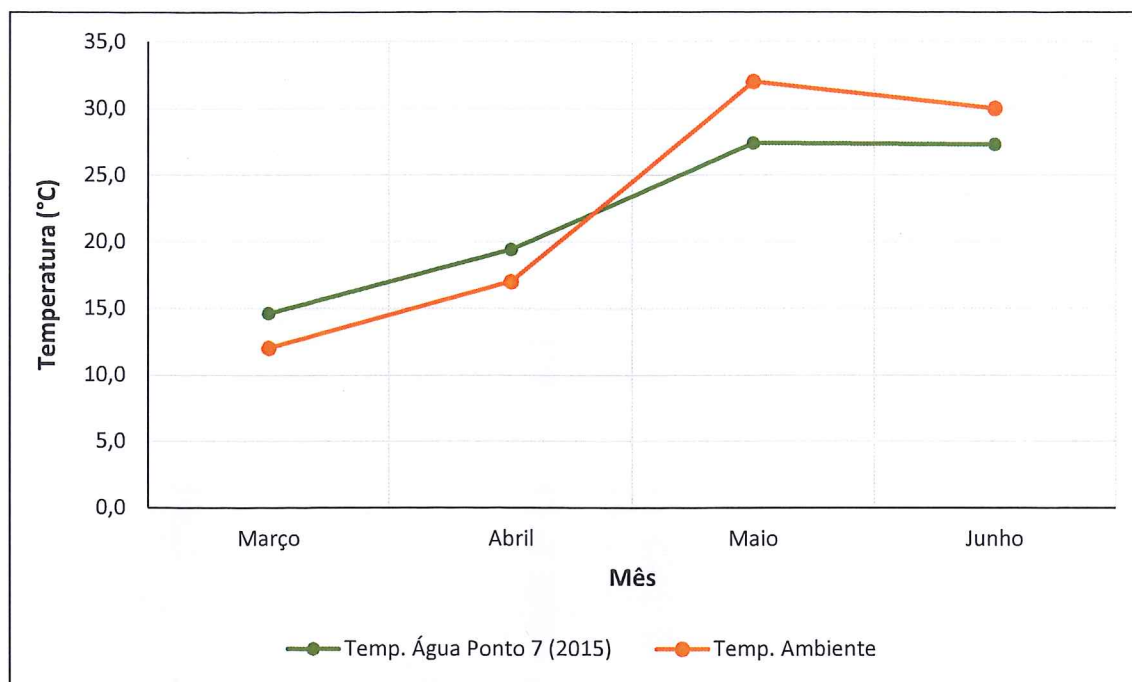


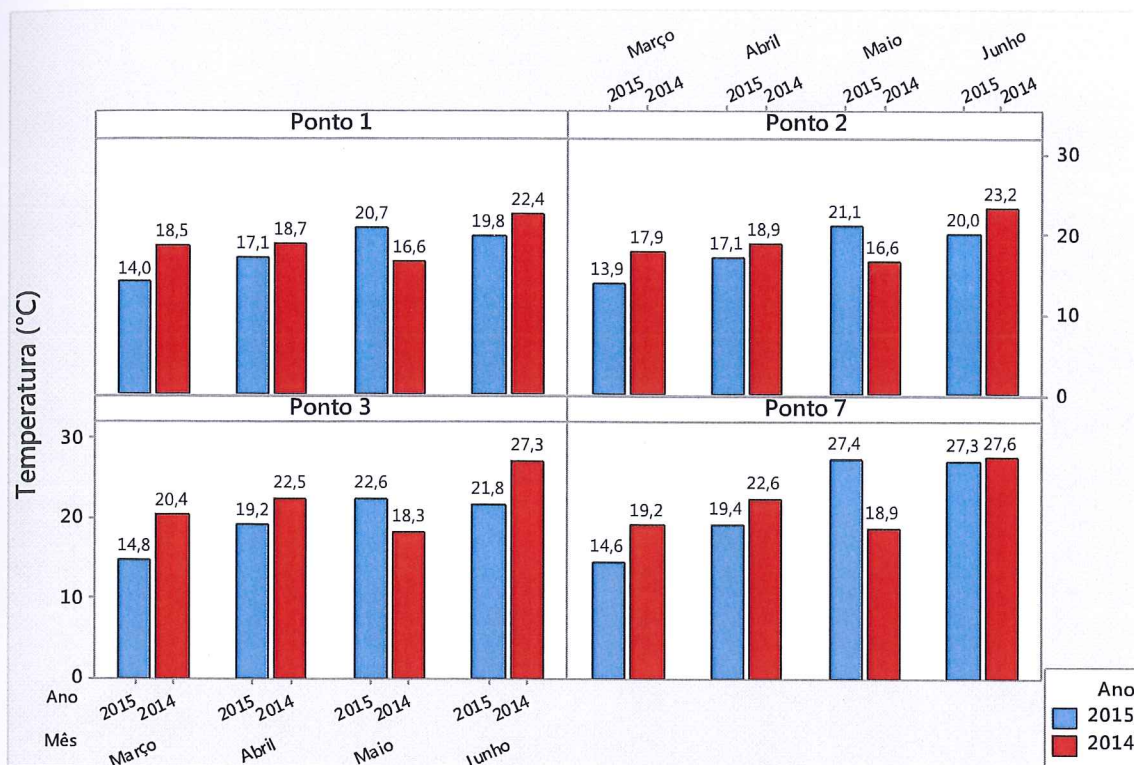
Figura 26 - Relação entre temperatura da água e temperatura ambiente para o ponto 7

Analisando os gráficos da figura 27 percebe-se que em 2014, o mês de Maio foi aquele que registou temperaturas mais baixas em todos os locais de amostragem, e que curiosamente no mesmo mês do ano seguinte registaram-se as temperaturas mais elevadas para os mesmos locais. Isto põe em evidência uma vez mais a influência da sazonalidade e condições climáticas na temperatura da água.

Verifica-se, de uma forma geral, que a temperatura da água é sempre mais elevada no ponto 7 – Limnígrafo, o que faz sentido visto tratar-se de um ambiente lântico. Podemos também perceber que existe uma grande similaridade nos valores da temperatura dos pontos 1 – Início da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral em todos os quatros meses de ambos os anos, o que se explica pela proximidade entre eles.

Os valores da condutividade das águas medidos em 2014 e 2015 encontram-se representados nos gráficos da figura 28. Pelas mesmas razões que impossibilitaram, em 2014, a medição no local do parâmetro pH, também os valores da condutividade para esse mesmo ano não foram medidos *in situ*, pelo que os valores que se encontram representados graficamente, foram determinados posteriormente em laboratório.





**Figura 27 - Variação da temperatura da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)**

Ao analisarmos os gráficos da figura 28 verifica-se que, de uma forma geral, nos primeiros dois meses de 2015 existe, apesar de não muito significativa, uma maior condutividade das águas em relação ao ano anterior. No entanto, nos dois meses seguintes em 2014 regista-se um enorme aumento da condutividade em todos os pontos. Este fenómeno resulta, possivelmente, de uma redução anormal do caudal o que leva a uma mineralização excessiva da água e conseqüentemente a uma deterioração da sua qualidade.

Em relação a 2015 e ao longo dos quatro meses de monitorização os valores da condutividade para os pontos 7 – Limnígrafo e 3 – Saída da Reserva, mantêm-se, apesar dum ligeiro aumento, praticamente constantes. Nos restantes dois pontos, embora não muito significativa, ocorre uma maior oscilação na condutividade em todos os meses.

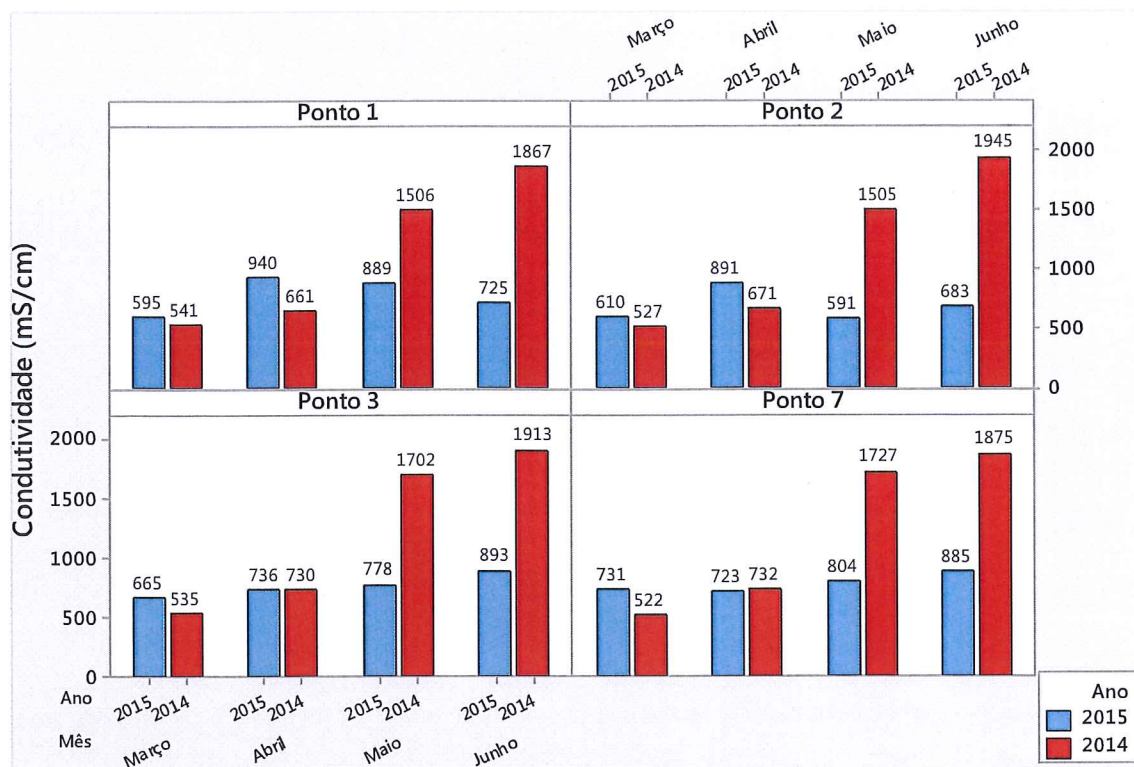


Figura 28 - Variação da condutividade da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)

A análise ao oxigénio dissolvido é uma das mais relevantes quando se pretende aferir a qualidade de uma água, uma vez que os valores deste parâmetro têm grande influência em toda a vida existente nos ambientes aquáticos. Os valores que se encontram representados graficamente na figura 29 foram todos determinados através do método de Winkler modificado. Ao analisarmos estes gráficos pode desde logo constatar-se que para todos os pontos de recolha, os valores de oxigénio dissolvido em 2014 são sempre superiores aos do ano seguinte, o que indicia um aumento da poluição neste ano de 2015. Relativamente a cada um dos anos em análise, a água do ponto 7 – Limnígrafo, com exceção de Março de 2015 para o ponto 3 – Saída da Reserva, é a que apresenta valores mais elevados de oxigénio dissolvido, o que já seria expectável uma vez tratar-se de um ambiente lântico que possui grande quantidade de organismos autotróficos, nomeadamente algas, que através da fotossíntese produzem elevadas quantidades de oxigénio. Com exceção do mês Junho dos respetivos anos, verifica-se também que os valores do ponto 2 – Entrada da Reserva Integral são sempre inferiores aos do 3 – Saída da Reserva, permitindo-nos apontar para a hipótese da RNPB poder contribuir para a depuração da água do rio Almonda.



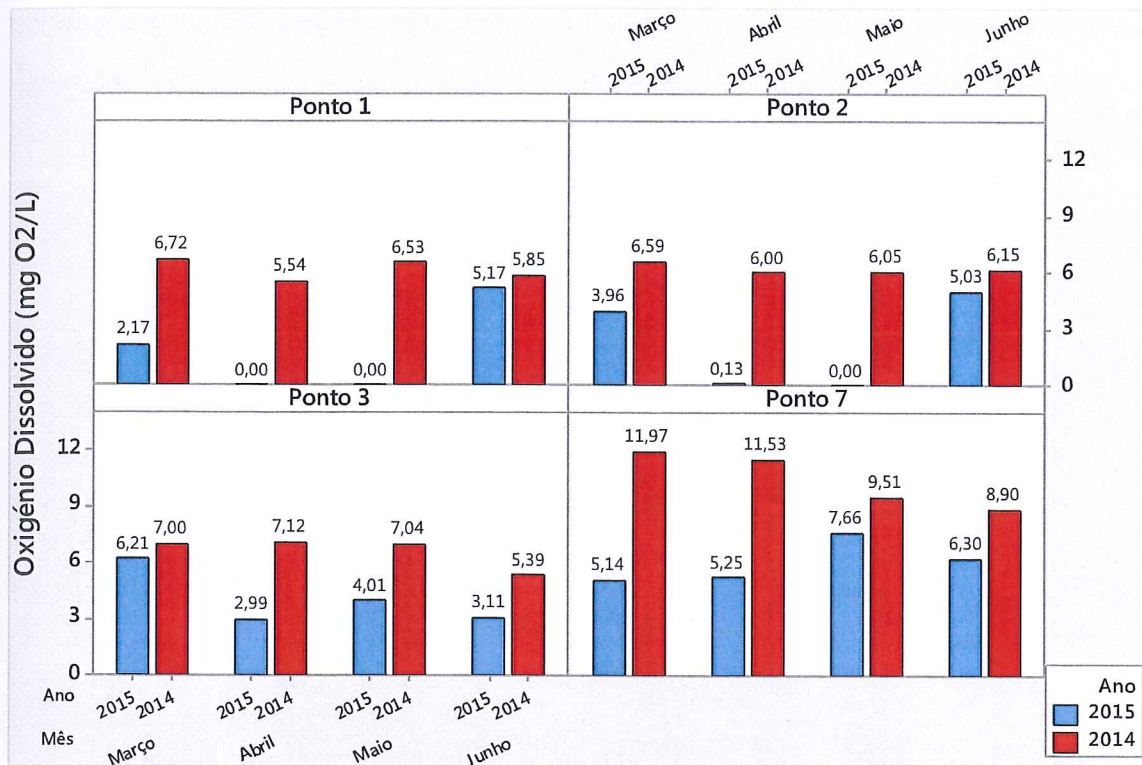


Figura 29 - Variação do oxigénio dissolvido da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)

Ao analisarmos os valores de oxigénio dissolvido relativamente a 2015, verifica-se que em Abril e Maio, nas águas recolhidas nos pontos 1 – Início da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral não existe nenhum oxigénio dissolvido que se traduz numa severa poluição do rio Almonda nestes locais, naqueles períodos. No mês seguinte, e para os mesmos pontos, os valores deste parâmetro aumentaram consideravelmente indicando que a fonte de poluição dos meses anteriores diminuiu ou deixou mesmo de existir, permitindo assim uma boa recuperação do sistema aquático.

A partir da figura 30 podemos verificar como variou a concentração de fosfatos presente nas águas recolhidas. Em 2015, e de uma forma geral, a concentração de fosfatos aumentou ligeiramente nos meses de Abril e Maio, relativamente ao mês de Março, voltando depois a diminuir no mês de Junho. Nos pontos 1 – Início da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral as águas tiveram uma maior concentração de fosfatos no mês de Abril, já nos outros dois pontos esses maiores valores de concentração ocorreram no mês seguinte. Apesar do aumento da concentração de fosfatos poder ter origem em processos naturais, este não parece ser o caso, uma vez que nos meses de Abril e Maio o rio Almonda apresentava, visivelmente e por análise de outros parâmetros, maiores níveis de poluição relativamente aos outros dois meses. Assim podemos concluir que este

aumento se deveu em grande parte à maior carga poluente existente no rio e que terá tido origem humana.

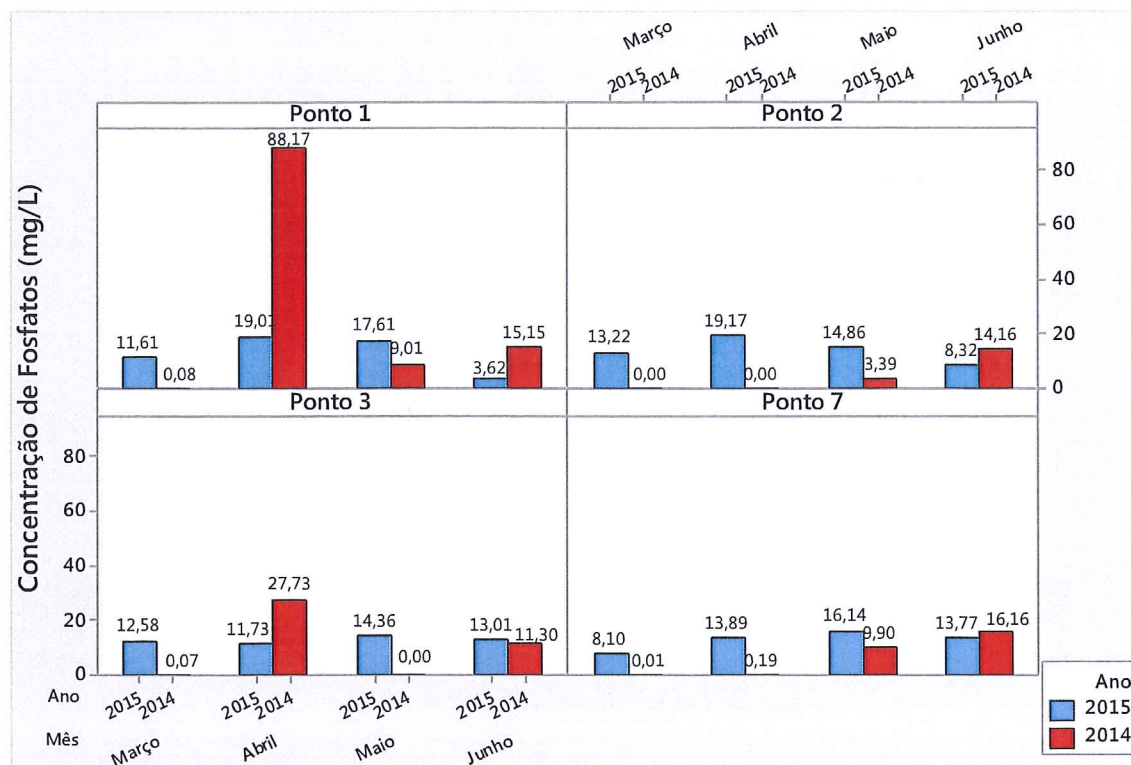


Figura 30 - Variação da concentração de fosfatos da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)

Em relação ao ano anterior, os valores de 2015 apresentam uma variação bem menor, uma vez que em 2014 a concentração de fosfatos teve bastantes oscilações ao longo do período de monitorização variando entre 0 e 90 mg/L, ao passo que no presente ano os valores variaram entre 3 e 20 mg/L.

A partir dos dados da tabela 1 e analisando apenas o ano de 2015, é possível verificar que todos os pontos, com exceção do ponto 1 – Início da Reserva, as águas apresentam no mês de Março a sua maior concentração de nitratos. No mês seguinte observa-se, em todos os pontos, um decréscimo no valor destas concentrações, sendo mesmo os valores mais baixos registados para todos os pontos, à exceção do ponto 7 – Limnígrafo que apresenta uma concentração menor no mês de Junho. No mês de Maio regista-se um aumento da concentração de nitratos em relação ao mês anterior, seguindo-se, de uma forma global, um novo decréscimo dessa concentração no mês de Junho. Resumidamente, podemos concluir que em 2015, e apesar das oscilações verificadas ao longo do período de monitorização, estas não são muito significativas, sendo que todos os valores da



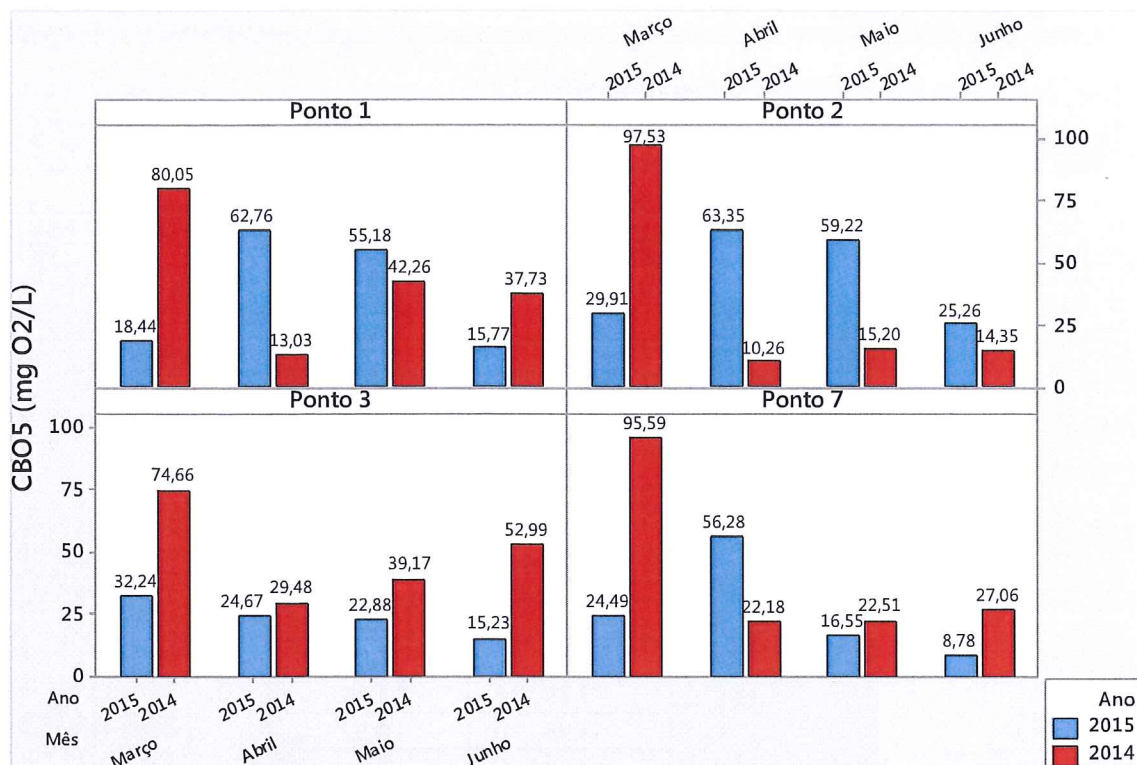
concentração de nitratos se encontram bem abaixo dos 50 mg/L permitidos por lei para águas destinadas à rega (Decreto Lei nº 238/98, 1998).

**Tabela 1-Concentração de nitratos da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)**

		Concentração de Nitratos (mg/L)	
		2014	2015
Março	Ponto 1	9,49	1,57
	Ponto 3	3,00	3,62
	Ponto 2	2,54	2,70
	Ponto 7	6,01	3,53
Abril	Ponto 1	3,07	0,14
	Ponto 3	0,00	0,40
	Ponto 2	3,46	0,23
	Ponto 7	0,00	0,40
Maio	Ponto 1	0,00	3,36
	Ponto 3	0,00	1,88
	Ponto 2	3,39	1,18
	Ponto 7	3,85	0,92
Junho	Ponto 1	346,03	1,36
	Ponto 3	336,10	1,27
	Ponto 2	168,37	1,62
	Ponto 7	147,80	0,14

Tal como acontece no presente ano, também em 2014 se verificou, nos primeiros três meses de monitorização, uma baixa concentração de nitratos. No entanto no mês de Junho observaram-se elevadas concentrações de nitratos que possivelmente tiveram origem nos fertilizantes utilizados nas culturas agrícolas adjacentes à RNPB (Ramos e Matos, 2014).

A variação do CBO<sub>5</sub> encontra-se representada graficamente na figura 31. Analisando apenas os dados relativos ao ano de 2015 observa-se que em todos os pontos, à exceção do ponto 3 – Saída da Reserva que apresenta uma baixa variação deste parâmetro ao longo dos quatro meses, existe um grande aumento no valor do CBO<sub>5</sub> entre os meses de Março e Abril, o que significa que muito provavelmente, durante este período, ocorreu uma descarga orgânica no rio Almonda a montante da RNPB. No mês seguinte estes valores mantêm-se elevados para os pontos 1 – Início da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral, havendo um grande decréscimo no ponto 7 – Limnógrafo. O mês de Junho é o que apresenta valores mais baixos para todos os pontos, o que significa que é nesse mês que a água apresenta melhor qualidade no tocante à poluição orgânica e que a fonte de poluição referida anteriormente reduziu a sua emissão ou deixou mesmo de existir.

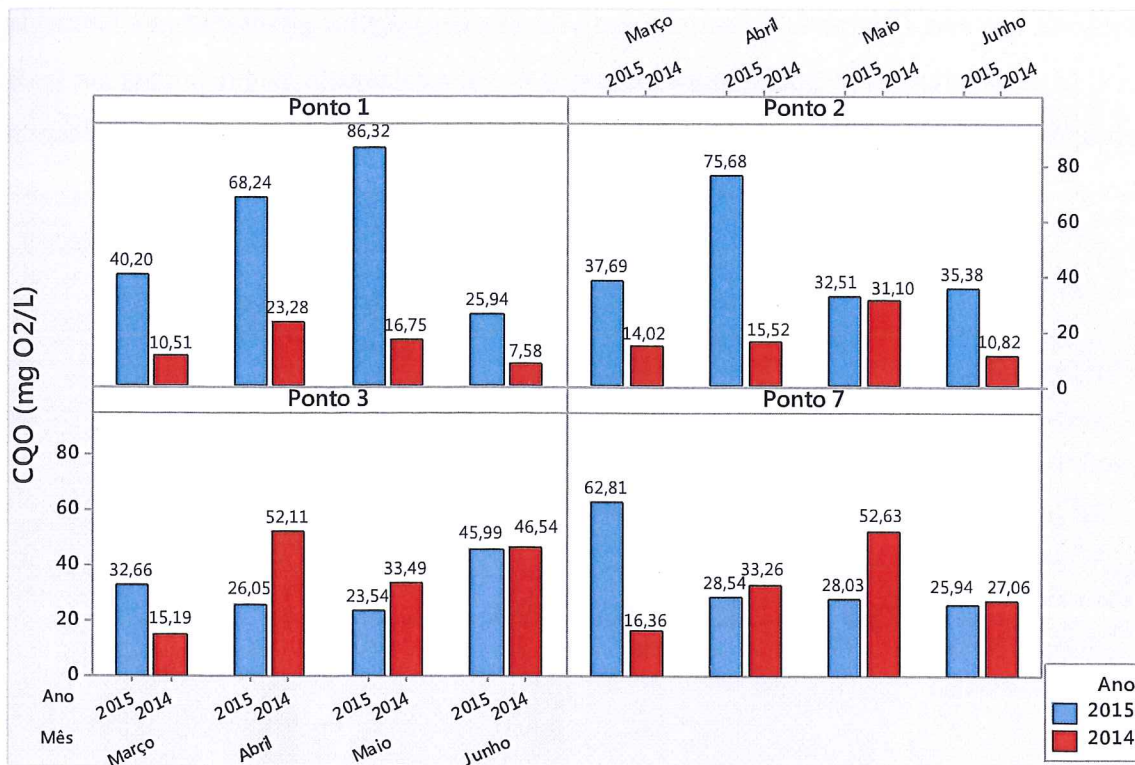


**Figura 31 - Variação de CBO<sub>5</sub> da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)**

Comparando os valores de CBO<sub>5</sub> de 2015 com os do ano anterior verifica-se, que no mês de Março de 2014 estes são bastante elevados em relação ao mesmo mês do presente ano, o que pode indicar a presença de uma grande carga orgânica nas águas. Curiosamente no mês seguinte ocorre uma inversão desses valores, isto é, em 2015 existe, à exceção do ponto 3 – Saída da Reserva, um acentuado aumento nos valores deste parâmetro, ao passo que no ano anterior se verificou um acentuado decréscimo desses mesmos valores. Nos dois meses seguintes os valores referentes a cada ponto mantêm-se próximos, com exceção do ponto 2 – Entrada da Reserva Integral que no mês de Maio apresenta valores mais díspares.

Todos os valores de CBO<sub>5</sub> referentes a 2015 encontram-se acima de 6 mg O<sub>2</sub>/L que é o valor máximo estabelecido por lei para águas piscícolas (Decreto Lei nº 238/98, 1998), situação que também se verificou no ano transato. Nos meses de Abril e Maio de 2015 os valores deste parâmetro são mesmo, nalguns pontos, superiores ao valor limite de emissão para descargas de águas residuais que é de 40 mg O<sub>2</sub>/L (Decreto Lei nº 238/98, 1998).





**Figura 32 - Variação de CQO da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)**

Fazendo uma análise aos valores de 2015 apresentados nos gráficos da figura 32, verifica-se que em Março o valor de CQO da água é de 40,20 mg O<sub>2</sub>/L para o ponto 1 – Início da Reserva, valor esse que aumenta para mais do dobro ao longo dos dois meses seguintes, provando mais uma vez que existiu de facto um episódio de contaminação das águas no mês de Abril e que se prolongou até ao mês seguinte. Em Abril também se regista no ponto 2 – Entrada da Reserva Integral um elevado aumento no valor deste parâmetro em relação ao mês anterior, valor este que no entanto volta a decrescer no mês seguinte mantendo-se constante até Junho. Já no ponto 3 – Saída da Reserva os valores não apresentam grande variação nos primeiros três meses do período de monitorização, registando-se apenas no mês de Junho um aumento considerável no valor de CQO. Em Março o ponto 7 – Limnógrafo apresenta o seu valor mais elevado (62,81 mg O<sub>2</sub>/L), verificando-se no mês seguinte uma descida desse valor para cerca de metade, o qual se mantém até Junho.

Comparando os dois anos representados graficamente, verifica-se que os valores de CQO no presente ano são, de uma forma global, superiores aos de 2014, sendo de destacar os pontos 1 – Início da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral, para os quais os valores de 2015 são sempre superiores aos do ano anterior. A partir destes dados podemos então

concluir que em 2015 existiu um aumento da matéria orgânica presente nas águas da RNPB. Deve referir-se ainda que nenhum dos valores registado em ambos os anos ultrapassou os 150 mg O<sub>2</sub>/L que é o valor limite de emissão para águas residuais (Decreto Lei n° 238/98, 1998).

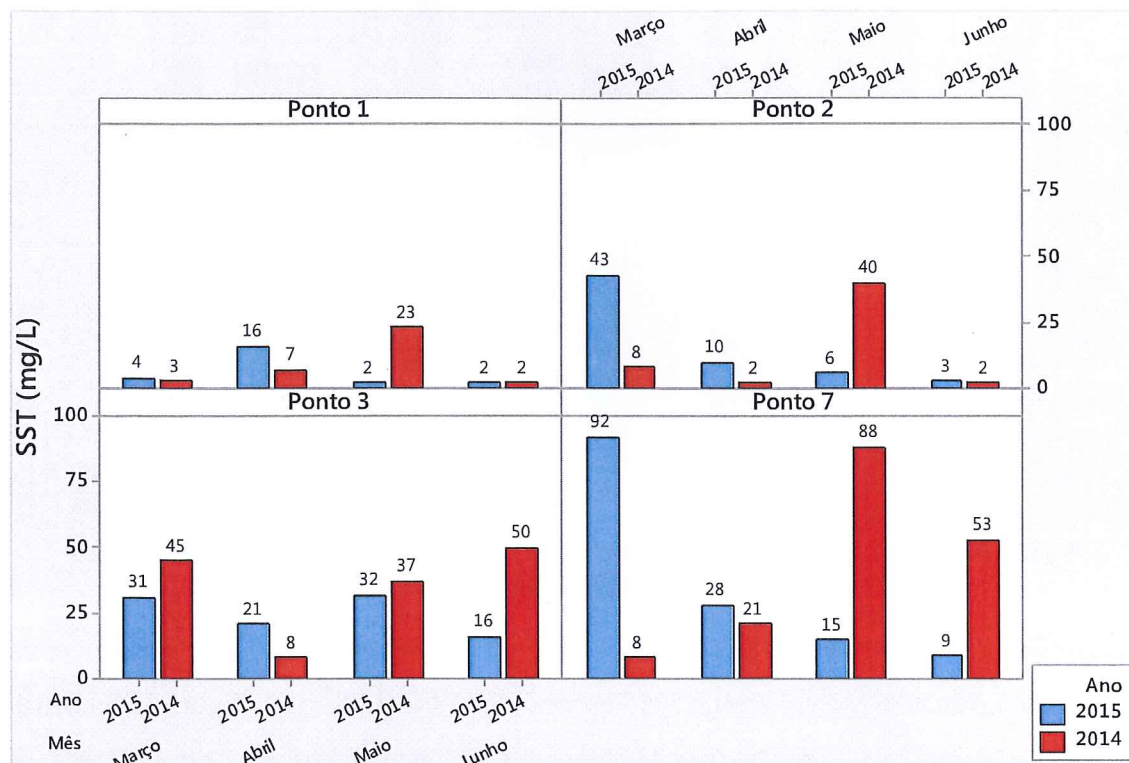


Figura 33 - Variação de sólidos suspensos totais da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)

De todos os sólidos, os que têm maior influência na qualidade da água são os sólidos suspensos totais e a sua evolução nos anos de 2014 e 2015 encontra-se representada nos gráficos da figura 33.

Em 2015 podemos observar que, de uma forma geral, os valores de sólidos suspensos totais presentes na água tendem a diminuir ao longo do período de monitorização, registando-se mesmo no mês de Junho os valores mais baixos em todos os pontos. Esta diminuição pode ser explicada pela menor precipitação registada nos dois últimos meses, o que se traduz numa redução da turbidez da água. Ainda neste ano deve destacar-se o valor bastante elevado registado no ponto 7 – Limnígrafo para o mês de Março.

Comparando os valores de 2015 com os do ano anterior, podemos constatar que em todos os pontos, os valores registados em Abril de 2015 são maiores que os registados no mesmo mês do ano transato. Já no mês seguinte os valores de 2015 são, em todos os



pontos, menores que os de 2014. Verifica-se também que apenas no ponto 1 – Início da Reserva, não se registaram valores superiores a 25 mg/L, que é o valor limite legal para águas piscícolas (Decreto Lei nº 238/98, 1998).

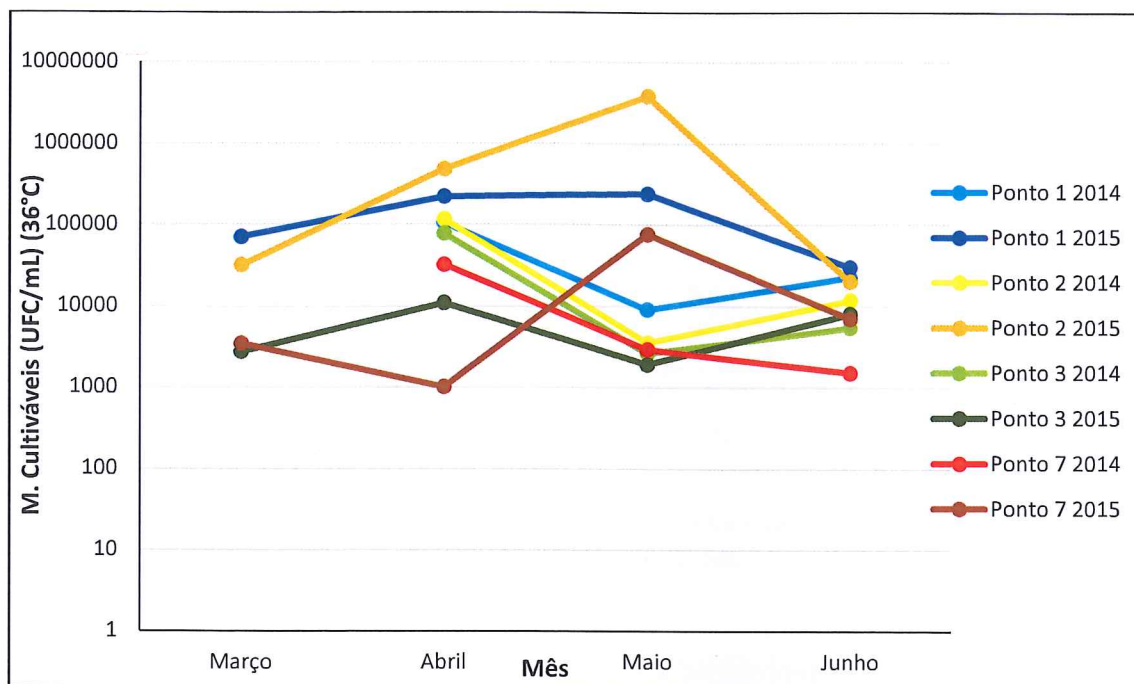


Figura 34 - Variação de microrganismos cultiváveis a 36 °C ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)

Encontra-se representado no gráfico da figura 34 o número de microrganismos cultiváveis a 36 °C presentes nas águas em estudo. De forma a conseguir representar graficamente todos os valores calculados, optou-se por usar uma escala logarítmica no eixo das ordenadas. Também deve referir-se que não são apresentados alguns valores referentes ao mês de Março devido a um problema ocorrido com o material de recolha das amostras, o que inviabilizou os ensaios laboratoriais.

Podemos perceber que em 2015 os pontos 1 – Início da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral são os que apresentam uma maior quantidade de microrganismos cultiváveis a 36 °C. Verifica-se que é no mês de Maio que, com exceção do ponto 3 – Saída da Reserva, todos os outros pontos registam o seu valor máximo de microrganismos, o que pode significar não só um aumento da temperatura da água como uma maior poluição desta (Abelho, 2015).

De uma forma geral os valores de 2015 são superiores aos registados no ano anterior, indicando assim uma degradação da qualidade microbiológica das águas.

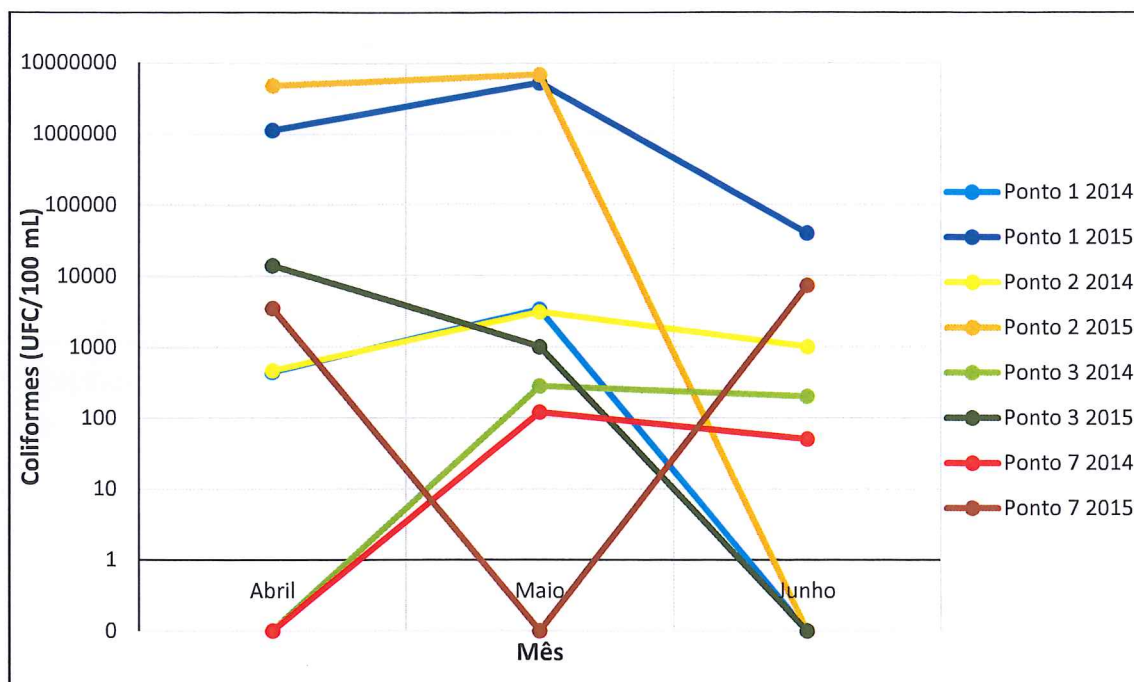


Figura 35 - Variação de coliformes totais da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)

O gráfico da figura 35 representa a quantidade de coliformes totais, que devido ao problema na recolha das amostras já referido anteriormente, não apresenta valores para o mês de Março. Tal como na representação dos microrganismos cultiváveis, também na representação dos coliformes totais teve de se recorrer a uma escala logarítmica.

Analisando os valores referentes ao ano de 2015, verifica-se que tal como acontece com os microrganismos cultiváveis a 36 °C, também é nos pontos 1 – Início da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral que o número de coliformes totais é mais elevado, confirmando assim que é nestes pontos que existe uma pior qualidade microbiológica da água.

Os valores registados este ano são superiores aos de 2014, o que, mais uma vez, indica um aumento relativo na poluição aquática daquelas águas. Este nível de poluição é ainda mais destacado se tivermos em conta que o valor máximo recomendado de coliformes totais para águas destinadas a rega que é de 100 UFC/100 mL (Decreto Lei nº 238/98, 1998), valor este que é muito inferior aos registados nos dois anos de monitorização em análise.

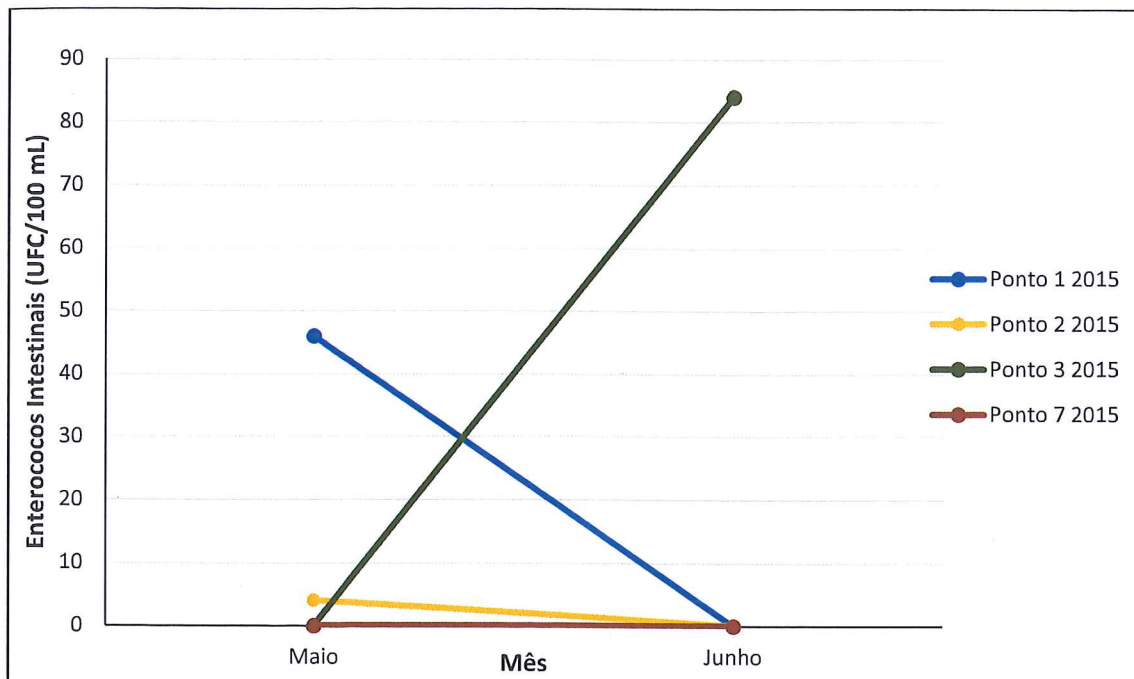


Figura 36 - Variação de enterococos da água nos 4 locais analisados ao longo dos 2 períodos de monitorização (2014 e 2015)

Este ano, para além dos parâmetros microbiológicos já discutidos anteriormente, procedeu-se também à contagem do número de enterococos intestinais presentes nas águas da RNPB. Esta contagem foi apenas realizada nos meses de Maio e Junho, e os resultados estão representados graficamente na figura 36.

Verifica-se que em Maio não foram encontrados enterococos intestinais nas águas dos pontos 3 – Saída da Reserva e 7 – Limnígrafo. No ponto 2 – Entrada da Reserva Integral registaram-se 4 UFC/100 mL de água. Já a água do ponto 1 – Início da Reserva é a que apresenta maior quantidade de enterococos intestinais, nomeadamente 46 UFC/mL de água. No mês de Junho todos os pontos registam valores nulos para a presença de enterococos com exceção do ponto 3 – Saída da Reserva, no qual se contabilizou 84 UFC/mL de água.

Uma vez que a análise a este parâmetro foi realizada pela primeira vez este ano, não existem valores de anos anteriores para que se possa perceber como evolui a qualidade da água em relação à presença de enterococos intestinais.





### **Capítulo 3 - Bioindicadores**

**Resumo:** Neste capítulo pretende-se, através da análise aos macroinvertebrados bentónicos recolhidos, fazer uma avaliação da qualidade da água da RNPB.



### 3.1. Introdução

Nas últimas décadas o aumento da população e os múltiplos usos da água pelo homem nas inúmeras atividades, domésticas, agrícolas, comerciais ou industriais, provocou alterações na qualidade dos ecossistemas aquáticos em diferentes escalas (Pereira, 2004), contribuindo significativamente para a deterioração ambiental e diminuição considerável da sua qualidade e disponibilidade.

A ação humana, através do desenvolvimento urbano-industrial e da concentração demográfica, levou à eutrofização, pesca excessiva e degradação das bacias de drenagem, influenciando as características físicas e químicas, a estrutura das comunidades e o transporte e migração de organismos nesses ambientes aquáticos.

Os processos de avaliação da qualidade da água consistiam, até aos finais do século XX, na análise de parâmetros químicos, relacionados com poluentes dissolvidos ou em suspensão, principalmente orgânicos, com origem em fontes pontuais e difusas, admitindo-se que estes estariam diretamente relacionados com o estado ecológico do ecossistema.

Estas análises, embora de grande precisão, apresentam a desvantagem de demonstrar apenas as condições instantâneas da água, não permitindo adequadamente avaliar o estado de degradação, onde não era considerada a qualidade ecológica dos ecossistemas (Birk e Hering, 2006)

Na atualidade, existem indicações nacionais e internacionais, como a Diretiva Quadro da Água (DQA), onde é recomendada a utilização de bioindicadores ecológicos de qualidade. Os bioindicadores podem ser entendidos como organismos vivos que indiciam de forma precoce a presença de alterações ambientais, sendo que esses indicadores podem identificar diversos tipos de modificações, antes que estas se agravem, determinando qual o tipo de poluição que afeta o ecossistema.

Bioindicadores são instrumentos fundamentais para mitigar o impacto humano sobre a biota e para alcançar o "desenvolvimento sustentável" declarado como um dos grandes objetivos da Convenção da Cimeira do Rio de 1992 sobre a Biodiversidade (Russo e Jones, 2015).

Bioindicadores podem ser indivíduos ou mesmo comunidades, cujas funções vitais se relacionam estreitamente com determinados fatores ambientais e que podem ser empregados como indicadores na avaliação de uma determinada área. A mudança no ambiente pode ser medida através da alteração da abundância, diversidade e composição do grupo de indicadores.

Existem diferentes tipos de Bioindicadores, entre eles destacam-se:

- Sentinelas, aquelas que são introduzidas para indicar níveis de degradação e prever ameaças no ecossistema.
- Detetores são espécies locais que respondem a mudanças ambientais de forma mensurável
- Exploradoras, as que reagem positivamente a perturbações
- Acumuladoras, as que permitem a verificação de bioacumulação
- Sensíveis, as que modificam acentuadamente o comportamento

Estas espécies ou grupos de espécies oferecem o potencial para avaliação do estado de saúde do ecossistema antes que este seja funcionalmente comprometido.

A utilização de macroinvertebrados bentônicos na avaliação dos impactes ocorrentes na bacia hidrográfica em função dos diferentes usos e ocupações do solo fornecem informações de âmbito mais ecossistémico, visto que, as comunidades destes organismos estão interligadas e as características dos locais onde vivem, como por exemplo, a qualidade da água, e as condições do entorno, entre outras, são afetadas.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade das águas da RNPB, utilizando macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores de qualidade ambiental, visando o aprimoramento de informações que contribuam para a tomada de decisões referentes à gestão, recuperação e conservação dos recursos hídricos regionais.



### 3.2. Macroinvertebrados como bioindicadores da qualidade da água

Um dos ecossistemas mais ameaçados a nível planetário e que poderá, inclusive, pôr em risco a sobrevivência da espécie humana é o aquático. A análise da qualidade da água recorre, não só à análise de parâmetros físico-químicos, como a indicadores biológicos, sendo um exemplo destas as populações de macroinvertebrados bentónicos.

Para este trabalho escolheram-se os macroinvertebrados bentónicos devido ao facto destes organismos desempenharem um papel fundamental na estrutura e funcionamento do meio em que habitam, bem como pelo reconhecimento da sua importância na avaliação da qualidade dos ecossistemas aquáticos. A utilização de macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores da qualidade da água e dos ecossistemas associados é de grande importância (Mourinha *et al.*, 2013), devido ao seu ciclo de vida relativamente extenso e migração limitada, sendo especialmente sensíveis a fatores de pressão local, tais como a pressão química, orgânica ou hidromorfológica, que se vão repercutir na estrutura das comunidades presentes.

As comunidades de macroinvertebrados bentónicos constituem numa fonte de informação importante na avaliação da integridade ecológica de ecossistemas lóticos.

Estes meios apresentam elevada sensibilidade respondendo às alterações do biótopo, tais como o tipo de substrato, a velocidade da corrente e ainda as variações da qualidade da água. Os macroinvertebrados bentónicos são constituídos por organismos que utilizam como base física o substrato de rios, lagoas, lagos, albufeiras, charcos, estuários e do mar para o seu desenvolvimento durante uma parte do seu ciclo de vida ou durante todo o seu ciclo de vida (Barnes e Mann, 1980).

Os macroinvertebrados benthicos são, como o próprio nome indica, animais macroscópicos, usualmente considerados a partir dos 0,5 mm (INAG 2008).

As espécies de macroinvertebrados apresentam uma elevada riqueza taxonómica, pertencentes a diversos filos, crustáceos, moluscos e insetos (adultos ou larvas), entre outros. Devido à sua grande diversidade de espécies, a comunidade macrobentónica apresenta diversas formas e modos de vida, adaptando-se aos habitats locais, os quais podem ser: riachos, rios, lagoas, albufeiras e represas. (Silveira, 2004).

As principais vantagens do uso de macroinvertebrados na avaliação de impactos sobre os ecossistemas aquáticos de acordo com são as seguintes (Silveira, 2004):

- Diversidade, ou seja, são um grupo bastante diverso, sensíveis a vários tipos de poluentes e distúrbios físicos (processos de erosão);
- Recolha é de baixo custo e requer aparelhos relativamente simples e baratos;
- Organismos que não possuem capacidades de locomoção, por estarem associados ao sedimento;
- Espécies com um ciclo de vida longo em relação a outros organismos, possibilitando um maior tempo de efeitos de ações antropogênicas sobre a comunidade;
- Grande diversidade de espécies e as alterações que aparecem na comunidade são facilmente detectáveis;
- Habitam diferentes habitats aquáticos.

Além das vantagens acima mencionadas existem também algumas desvantagens, tais como:

- Espécies diferentes e a taxonomia de alguns grupos não são bem conhecidas;
- Variações nas estações do ano ou das populações podem interferir na interpretação ou comparação de resultados;
- Não são sensíveis a algumas perturbações como alguns patogênicos de origem humana.

Por serem organismos considerados sedentários, os diferentes grupos não conseguem escapar a alterações ambientais adversas, são tolerantes a diferentes graus de poluição, acumulando essa informação ao longo do tempo. Pode portanto dizer-se que são eficazes bioindicadores das condições históricas de um determinado ponto (Poulton *et al.*, 2003).

A composição de espécies de macroinvertebrados bentônicos é um bom indicador da saúde dos rios, e as vantagens desses organismos como indicadores foram amplamente revistos por Rosenberg & Resh (1993). Barbour *et al.* (1999), onde apontam algumas vantagens do uso dos macroinvertebrados bentônicos na avaliação da qualidade da água: são bons indicadores das condições locais, uma vez que estes organismos apresentam



padrões de migração limitados ou são fixos; integram os efeitos das variações ambientais a curto prazo, com estágios de vida sensíveis que respondem rapidamente ao stress. Por outro lado, muitas espécies têm ciclo de vida complexo, de aproximadamente um ano ou mais e podem responder mais lentamente, sendo neste sentido considerado resistente; constituem diversos níveis tróficos e de tolerância a poluentes, fornecendo interpretações dos efeitos cumulativos dos poluentes na cadeia trófica e ainda são abundantes em muitos rios.

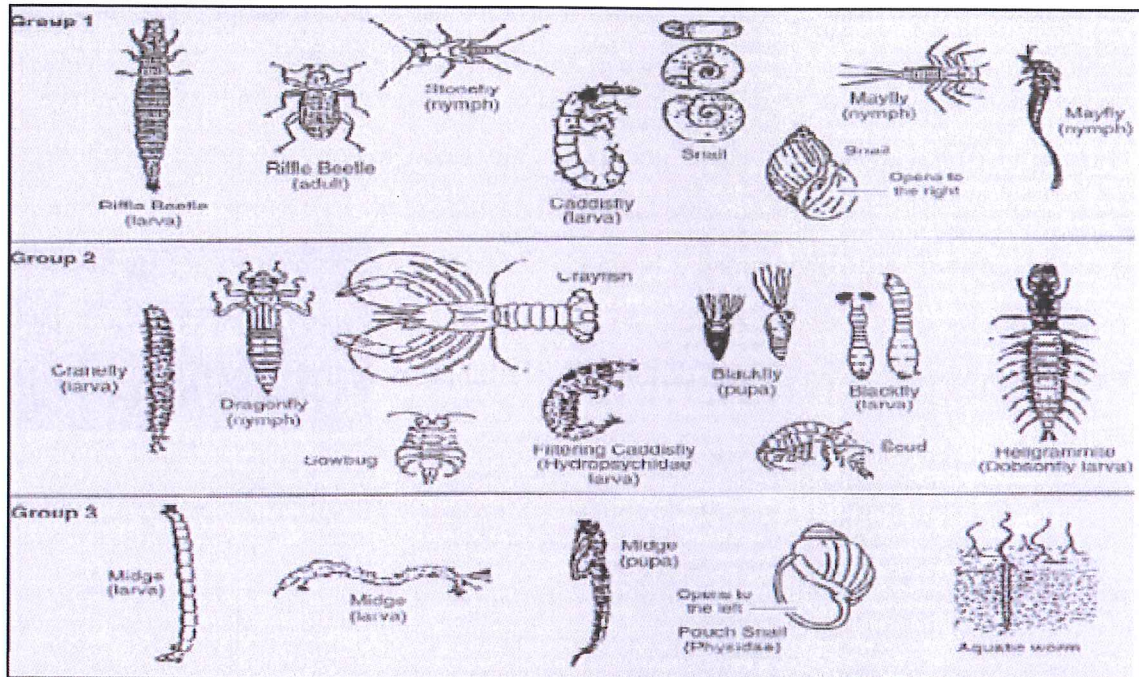


Figura 37 – Espécies de macroinvertebrados bentônicos, com diferentes graus de tolerância à poluição. Grupo 1 – Organismos sensíveis à poluição; Grupo 2 – Organismos tolerantes à poluição; Grupo 3 – Organismos resistentes à poluição (ACES, sd)

Em relação à tolerância frente a adversidades ambientais, podemos classificar os macroinvertebrados bentônicos em três grupos principais:

- Organismos sensíveis ou intolerantes;
- Organismos tolerantes;
- Organismos resistentes.

O primeiro grupo é formado por ordens de insetos aquáticos tais como Ephemeroptera, Trichoptera e Plecoptera e são organismos que necessitam de elevadas concentrações de oxigênio dissolvido, normalmente encontrados em zonas de cabeceira ou rios com pouca antropização.



No segundo grupo incluem-se os moluscos, bivalves, algumas famílias de Díptera, ordens de Heteroptera, Odonata e Coleóptera. Estes organismos necessitam de uma menor quantidade de oxigénio dissolvido do que o primeiro grupo, sendo normalmente encontrados em troços intermédios de rios ou rios com alguma antropização.

O terceiro grupo é formado por larvas de Chironomidae e outros Díptera e pela classe Oligochaeta. Estes organismos são capazes de viver em condições de anóxia, sendo normalmente encontrados em troços finais de rios ou zonas com forte antropização.

Um dos fatores mais importante para que haja uma grande abundância de macroinvertebrados é a presença de alimento, particularmente onde se conhece a morfologia de canal e localização geográfica do troço é possível prever a tipologia alóctone ou autóctone da componente alimentar destas espécies (Vannote, 1980). O modo de alimentação destes organismos é bastante variado, quer em relação aos métodos de recolha de alimento quer em relação ao tamanho dos elementos ingeridos. Com base nestes critérios é feita uma divisão dos macroinvertebrados em categorias (Rocha, 2001):

- Retalhadores herbívoros – alimentam-se de partículas de tecidos vivos de plantas vasculares, com dimensão superiores a  $10^3 \mu\text{m}$ , que cortam e dividem em fragmentos mais pequenos;
- Retalhadores detritívoros - os que se alimentam de partículas em decomposição, com dimensão superiores a  $10^3 \mu\text{m}$ , que cortam e dividem em fragmentos mais pequenos;
- Coletores filtrados – possuem adaptações (apêndices fortemente modificados, construção de casulos ou teias) que lhes permitem filtrar as partículas de restos orgânicos, elementos da microflora e microfauna, de dimensões inferiores a  $10^3 \mu\text{m}$ , que se encontram em suspensão no meio aquático;
- Coletores detritívoros – recolhem material em decomposição com dimensão inferiores a  $10^3 \mu\text{m}$ , que encontram no sedimento ou sobre o substrato;
- Raspadores minerais – têm um aparelho bucal, ligeiramente modificado que lhes permite raspar a microflora (partículas com dimensões inferiores a  $10^3 \mu\text{m}$ ), associadas as pedras e a macrófitas;
- Raspadores orgânicos – têm um aparelho bucal, ligeiramente modificado, que lhes permite raspar a microflora (partículas com dimensões inferiores a  $10^3 \mu\text{m}$ ) associada a algas.

- Predadores mastigadores – alimentam-se de outros organismos ou de partes destes;
- Predadores sugadores – têm aparelho bucal modificado que lhes permite sugar células e fluidos tecidulares de outros organismos;
- Limnívoros – vivem enterrados no substrato e ingerem os sedimentos, aproveitando a matéria orgânica.

As comunidades de macroinvertebrados são muito utilizadas como indicadores de qualidade das águas de sistemas lóticos nomeadamente em estudos de avaliação de impacto ambiental e monitorizações. Refira-se que na DQA, a monitorização ambiental contempla a obrigatoriedade de avaliar os elementos biológicos dos quais fazem parte não só os macroinvertebrados como também os peixes e os produtores primários (Fonseca, 2011).

### 3.3. Monitorização

A monitorização biológica ou biomonitorização consiste na quantificação e avaliação dos agentes químicos, da interação destes com o organismo nos meios biológicos (tecidos, secreções, excreções, ar expirado ou qualquer combinação destes) com objetivo de avaliar a exposição e o risco para a saúde (Hoet, 1996; Aitio e Kallio, 1999).

Para todos os programas de monitorização as frequências de amostragem estabelecidas devem permitir a obtenção de resultados com um nível aceitável de confiança e precisão.

De acordo com Alba-Tercedor (1996) os índices de qualidade biológica são ferramentas de primeira grandeza para avaliar a qualidade biológica da água, uma vez que as legislações encontram dificuldades em estabelecer limites sobre as quantidades permitidas de cada contaminante que podem ou não ser toleradas nos efluentes que vertem para os rios.

Os índices biológicos para avaliar a qualidade da água baseados em macroinvertebrados oferecem vantagens, visto serem soluções de fácil amostragem.

As variações nas comunidades bênticas são suscetíveis de serem analisadas em diferentes escalas, local, regional e global. Contudo, ainda não se compreendem as causas destas variações com total clareza, havendo apenas hipóteses sobre o tempo, estabilidade



climática, heterogeneidade espacial, distúrbios físicos do ambiente, tipo de sedimento, competição, predação e produtividade (Amorim e Castillo, 2009).

### 3.4. A Diretiva-Quadro da Água

Enquanto elemento estruturante da atividade humana, os recursos hídricos estiveram sempre associados ao desenvolvimento humano, embora apenas nos últimos anos se tenha desenvolvido a consciência plena dos limites da sua disponibilidade, ao mesmo tempo que se complica a conciliação dos valores naturais e ecológicos com as atividades humanas.

A qualidade da água constitui certamente um tema fundamental a considerar no planeamento e gestão dos recursos hídricos.

Para responder aos problemas e desafios relacionados com os recursos hídricos surgiram estruturas legislativas como a Diretiva Quadro da Água na União Europeia ou a Lei da Água em Portugal, que consolidaram uma visão de qualidade dos ecossistemas aquáticos e impuseram prazos à conservação e reabilitação destes.

Como sugerido por Marques (2010) a Diretiva pode ser entendida como “o motor de integração ecológica europeia, sendo um instrumento de harmonização e coesão que considera que os recursos naturais, por não respeitarem fronteiras, devem ser protegidos segundo as regiões que eles próprios definem naturalmente”.

Em 1996, no âmbito comunitário para a proteção das águas de superfície interiores, das águas de transição, das águas costeiras e das águas subterrâneas., iniciaram-se os trabalhos que conduziram à aprovação da Diretiva 2000/60/CE, de 23 de Outubro, ou Diretiva Quadro da Água (DQA), que entrou em vigor em Dezembro de 2000, tornando-se o principal instrumento da Política da União Europeia relativa à água.

Segundo o disposto no artigo 4º desta Diretiva, todos os estados membros têm a obrigação de proteger, melhorar e recuperar todas as massas de água de superfície com o objetivo de atingir um bom estado ecológico dessas massas de água em 2015 (CE, 2000). Os critérios para a classificação de massas de água bem como a implementação de programas de monitorização desempenham um papel chave na implementação da diretiva. Pretende-se assim determinar o afastamento dos ecossistemas do estado natural de referência. Esta



avaliação terá consequências diretas no planejamento e na gestão dos recursos hídricos, porque conhecer as potencialidades de um determinado local permite não só atribuir-lhes usos, como também realizar o seu aproveitamento de forma mais eficiente (INAG, 2008).

A classificação das massas de água permite a indexação de classes de estado baseadas no seu Estado Ecológico e no Estado Químico, sendo que para atingir um bom estado a massa de água tem de ter, no mínimo, bom estado ecológico e bom estado químico. O estado ecológico é expresso através do desvio das condições estruturais e funcionais de uma massa de água relativamente às condições, de uma massa de água do mesmo tipo, em situação de referência (INAG, 2009).

O tipo de massa de água é definido como um conjunto de massas de água com características geográficas e hidrológicas relativamente homogêneas, consideradas relevantes para a determinação das condições ecológicas.

De acordo com a DQA, o estado ecológico dos rios é caracterizado por elementos biológicos (p. ex. comunidades de macrófitos e fitobentos, macroinvertebrados bentônicos e fauna piscícola), e ainda por elementos de suporte às comunidades biológicas, físico-químicos (p. ex., temperatura, oxigênio dissolvido, nutrientes) e hidromorfológicos (p. ex., vegetação ribeirinha, caudal, profundidade) (Oliveira et al., 2007).

A DQA distingue cinco níveis de estado ecológico: Excelente, Bom, Razoável, Medíocre e Mau. O estado ecológico de cada elemento define-se pelo desvio (desvio ecológico) entre as características desses elementos numa massa de água em condições naturais (condições de referência) e as suas características quando sujeitos a uma ou várias pressões (Hering et al., 2004; Oliveira et al., 2007).

Para os elementos físico-químicos gerais devem ser estabelecidas normas ambientais com valores de fronteira para três classes de qualidade, Excelente (Máximo), Bom e Razoável.

Para ambas as características bióticas e químicas, um estado ecológico é considerado “Bom”, quando existem ligeiras modificações da composição e abundância da taxa invertebrados em comparação com as das comunidades específicas do tipo. O rácio entre taxa sensíveis e taxa insensíveis às perturbações apresenta uma ligeira modificação em relação aos níveis específicos do tipo. O nível de diversidade de taxa de invertebrados dá ligeiros sinais de modificação em relação aos níveis específicos do tipo.

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. O rácio entre taxa sensíveis e taxa insensíveis às perturbações não dá sinais de modificação em relação aos níveis não perturbados. O nível de diversidade de taxa invertebrados não dá sinais de modificação em relação aos níveis não perturbados.

Um estado ecológico é considerado “Razoável”, quando a composição e abundância dos taxa invertebrados diferem moderadamente das comunidades específicas de referência, estando ausentes grupos taxionómicos importantes das comunidade específica do tipo. O rácio entre os taxa sensíveis e os taxa insensíveis às perturbações e o nível de diversidade são substancialmente inferiores ao nível específico do tipo e significativamente inferiores aos correspondentes a um “estado bom” (Ferreiro, 2007).

Neste contexto, a avaliação do estado ecológico da água no âmbito da DQA implica a utilização de metodologias adequadas e padronizadas (Oliveira *et al.* 2007).

A DQA constitui um marco que pretende ser uma política da água moderna e adaptável aos futuros desafios em matéria de recursos hídricos, que preconiza uma visão estrutural e funcional dos sistemas aquáticos, integrados nas respetivas bacias hidrográficas e sujeitos à atividade humana. Uma vez que o planeamento de recursos hídricos desempenha um papel muito distinto nos vários países europeus, a DQA contribui para uma abordagem mais homogénea no espaço comunitário.

## **3.5. Material e Métodos**

### **3.5.1. Locais de amostragem**

Para a análise aos macroinvertebrados bentónicos foram recolhidas amostras em 3 pontos distintos da Reserva (Figuras 39 a 41), sendo alguns correspondentes a locais já estudados em anos anteriores. Estes locais, que se encontram representados na figura 23 do capítulo anterior, foram os pontos 1 – Início da Reserva, 2 – Entrada da Reserva Integral e 3 – Saída da Reserva.

Os locais foram escolhidos por permitirem uma caracterização mais ampla da qualidade das águas da Reserva, pela acessibilidade e por conterem as características necessárias à



realização das metodologias de recolha planeadas (e.g. Pesca elétrica, macroinvertebrados).

### 3.5.2. Macroinvertebrados

As recolhas foram realizadas nos meses de Março, Abril, Maio e Junho de 2015 (Primavera), época considerada ideal para o estudo da fauna invertebrada aquática (Moreira *et al.*, 1988). Para a recolha dos macroinvertebrados bentónicos recorreu-se a uma técnica semi-quantitativa, denominada Surber sampling.

Os microrganismos foram coletados utilizando-se um amostrador do tipo Surber (25cm x 25cm), com malha de 500  $\mu\text{m}$  (Figura 38), colocado contra a corrente do rio remexendo o substrato do rio com as mãos, para possibilitar o desalojamento dos macroinvertebrados, para que ficassem em suspensão e fossem arrastados para a rede para posterior recolha. Os pontos escolhidos diferem entre si quanto ao tipo de habitats predominante, areia, cascalho e folhas (Tabela 2). Em cada ponto foram recolhidas três sub-amostras aleatoriamente dentro da mesma tipologia de habitat.



Figura 38 - Recolha da amostra



Figura 39 - Ponto 1 - Entrada da reserva





Figura 40 - Ponto 3: Saída da Reserva

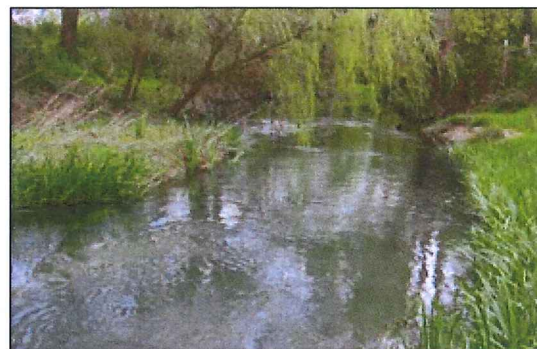


Figura 41 - Ponto 2: Entrada da Reserva Integral

Tabela 1 - Tipos de habitat para as comunidades de macroinvertebrados bentônicos para cada ponto

Pontos de Recolha	Habitats
Ponto 1 – Início da Reserva	Rápidos com sedimento arenoso e Rápidos com Macrofitas, deriva de zona de remanso a montante.
Ponto 2 – Entrada da Reserva Integral	Rápidos com sedimentos arenosos, Rápidos com Macrofitas, Rápidos com troncos e Rápidos com rochas.
Ponto 3 – Saída da Reserva	Remanso arenoso, Rápidos com sedimentos arenoso, Remanso limos.

O material recolhido na rede foi transferido para caixas plásticas com tampa, devidamente identificadas de acordo com os pontos onde foram feitas as recolhas. De seguida, para a conservação do material biológico foi utilizado álcool a 96%, para que a água transportada pelo material recolhido provocasse uma diluição para próximo dos 70% (Alba-Tercedor, 1996). Os exemplares capturados com esta técnica foram conservados em álcool a 70%, e posteriormente colocados no frigorífico. Em laboratório, o material foi colocado em tabuleiros e foram realizados processos de triagem, com auxílio de uma pinça, máscara e conta-gotas (Figura 42). Os indivíduos encontrados foram fixados em álcool a 96% e uma parte de água e alocados em caixas de Petri devidamente identificadas (Figura 43). Posteriormente, os organismos foram identificados e quantificados sob lupa

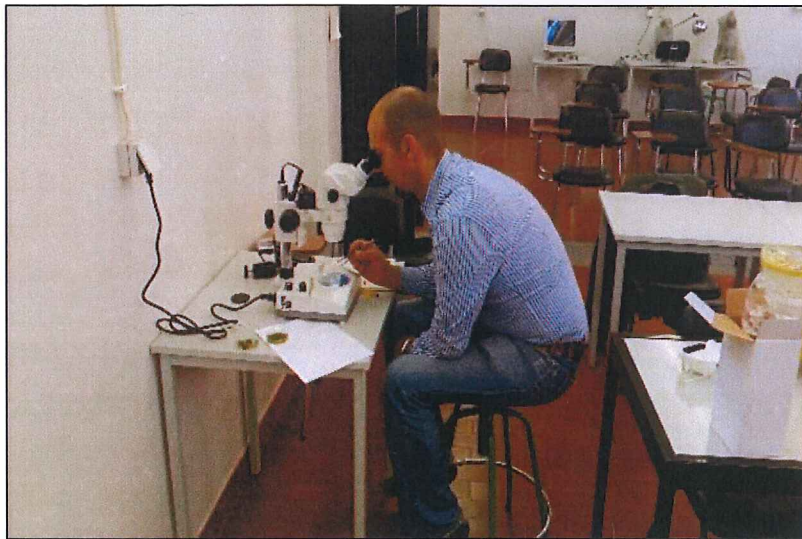
binocular (marca BMS 74956) (40x100x) (Figura 44) utilizando a identificação taxonómica até ao nível de famílias, com auxílio da chave de identificação taxonómica de Serra e colaboradores (2009).



**Figura 42 - Triagem e remoção dos organismos presentes**



**Figura 43 - Caixas de Petri após primira triagem**



**Figura 44 - Identificação dos macroinvertebrados à lupa binocular**

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





Figura 45 - Chironomidae



Figura 46 - Simuliidae



Figura 47 - Physidae

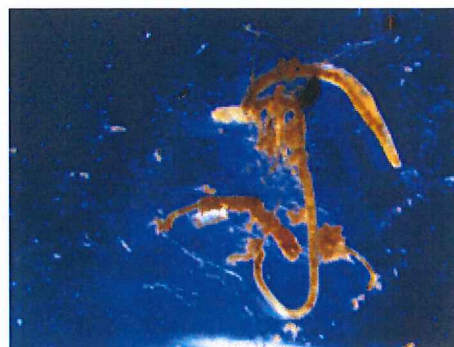


Figura 48 - Tubificidae

### 3.6. Apresentação e Discussão de Resultados

Este trabalho visa a continuação do estudo de monitorização da RNPB realizado entre os anos de 2011 a 2014. No ano corrente (2015) foram realizadas 4 recolhas entre Março e Junho onde foram recolhidos um total de 1705 indivíduos ao longo das 4 sessões de recolha nos 3 pontos, perfazendo um total de 36 amostras.

Pelo gráfico da figura 49 é possível constatar que o táxon mais abundante encontrado foi Chironomidae (Figura 45) (619 organismos recolhidos), Tubificidae (336), Lumbricidae (215) e Simuliidae (175). Estes quatro táxons representaram aproximadamente 80% dos invertebrados encontrados na RNPB. Resultados semelhantes foram obtidos no ano de 2011, onde as famílias Chironomidae e Lumbricidae foram as comunidades de macroinvertebrados dominantes.



No ano de 2014 os resultados obtidos foram ligeiramente diferentes, onde as comunidades predominantes foram dominadas pelas famílias Physidae e Chironomidae. Do mesmo modo, os Chironomidae são referenciados como principais representantes de macrofauna bentônica em vários rios intermitentes (Coimbra *et al.* 1996; Aguiar *et al.* 2002).

São vários os fatores que podem influenciar a estrutura das comunidades de macroinvertebrados bentônicos a diferentes escalas. Por exemplo, fatores abióticos como a profundidade da água e a velocidade, tipo de substrato, matéria orgânica, influenciam a distribuição dos macroinvertebrados à escala do micro-habitat (Allan, 1995), enquanto as condições hidromorfológicas, térmicas ou geomorfológicas tendem a afetar a distribuição e a estrutura das comunidades ao longo do gradiente longitudinal do rio (Vannote *et al.* 1980). Também fatores bióticos, como por exemplo a competição e predação, podem influenciar a estrutura local das comunidades de invertebrados (Allan, 1995).

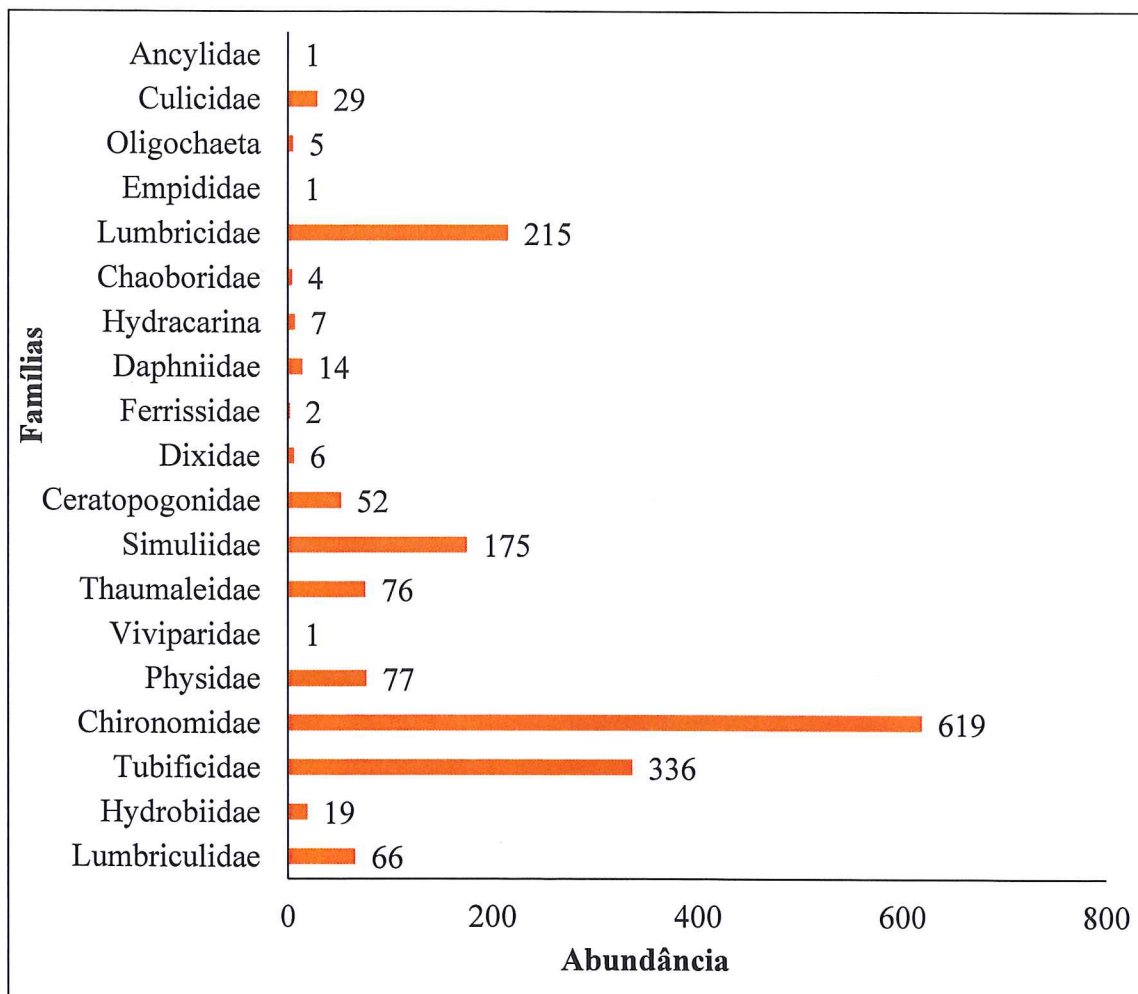


Figura 49 - Abundância de famílias e abundância de macroinvertebrados amostrados

Os Chironomidae possuem adaptações que lhes permitem viver em situações de carência de oxigênio dissolvido, tais como a presença de hemoglobina e hemolinfa que favorecem a captação eficaz de oxigênio e a existência de tubos respiratórios na extremidade abdominal (AGRO, 2007). Complementarmente esta família apresenta também uma estratégia trófica “generalista” o que em muito contribui para a sua ampla distribuição (Tachet *et al.*,1984).

Globalmente, verificou-se um aumento do número de indivíduos da família Chironomidae, devido a sua resistência à poluição, caso que se verifica com muita frequência na RNPB, devendo-se provavelmente às descargas efetuadas a montante da reserva.

De acordo com o gráfico da figura 50, no ponto 1 – Início da Reserva a abundância obtida no mês de Março foi de 426 macroinvertebrados sendo esta a abundância mais elevada neste ponto ao longo deste estudo, no mês de Abril e Maio não se realizaram as recolhas uma vez que, devido à elevada carga poluente observada, seria impossível existência de macroinvertebrados nos pontos 1 e 2, e no mês de Junho a abundância foi de 32 macroinvertebrados, apresentando uma redução muito significativa comparando com a primeira recolha.

No ponto 3 – Saída da Reserva a abundância foi maior no mês de Maio, com um total de 433 macroinvertebrados. No mês de Março a abundância foi de 293 macroinvertebrados, 271 macroinvertebrados no mês de Abril e 142 macroinvertebrados no mês de Junho. Este foi o ponto onde se verificou maior número de indivíduos, pelo que podemos dizer que este é o local onde se apresentam melhores condições ambientais.

Relativamente ao ponto 2 – Entrada da Reserva Integral o mês de Março foi o mês de maior abundância de macroinvertebrados comparativamente ao mês de Junho onde a abundância decresceu consideravelmente, devido certamente à poluição excessiva nos dois meses anteriores onde se verificou a ausência total de macroinvertebrados.

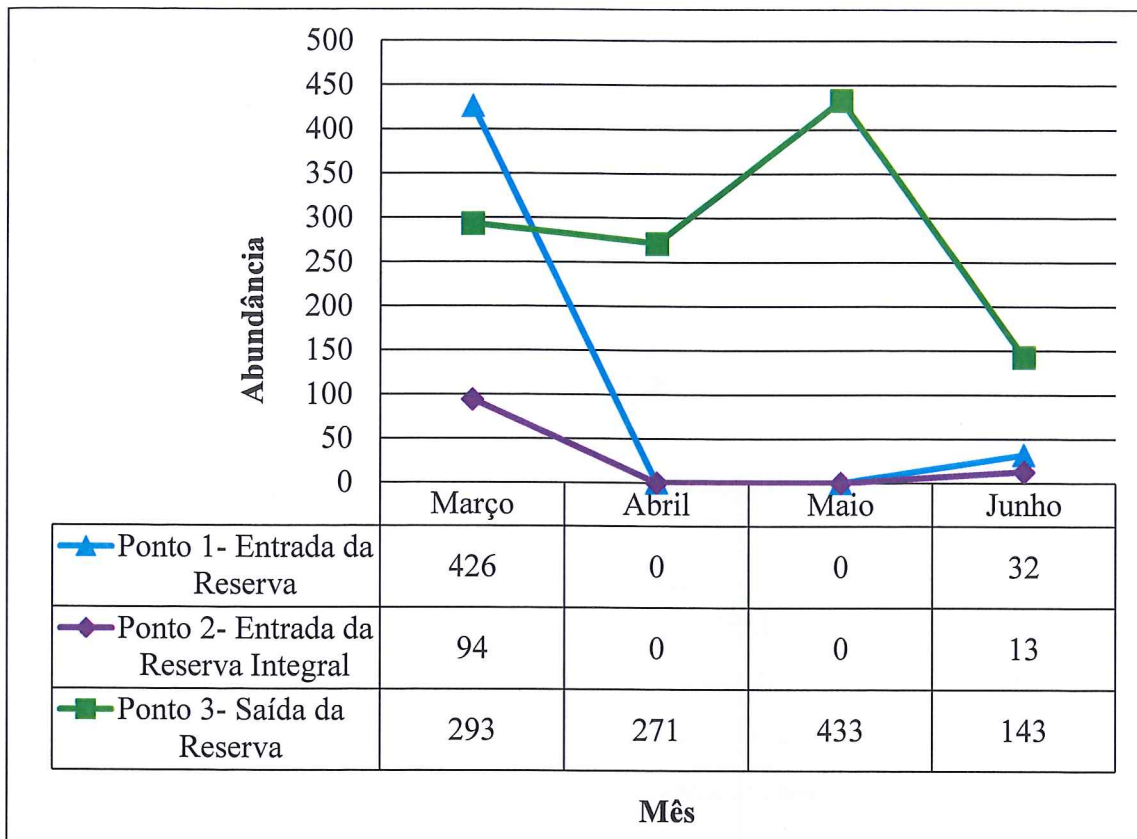


Figura 50 - Gráfico da Abundância dos macroinvertebrados nos pontos de amostragem ao longo dos 4 meses de estudo

Na Figura 51 está representada a variação da diversidade de espécies recolhidas em cada ponto ao longo dos 4 meses. Como podemos verificar no gráfico, o ponto 1 – Início da Reserva apresenta maior número de espécies recolhidas na primeira recolha, tendo-se verificado um total de 11 famílias diferentes.

Como já foi referido anteriormente no mês de Abril e Maio, nos locais 1 e 2 não foram feitas recolhas, devido às descargas poluentes.

Para o ponto 3 apresenta maior diversidade ao longo das 4 recolhas, com um pico mais elevada no mês de Abril.

Relativamente ao ponto 1 – Entrada da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral, como podemos verificar, a diversidade foi mais elevada no mês de Março em todos os pontos de amostragem e decresceu ligeiramente nos restantes meses.

A diversidade variou de forma ligeira entre os meses, apresentando valores consideravelmente aceitável comparando com os estudos feitos no ano de 2011 e 2014.



Os valores mais baixos observados foram nos pontos 1 e 2 nos meses de Maio e Junho.

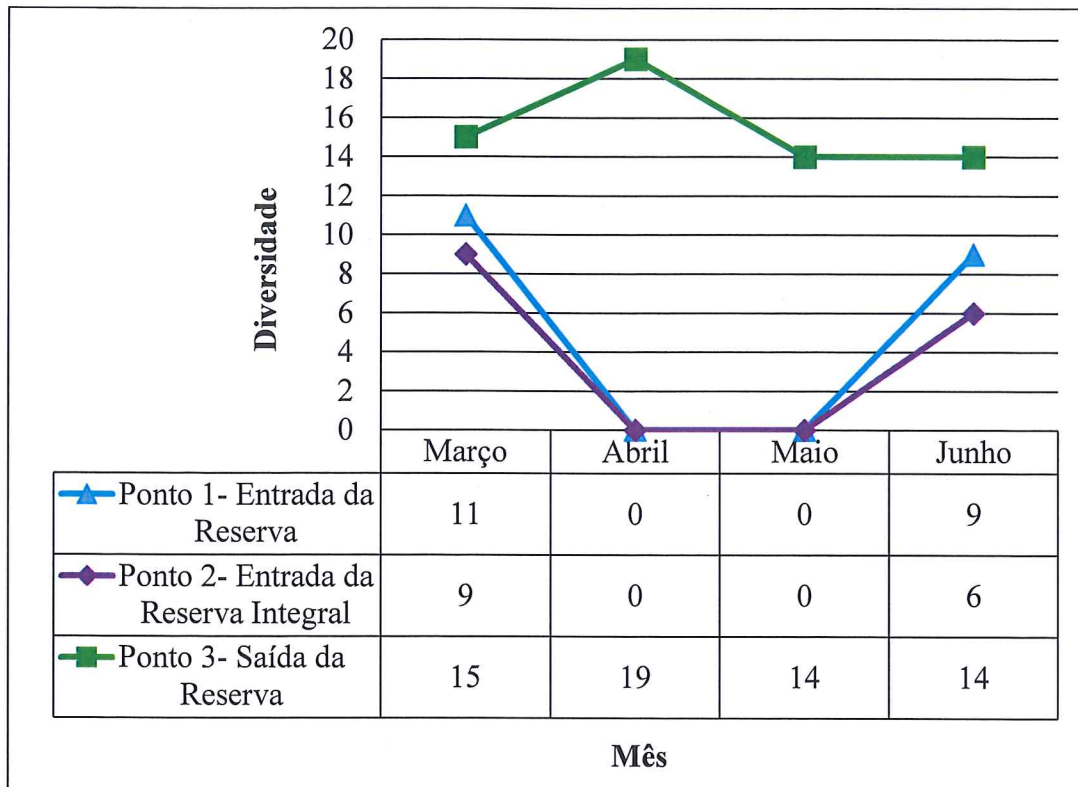


Figura 51 - Gráfico da Diversidade nos pontos de amostragem ao longo dos 4 meses de estudo

No sentido de avaliar a qualidade biológica da água foram calculados com recurso a *software* amiib@ desenvolvido pelo INAG para implementação da DQA em Portugal e que permite a escolha da tipologia de rios.

Para a classificação dos macroinvertebrados bentónicos utilizou-se os índices IBMWP (*Iberian Biomonitoring Working Party*) (Alba-Tercedor e Sánchez-Ortega 1988; Alba-Tercedor, 2000). Este é considerado um método relativamente rápido e simples de avaliar a qualidade biológica da água, uma vez que se baseia na identificação dos organismos até ao nível taxonómico da família. Para cada família é atribuída uma pontuação, que varia entre 10 e 1 valores de acordo com o grau de tolerância à poluição (Anexo B). É feito o somatório das pontuações das famílias existentes em cada amostra (AnexoB), o que permite calcular um valor que é enquadrado nas classes que definem o estado biológico das águas (Tabela 3) e, ainda é possível enquadrar os valores obtidos em cinco classes de qualidade, e obter uma classificação dos locais amostrados (Tabela 4).

Calculou-se também o índice IASPT (*Average Score Per Taxa*) (Alba-Tercedor e Sánchez-Ortega, 1988; Alba-Tercedor, 2000). Para o cálculo deste índice divide-se o valor do IBMWP pelo número de famílias pontuadas na amostra. Este índice permite distinguir locais que embora apresentam valores idênticos de IBMWP, difiram nas suas características ambientais e biológicas (Oliveira *et al.*, 2007).

Também foi calculado o IPtIN (Índice Português de Invertebrados do Norte) (INAG 2009). Este índice calcula-se dividindo o valor do IBMWP pelo número de taxa contabilizada no IBMWP. Por último calculou-se ainda o Evenness ou Índice de equitabilidade de Pielou, que avalia o modo como os indivíduos estão distribuídos pelos diferentes *taxa*, (Krebs, 1985).

O gráfico da figura 52 representa os valores dos índices IBMWP para análise da qualidade biológica da água nos pontos 1, 2, e 3 (ambientes lóticos). Na primeira recolha os valores do índice IBMWP variam entre 3 e 9, ao contrário do que sucedeu no ano anterior (ano 2014) em que os valores dos índices para este mês (Março) apresentam valores entre 8 e 19, sendo superiores nos pontos 2 e 3, correspondentes a uma qualidade de água crítica e muito crítica. Em 2015 valor mais elevado do índice IBMWP por ponto de recolha foi registado em Abril, com uma pontuação de 22, que permitiu atribuir à água a qualidade de muito crítica. Nos meses que se seguiram a qualidade da água manteve-se como muito crítica, (Classe V).

A tabela 4 permite avaliar o estado da qualidade da água através dos valores IBMWP calculados anteriormente.

**Tabela 2 - Índices Biológicos**

Local	Meses	N Taxa	N Indiv.	BMWP	ASPT	IBMWP	Classe	IASPT	Diver. Shanon Wiener	Evenness	IPtIN	Classe IPtIN
1	Março	4	141	9	2,25	9	V	2,25	0,88	0,64	0,153	V
1	Abril	0	0	0	0,00	0	V	0,00	0,00	0,00	0,000	V
1	Maio	0	0	0	0,00	0	V	0,00	0,00	0,00	0,000	V
1	Junho	3	11	4	2,00	6	V	2,00	0,91	0,83	0,154	V
2	Março	2	31	3	1,50	3	V	1,50	0,38	0,55	0,061	V
2	Abril	0	0	0	0,00	0	V	0,00	0,00	0,00	0,000	V
2	Maio	0	0	0	0,00	0	V	0,00	0,00	0,00	0,000	V
2	Junho	2	5	1	1,00	3	V	1,50	0,67	0,97	0,127	V
3	Março	5	88	8	2,67	14	V	2,80	1,08	0,67	0,211	IV
3	Abril	6	91	14	3,50	22	IV	3,67	1,37	0,77	0,341	IV
3	Maio	7	143	8	2,67	18	IV	3,00	1,37	0,71	0,250	IV
3	Junho	4	46	3	1,50	9	V	2,25	0,72	0,52	0,169	V

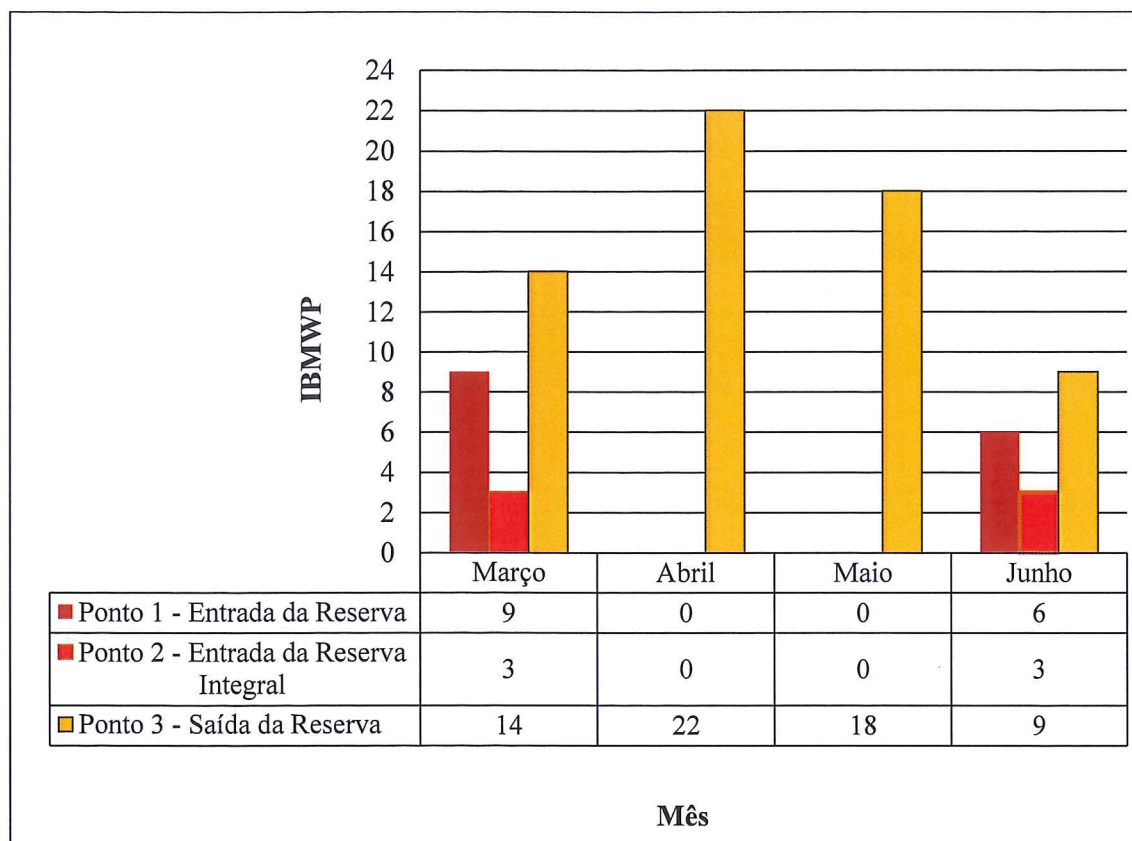


Figura 52 - Gráfico com os valores dos índices IBMWP obtidos para diferentes pontos analisados

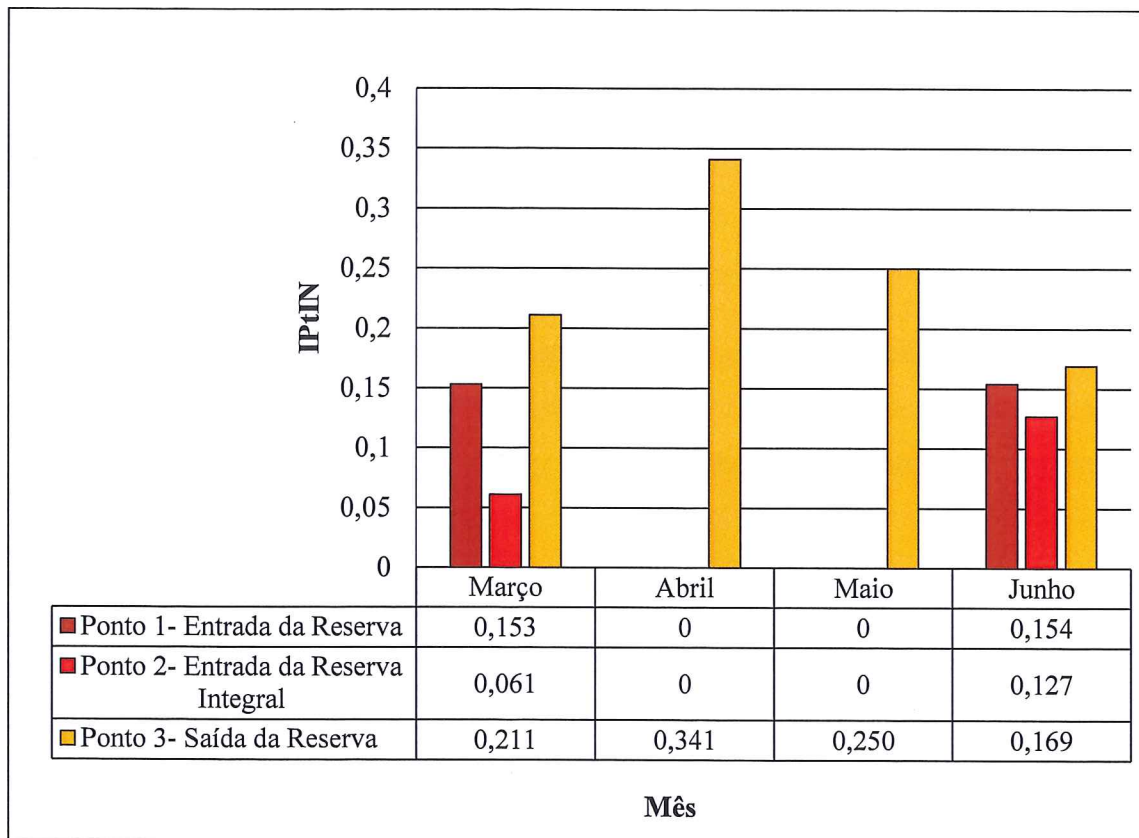
Tabela 3 - Classes de qualidade definida para o índice IBMWP (Alba-Tercedor 2000)

Classe	Qualidade	Valor	Significado
I	Boa	> 120 101-120	Água muito limpa Água limpa ou não contaminada
II	Aceitável	100-61	Água ligeiramente contaminada
III	Duvidosa	60-36	Água contaminada
IV	Crítica	35-16	Água muito contaminada
V	Muito Crítica	< 15	Água fortemente contaminada



Na figura 53 está representada a variação dos valores do índice IPtIN, para os diferentes pontos amostrados. A análise do gráfico permite verificar que no mês de Março, primeira recolha, as águas dos pontos 1 e 2 foram classificadas com a pior qualidade, mau (Classe V), e a água do ponto 3 com uma qualidade medíocre (Classe IV), enquanto para os restantes três meses, Abril e Maio para o mesmo ponto, Ponto 3, a qualidade da água foi classificada como medíocre (Classe IV), e na última recolha, mês de Junho a água apresentava uma qualidade má (Classe V), para todos os pontos.

Assim como o índice IBMWP, também o índice IPtIN é atribuído segundo um conjunto de cinco classes e cinco cores diferentes. Verifica-se que este índice IPtIN se comporta de modo idêntico ao anteriormente descrito IBMWP, na diferenciação dos vários níveis de perturbações que se encontram nos locais de amostragem. (Tabela 5).



**Figura 53 - Gráfico com os valores dos índices de IPtIN obtidos para diferentes pontos de amostragens**

Tabela 4- Classes de qualidade da água e o seu significado (INAG, 2009)

Classe	IPtIN Qualidade da Água
I	Excelente
II	Bom
III	Razoável
IV	Medíocre
V	Mau

A análise global mostra (Tabela 3), na maioria, uma qualidade da água muito má (Classe V), com uma melhoria perceptível no Ponto 3 no mês de Março e Abril, apresentando assim uma qualidade da água medíocre (Classe IV).

Os resultados obtidos sugerem que os índices testados (IBMWP e IPtIN) produzem resultados muito consistentes entre si, e refletem globalmente de forma semelhante as variações da estrutura das comunidades e respetiva sensibilidade a fatores ambientais naturais.

A avaliação biológica da qualidade da água, baseada nos índices IBMWP e IPtIN, permitiu atribuir à RNPB, um baixo grau de integridade biológica traduzido na obtenção de uma má qualidade da água em todas os locais de amostragem (Classe IV e V).

Estes resultados sugerem que os índices multimétricos são adequados na avaliação de comunidades de macroinvertebrados bentónicos, no entanto, será necessária a continuação da pesquisa sobre a capacidade de resposta destes índices a variáveis específicas de perturbação, para determinar definitivamente a sua eficácia na avaliação do estado ecológico dos rios mediterrânicos.

## **Capítulo 4 - Amostragem e Análise da Fauna Piscícola da RNPB**

**Resumo:** Neste capítulo é explicado o funcionamento da pesca elétrica como ferramenta na análise e monitorização da fauna piscícola da Reserva Natural do Paul do Boquilobo.





### 3.1. Introdução

Na amostragem e monitorização da fauna piscícola da Reserva Natural do Paul do Boquilobo foi utilizado o método de pesca elétrica, cujo conceito de funcionamento se baseia na criação de um campo elétrico (introduzindo na água um ânodo e um cátodo) ao qual os peixes são atraídos e imobilizados devido ao gradiente de potencial elétrico, sendo posteriormente capturados com auxílio de um camaroeiro.

A corrente elétrica pode ser contínua (DC) ou alternada (AC), isto é, na corrente contínua o fluxo de carga elétrica não muda de direção ao longo do tempo. Por sua vez na corrente alternada a magnitude e a direção variam ciclicamente. A mais utilizada é a corrente contínua, visto ser mais fraca, minimizando assim algum tipo de ferimento nas espécies capturadas. Apresenta-se como um dos mais importantes métodos de pesquisa e monitorização da fauna piscícola em água doce, em locais onde a sua utilização é viável.

Este método é considerado o mais adequado para pesca a pouca profundidade, até 1,5m (Eros *et al.*, 2012). Como se pode ver na figura 54, o funcionamento é muito simples. O aparelho é ligado a uma bateria (12V), que estabelece a corrente elétrica entre os polos positivo e negativo, criando assim um gradiente de potencial elétrico, imobilizando o peixe. Podemos ainda alterar a frequência e a amperagem, para que possamos maximizar a eficácia da captura.

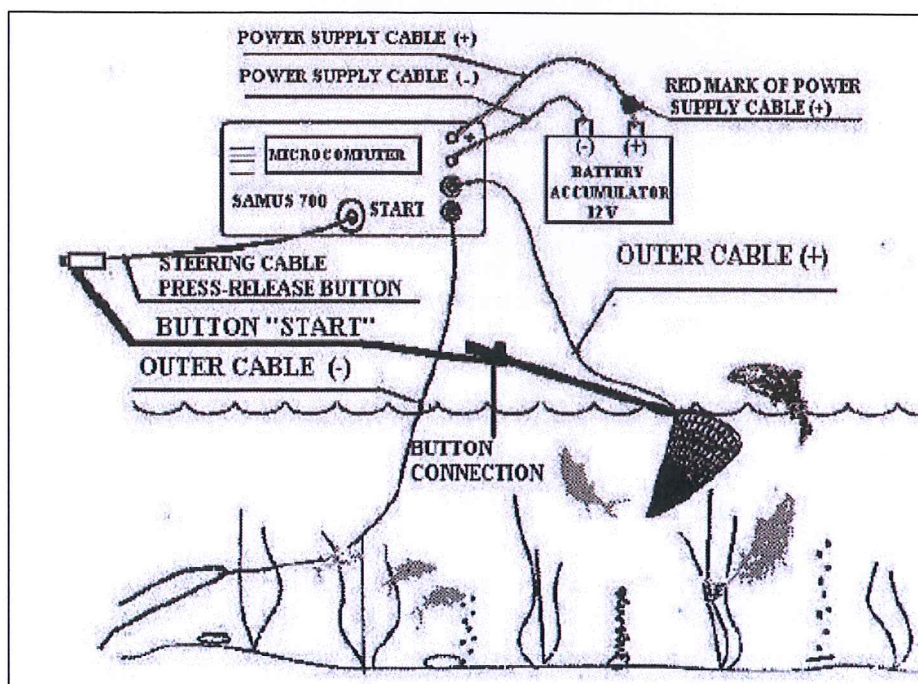


Figura 54 - Funcionamento da pesca elétrica (Samus -725G, (sd))

A pesca elétrica é o método mais utilizado em pequenos rios, podendo ser muito eficiente em condições ótimas de condutividade. É uma técnica muito desejável, pela facilidade de utilização, baixo custo, utilização em variadíssimas condições, locais e principalmente pelo baixo impacto negativo nos peixes e outros animais presentes. Este método de amostragem permite fazer a amostragem de espécies importantes e também realizar a sua seleção por tamanho (Eros *et al.*, 2012).

Contudo, a eficiência da pesca elétrica pode variar significativamente com as condições físicas e químicas do habitat, o equipamento utilizado, características e atributos dos peixes, entre outras (INAG, 2008). Foi o caso de alguns testes por nós efetuados, onde se registaram várias tentativas falhadas devido à elevada condutividade da água resultado da evidente poluição ou mesmo pela inexistência de espécies no local de amostragem. Foram efetuadas várias tentativas onde foi possível obter resultados, embora não suficientes para fazer um estudo aprofundado da fauna piscícola da RNPB. Por essa razão, apresentaremos apenas os resultados diretos das espécies identificadas mas não apresentaremos conclusões relativamente às espécies existentes no Paul. Iremos sim documentar o método, bem como a experiência ganha com este desafio. No entanto o conhecimento e experiências adquiridas revelam um ótimo ponto de partida para estudos futuros.

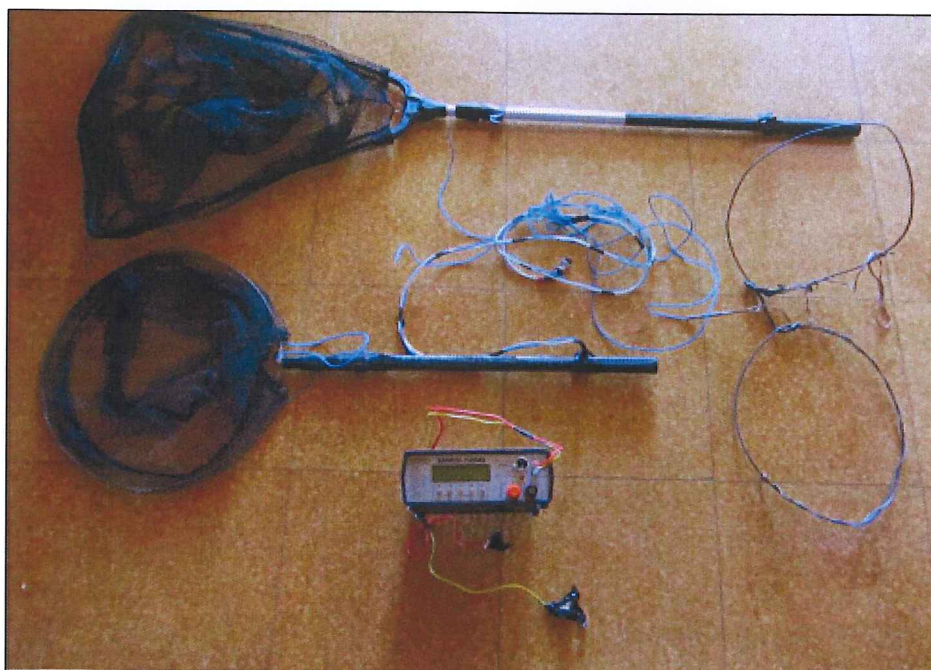
### 3.2. Material e Equipamento

Como referido anteriormente, para cada local de amostragem poderá ser necessária a utilização de diferentes tipos de aparelhos. No nosso caso utilizámos o SAMUS-725MS (Figura 55), aparelho cujas características se encontram especificadas na tabela 6. Este equipamento foi transportado dorsalmente alimentado por uma bateria. De referir que na amostragem realizada no ponto 7 – Limnígrafo tivemos o auxílio de uma pequena embarcação (Figura 60). A frequência e amperagem foram alteradas ao longo do local a amostrar, devido à existência de zonas mais profundas, para que chegássemos à conclusão de qual seriam os valores indicados para aquele habitat.



**Tabela 6 - Características do aparelho utilizado, SAMUS-725MS**

Marca	SAMUS
Tipo de Aparelho	Bateria
Tipo de Corrente	Contínua
Frequência	50
Voltagem	20 V
Corrente	190 a 210 A

**Figura 55 - Aparelho SAMUS-725MS, juntamente com o camaroeiro e respetivos elétrodos**

Na escolha de equipamento apropriado para o local de amostragem devemos considerar:

- O equipamento deverá ser indicado para a condutividade da água onde se pretende amostrar (INAG, 2008);
- O equipamento deverá ser leve e fácil de operar, devido ao processo ser demorado, agravando-se a operacionalidade em terreno muito irregular (INAG, 2008);

Para além do aparelho de pesca elétrica, são utilizados outros tipos de equipamentos, cada um com função distinta (INAG, 2008). Entre eles estão:

- Camaroeiros de malha, para apanhar o peixe que fica imobilizado;

- Botas altas de borracha não condutoras de eletricidade;
- Equipamento de medição de parâmetros físico-químicos da água Hanna Instruments modelo HI 98129 (temperatura, condutividade, sólidos dissolvidos totais, pH) (Figura 56);
- Vara e régua graduada, para medir a profundidade do leito e comprimento do pescado;
- Caixas plásticas para manter os exemplares até à sua identificação e medição;
- Malas térmicas;
- GPS centimétrico (Figura 57), para sabermos o local exato de amostragem;

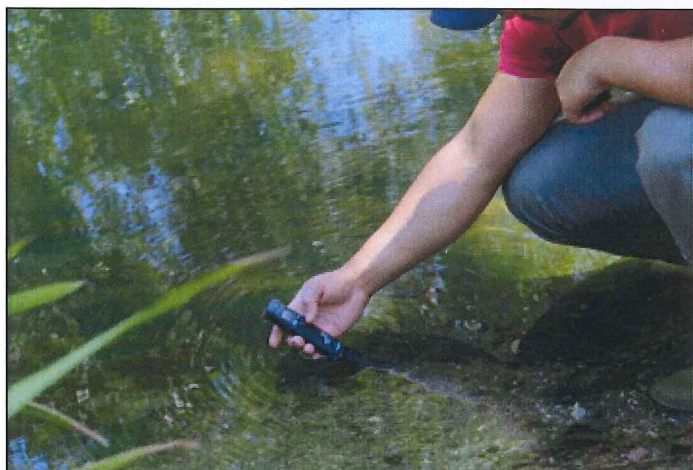


Figura 56 - Medidor multiparamétrico (pH, SDT, Temperatura e Condutividade)



Figura 57 - GPS centimétrico

### 3.3. Amostragem

Na seleção dos locais mais adequados para amostragem é necessário considerar vários fatores, entre eles o troço, os habitats, o acesso e a área de triagem.

O troço a amostrar deverá ser representativo do sector do curso abarcando a máxima diversidade física existente. A amostragem, por sua vez deverá englobar todo o tipo de habitats existentes no troço com exceção das zonas muito profundas. O comprimento mínimo do troço a amostrar deverá ser pelo menos 20 vezes a largura do rio e não inferior a 100m. Devem ser fotografados e georreferenciados com recurso a GPS todos os locais da amostragem, de modo a que possam ser facilmente reconhecidos (INAG, 2008).



A amostragem é efetuada tendo em atenção as características físicas e químicas do habitat, usando a corrente elétrica indicada em função de cada situação, isto para elevar a eficácia de captura e minimizar os riscos, quer para espécies, quer para os investigadores. Deve ser efetuada com caudais pouco elevados, tendo sempre em atenção amostrar fora do período das migrações bem como períodos de desova.

Nos diferentes tipos de curso de água, sem comprometer a eficácia da pesca, deve-se utilizar um tipo de corrente elétrica (DC, corrente utilizada) que não cause lesões ou mortalidade nos peixes.

No que toca à segurança dos investigadores, existem riscos associados às operações de amostragem. Como por exemplo o risco de eletrocussão, acidente devido a uma queda, queimaduras solares e doenças associadas a águas contaminadas são alguns riscos a ter em consideração (INAG, 2008).

Foram efetuadas amostragens em diferentes locais tendo em conta as recomendações do INAG (2008), foram ensaiadas capturas nos pontos 1, 2, 3 e 7, e ainda em algumas valas de acesso ao ponto 7 por serem zonas de menor profundidade. No entanto, as sessões de recolha só tiveram sucesso quando o Paul se encontrava bastante inundado (Figura 58), o que propiciava uma baixa condutividade da água. Deste modo, como durante o período de amostragem se registaram elevadas condutividades, foi impossível efetuar capturas representativas. Apesar de percorridas largas extensões de massas de água, apenas foram obtidos resultados positivos no ponto 3 – Saída da Reserva (Figura 59) e numa vala de acesso ao ponto 7 – Limnígrafo (Figura 60).



**Figura 58 - Local de amostragem aquando da maior inundação do Paul (vala de acesso ao Limnígrafo)**





**Figura 59 - Amostragem no Ponto 3 – Saída da Reserva, com captura efetiva**



**Figura 60 - Amostragem no Ponto 7 – Limnógrafo, com captura efetiva**



Os exemplares capturados deverão ser manipulados cuidadosamente, colocados em caixas plásticas com nível de água adequado aos espécimes capturados, garantindo as melhores condições durante o período compreendido entre a captura e recolha de dados biométricos.



**Figura 61 - Identificação e medida de uma captura**

A fim de minimizar o período de tempo compreendido entre a amostragem e análise, a amostragem deverá realizar-se em vários períodos de duração nunca superiores a 30 minutos para evitar danos e mortalidade piscícola. A identificação e medição dos exemplares deverá ser efetuada em local previamente selecionado, de fácil acesso, reduzida exposição solar para evitar magnificação do stress provocado e com a maior proximidade possível ao curso de água para uma rápida devolução ao meio (INAG, 2008).

Após efetuarmos a identificação e medição o peixe é devolvido ao habitat natural cuidadosamente perto do local da captura. Deverá ser num ponto que permita uma recuperação rápida para que o espécime volte ao seu estado normal.



Figura 62 - Peixe devolvido ao habitat cuidadosamente

#### 4.4 Apresentação e Discussão de Resultados

Na tabela seguinte estão presentes alguns dados relativos às espécies capturadas. Encontram-se 5 espécies, capturadas nos pontos 3 e 7 que foram alvo de medições biométricas.

Para além das espécies referidas na tabela 7 foram também observados e capturados no ponto 7 espécimes juvenis de peixe-gato (*Ictalurus punctatus*), o que serve de indicador para o fato de esta espécie exótica se reproduzir na área de Reserva Integral.

Tabela 7 - Dados relativos às espécies capturadas

Nome	Nome Científico	Local de Amostragem	Mês de captura	Tamanho médio (cm)
Alburnete	<i>Alburnus alburnus</i>	Ponto 3	Abril e Junho	11,8
Carpa	<i>Cyprinus carpio</i>	Pontos 3 e 7	Março, Abril e Junho	46,1
Fataça	<i>Mugil cephalus</i>	Ponto 7	Abril e Junho	40,5
Gambusia	<i>Gambusia holbrooki</i>	Pontos 3 e 7	Abril, Maio e Junho	4,5
Ruivaco	<i>Rutilus macrolepidotos</i>	Ponto 7	Março	14,0



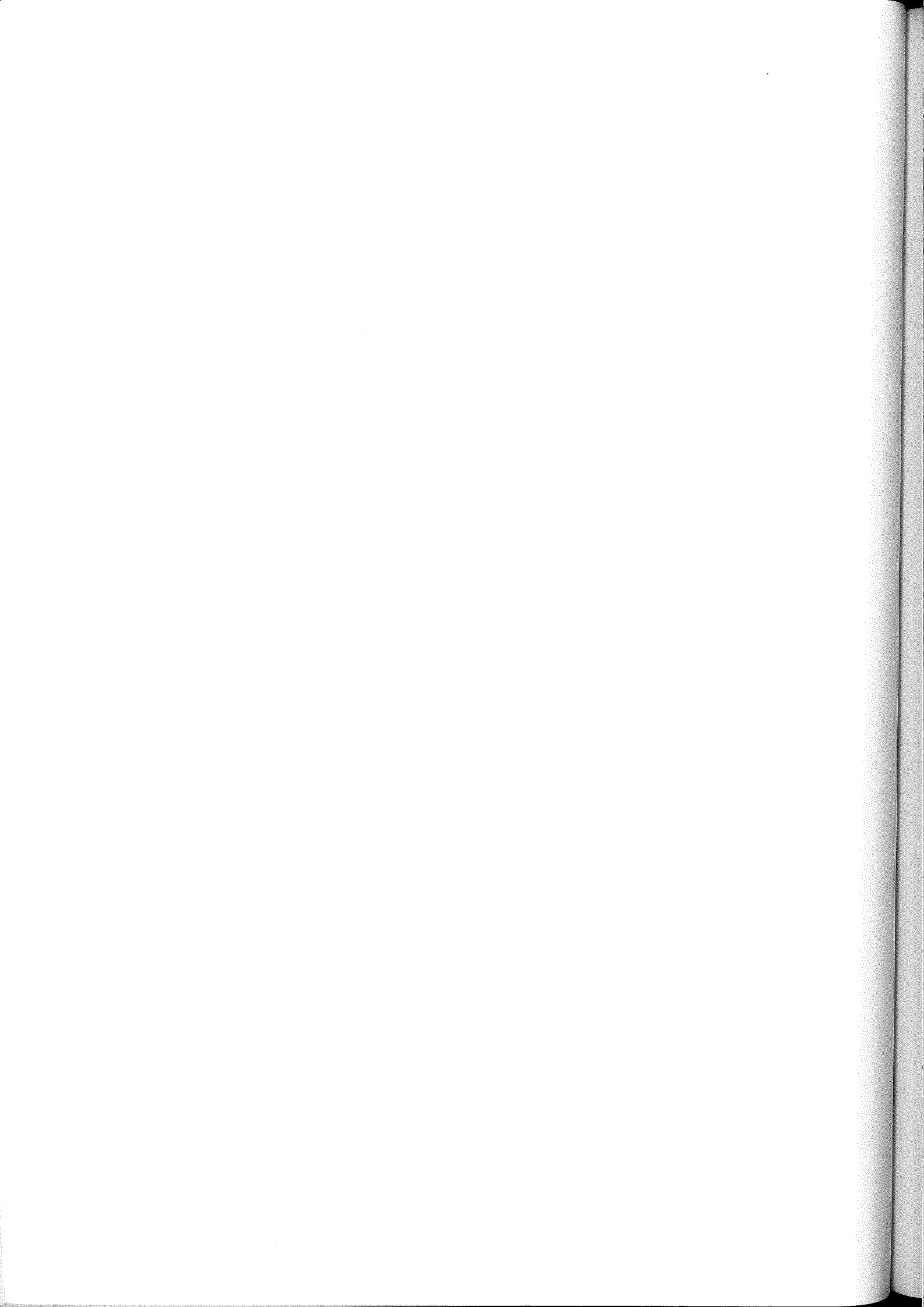
Perante o conjunto de amostras registadas verificou-se que a hora de recolha influencia o resultado da captura, quer no rio Almonda (Ponto 3) quer em ambiente lântico na zona de Reserva Integral (Ponto 7). Verificou-se que em ambiente lótico o comportamento das espécies conjuga-se com a subida do rio Tejo para montante coincidente com o entardecer resultando em maior sucesso de captura. Já em ambiente lântico as horas do dia de maior incidência solar resultam em maior sucesso pela menor mobilidade das espécies que eventualmente se encontram estáticas em abrigos.

Pudemos constatar que a técnica de pesca elétrica é muito mais que um simples método de pesca. É dos mais importantes métodos de pesquisa e monitorização da fauna piscícola em água doce, devido à facilidade de utilização, baixos custos, de poder ser utilizado em variadíssimas condições e pelo baixo impacto negativo nos peixes e outros animais no local a amostrar. As propriedades físico-químicas variam de um habitat para outro, o que pode baixar drasticamente a eficácia da pesca, sendo necessária a verificação da condutividade. Pelo trabalho desenvolvido verificámos ser imprescindível o estudo prévio dos locais a estudar e o planeamento de alternativas de amostragem a fim de minimizar o insucesso do processo de monitorização a implementar. O conhecimento prévio do local de amostragem não só reduz o risco de acidentes, como permite a otimização do processo de calibração das correntes a aplicar.

Não foi possível obter resultados concretos de modo a fazer uma descrição detalhada da fauna piscícola existente na RNPB, mas foi sem dúvida uma grande aprendizagem numa área que até então nos era desconhecida.

Embora a recolha sistemática, necessária para o processo de monitorização ora pretendido não tenha devolvido resultados adequados decidiu-se iniciar uma base de dados das espécies capturadas neste estudo, que embora não comtemple todas as espécies existentes servirá de base para criação futura de um manual de identificação de espécies piscícolas para o rio Almonda e Paul do Boquilobo (Anexo A).

Esta base de dados vem na sequência do trabalho inicialmente proposto e desenvolvido de seleção de todas as espécies passíveis de ser encontradas nos rios da bacia hidrográfica do Tejo, a partir do Kottelat e Freyhof (2007).



## **Capítulo 5 – Análise Estatística**

**Resumo:** Neste capítulo faz-se uma análise estatística de todas as variáveis ambientais e biológicas analisadas anteriormente, respetivamente, nos capítulos 2 e 3.





## 5.1. Análise Exploratória Multivariada

Para melhor compreendermos o comportamento dos vários parâmetros analisados e de que forma se relacionam entre si, procedeu-se à realização de uma análise exploratória multivariada com recurso ao *software* Minitab 17.

Numa primeira fase procedeu-se a uma análise estatística descritiva que teve como principal objetivo organizar e sintetizar todos os dados relativos a cada um dos parâmetros em análise. Assim para cada parâmetro, e a partir de todos os valores calculados, foram construídos quatro histogramas de frequências absolutas (Anexo D), correspondendo cada um deles a um local de mostragem. Nestes histogramas estão representadas graficamente as frequências absolutas em função do valor calculado para o parâmetro em análise e as curvas de distribuição normal para cada histograma. Para além desta representação gráfica, encontra-se também no Anexo D uma tabela na qual se encontram as várias medidas estatísticas calculadas para cada parâmetro analisado e que nos ajudam na interpretação dos resultados obtidos no campo e laboratório (Morais, 2005).

De seguida fez-se uma análise de classificação hierárquica ascendente com o objetivo de dividir em classes as variáveis ambientais analisadas com base na similaridade entre elas. A representação gráfica desta análise é feita através de um dendrograma no qual é possível visualizar a agregação variáveis ambientais em várias classes (*clusters*) e subclasses. A similaridade entre duas variáveis num dendrograma é representado pela altura do nó interno mais baixo que ambos as variáveis partilham.

Ao analisarmos o dendrograma da figura 63 é imediatamente perceptível que existem dois *clusters* que dividem as várias variáveis em dois grupos principais e que têm entre si uma similaridade de 32,70%. No *cluster* representado a cor azul encontram-se as variáveis ambientais temperatura, pH, oxigénio dissolvido e sólidos suspensos totais que possuem entre elas uma similaridade de 58,32%, sendo que no *cluster* representado a cor vermelha a concentração de nitratos tem uma similaridade de 58,94% com todas as restantes variáveis, as quais por sua vez possuem uma similaridade de 65,40% entre si.

As variáveis que apresentam maior nível de similaridade, 97,17%, são o pH e o oxigénio dissolvido o que se explica pela relação que existe entre ambos, uma vez que em águas com maior teor de oxigénio dissolvido está também associado um maior valor de pH (Pisciculturafb, sd).

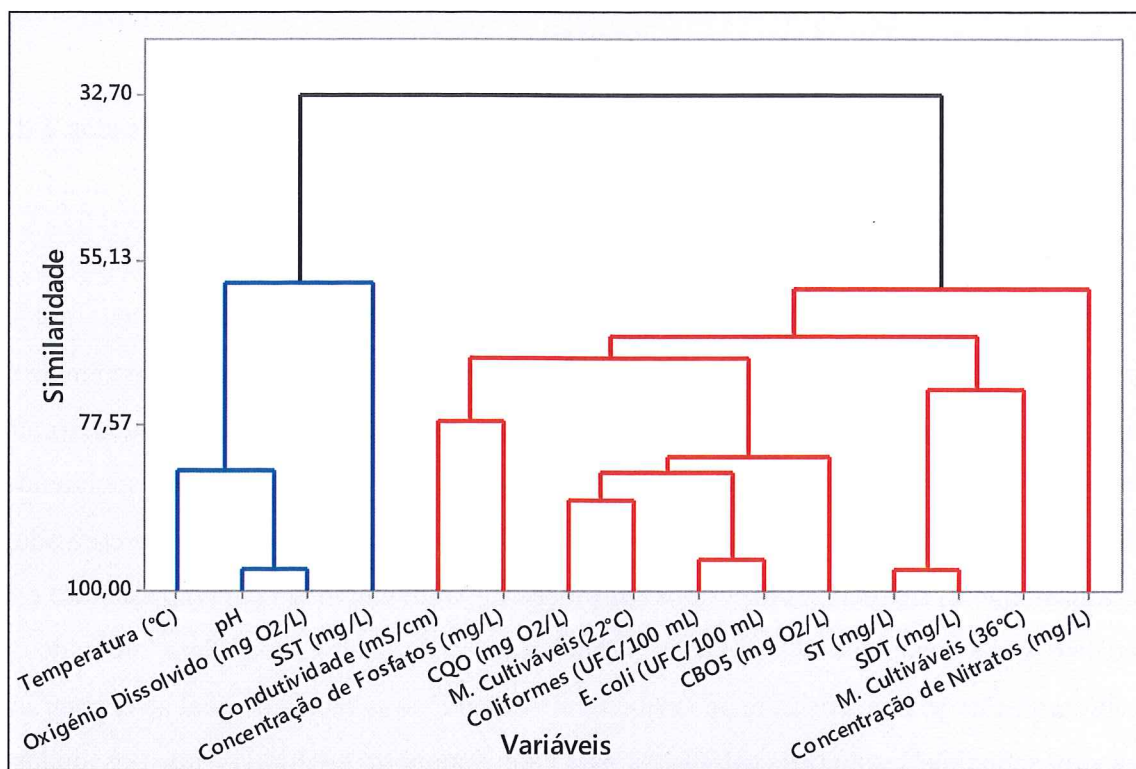


Figura 63 - Dendrograma de similaridade entre as variáveis ambientais

Existem ainda outras variáveis que possuem elevadas percentagens de similaridade como é o caso dos sólidos totais e sólidos dissolvidos totais com 96,98%, e das bactérias coliformes e *E. coli* com 95,73%.

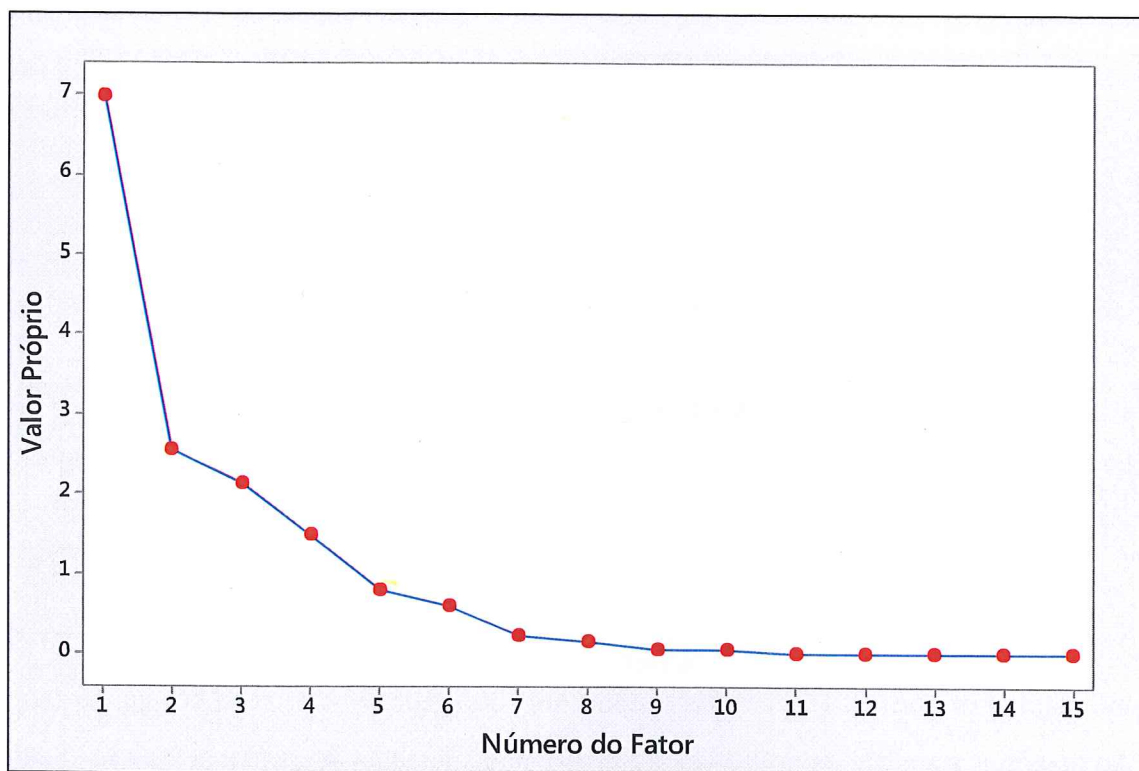
Para melhor entendermos o número de fatores que influenciam todo o sistema realizou-se uma análise fatorial multivariada para três fatores (Santos, 2008). Os resultados desta análise encontram-se resumidos na tabela 8 e nos gráficos das figuras 64,65,66 e 67.

Analisando o gráfico da figura 64 verifica-se que os dois primeiros fatores apresentam valores próprios superiores a 2,5 e conseqüentemente são os que maior influência têm no sistema.



**Tabela 8 - Análise fatorial para 3 fatores**

Variável	Fator1	Fator2	Fator3	Comunalidade
Temperatura (°C)	-0,427	0,80	0,278	0,901
pH	-0,922	0,237	0,142	0,927
Condutividade (mS/cm)	0,244	-0,108	0,915	0,908
Oxigênio Dissolvido (mg O <sub>2</sub> /L)	-0,886	0,242	0,113	0,857
Concentração de Fosfatos (mg/L)	0,645	-0,019	0,528	0,696
Concentração de Nitratos (mg/L)	0,309	0,445	-0,094	0,302
CQO (mg O <sub>2</sub> /L)	0,843	-0,231	0,370	0,901
CBO <sub>5</sub> (mg O <sub>2</sub> /L)	0,793	-0,416	-0,150	0,824
ST (mg/L)	0,646	0,668	0,273	0,938
SDT (mg/L)	0,515	0,785	0,141	0,902
SST (mg/L)	-0,361	-0,281	0,288	0,292
M. Cultiváveis (36°C)	0,486	0,337	-0,657	0,781
M. Cultiváveis (22°C)	0,731	-0,223	0,184	0,618
Coliformes (UFC/100 mL)	0,912	0,167	-0,305	0,952
E. coli (UFC/100 mL)	0,915	0,119	-0,067	0,856
Variação	6,9803	2,5396	2,1349	11,6548
% Var	0,465	0,169	0,142	0,777


**Figura 64 - Scree plot dos valores próprios para todas as variáveis**

Nesta tabela 8 é possível observar que o primeiro fator tem uma variação de 46,5% sendo mais representativo que o segundo que apresenta uma variação de 16,9%. Estes dois

primeiros fatores juntos representam cerca de 63,4% da variação total confirmando assim a maior relevância destes em relação a todos os outros.

No gráfico da figura 65 pode-se constatar que o primeiro fator apenas é representado negativamente pela temperatura, pH, oxigênio dissolvido e SST, sendo que este último também influencia negativamente o segundo fator. Destes quatro fatores os que mais negativamente influenciam o primeiro fator são o pH e o oxigênio dissolvido.

Já o segundo fator é influenciado negativamente, pela CBO<sub>5</sub>, CQO, microrganismos cultiváveis (22°C), condutividade e concentração de fosfatos, para além dos SST já referidos anteriormente. Todos os outros têm uma influência positiva no segundo fator com destaque para a temperatura, SDT e ST.

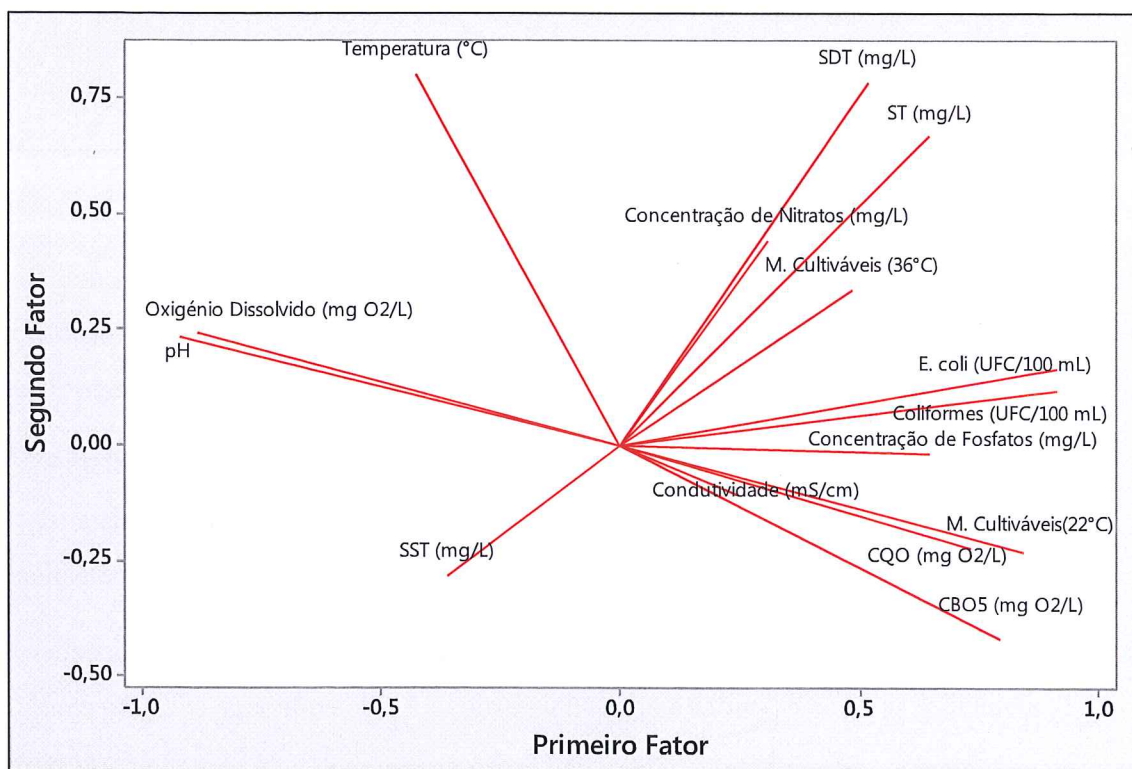


Figura 65 - Loading plot para o primeiro e segundo fatores

Ao fazermos a análise ao gráfico da figura 66, pode perceber-se que os pontos 3 – Saída da Reserva e 7 – Limnógrafo influenciam negativamente o primeiro fator enquanto os pontos 1 – Entrada da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral, têm, de uma forma, geral uma maior influência positiva para esse fator.

Já em relação ao segundo fator, como se percebe pelo gráfico, não existe uma clara definição de como o local pode influenciar positiva ou negativamente esses fator, uma vez que estão algo dispersos pelos quatro quadrantes do gráfico sem que exista uma clara tendência da qual se possam tirar grandes conclusões.

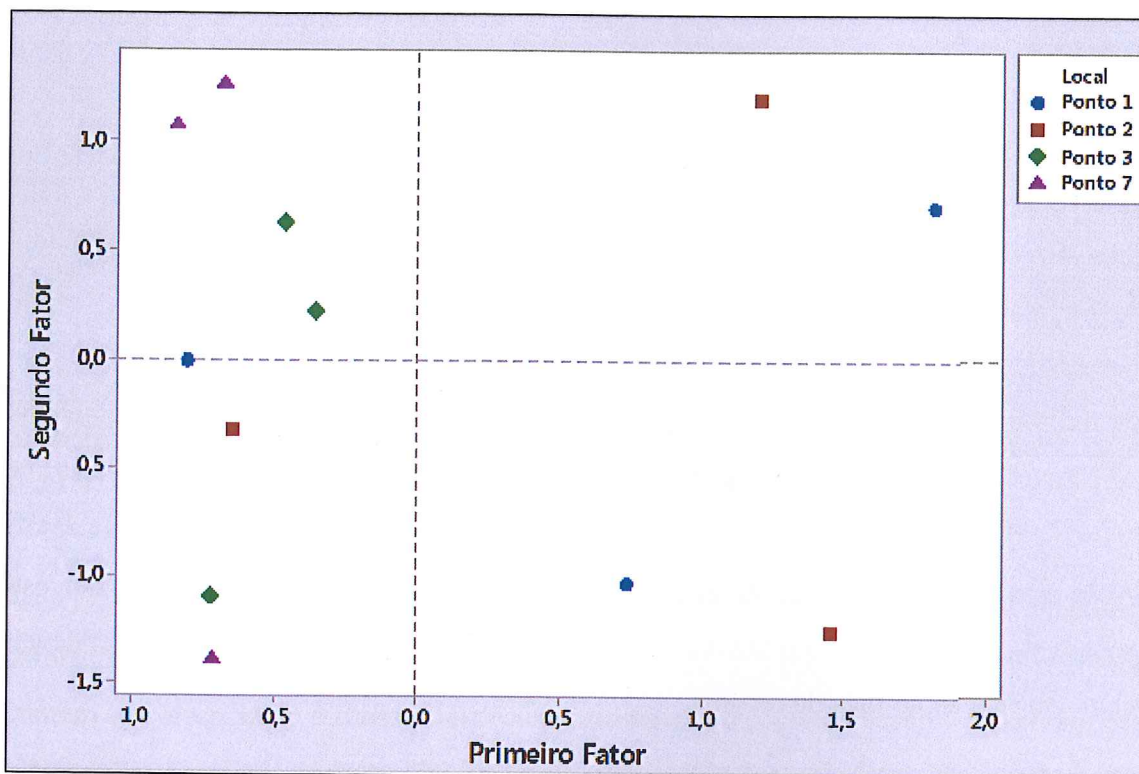


Figura 66 - Score plot por local para o primeiro e segundo fatores

Analisando o gráfico da figura 67, no qual estão representados os mesmos pontos do gráfico anterior mas distribuídos de acordo com o mês de recolha, verifica-se que o mês de Junho é o que mais influencia negativamente o primeiro fator pois possui para este apenas valores negativos.

Para o segundo fator existe uma forte influência negativa provocada pelo mês de Abril, o qual possui todos os seus valores para este fator inferiores a -1. Por outro lado os dois meses seguintes, principalmente Maio, influencia este fator positivamente.



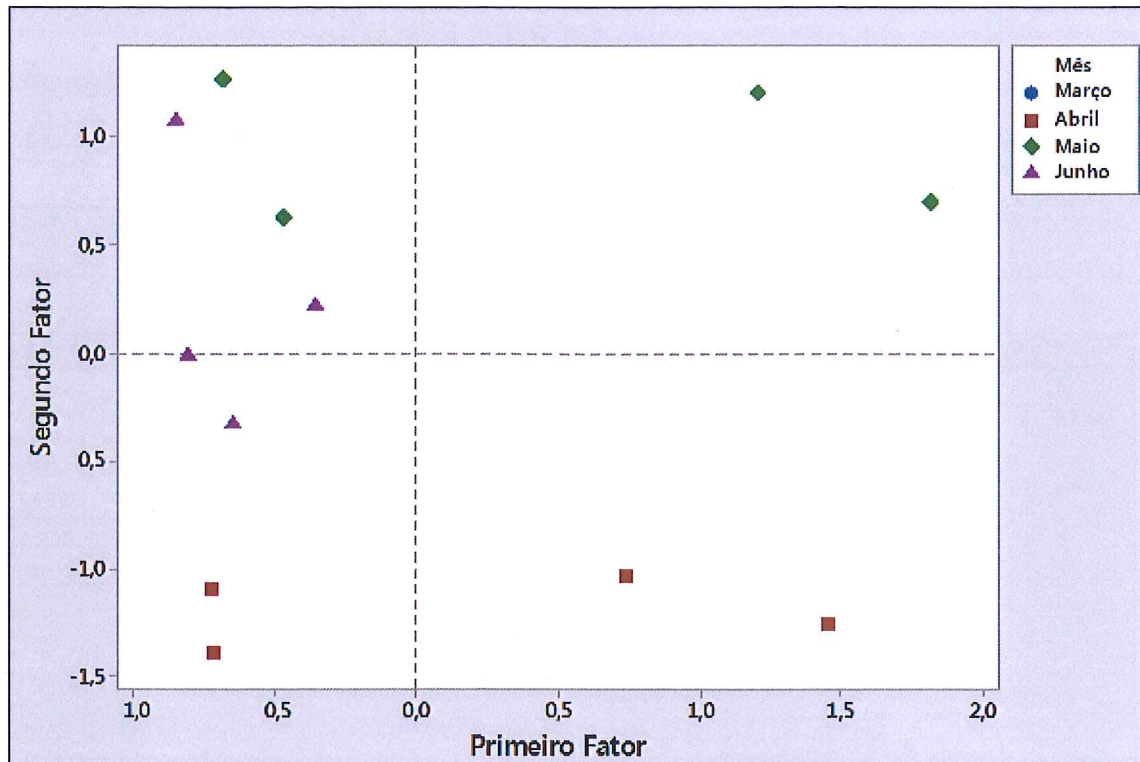


Figura 67 - Score plot por mês para o primeiro e segundo fatores

Após esta análise fatorial multivariada conclui-se, em relação ao segundo fator, que este possa estar relacionado com sazonalidade uma vez que é possível observar uma tendência clara em função do mês de recolha.

Já o primeiro fator é de mais difícil interpretação, no entanto fazendo uma análise global a todos os gráficos gerados por este tipo de análise parece provável que este fator esteja relacionado com a poluição que chega à RNPB.

## 5.2. Análise Canónica

A análise canónica resulta da necessidade de avaliar as relações entre dois grupos de variáveis onde o primeiro grupo consiste em variáveis dependentes múltiplas de interesse direto e o segundo é composto de variáveis que supostamente influenciam as variáveis do primeiro grupo. Os objetivos principais são determinar quais as variáveis dependentes, ou combinações, que são mais influenciadas e avaliar os efeitos das variáveis explanatórias, ou combinações de variáveis, que mais influenciam o grupo de variáveis de interesse que neste estudo são as famílias de macroinvertebrados.

A análise de correspondência canônica (CCA, “Canonical Correspondence Analysis”) é a técnica de análise de gradientes direta baseada na análise canônica (CA), em que os eixos interpretativos são obtidos dentro do algoritmo iterativo de ordenação usando um conjunto de variáveis ambientais. Na realidade, é uma ordenação que considera a restrição extra de que os eixos de ordenação sejam combinações lineares de variáveis ambientais (Manly, 1994).

A análise de correlação canônica assemelha-se à análise de correspondência canônica, visto que ambas procuram encontrar as relações entre dois conjuntos de dados multivariados (por exemplo, um conjunto de dados ambientais e um conjunto de dados relativos à abundância de espécies). Porém, a análise de correlação canônica assume respostas lineares para as variáveis ambientais, o que é improvável na natureza. Por sua vez a análise de correspondência canônica, como outros métodos de análise de correspondência, assume de forma mais razoável uma curva de resposta unimodal (Ter Braak e Prentice, 1988).

A CCA tem sido usada principalmente em ecologia para estudar as relações espécies-ambientes. Ambos conjuntos de dados são analisados simultaneamente: o primeiro contém a ocorrência de diferentes espécies e animais; e o segundo descreve as condições ambientais. A aplicação dessa técnica tem demonstrado ser uma importante ferramenta na identificação das relações espécie - ambiente, permitindo inclusive classificar espécies em termos de suas preferências quanto ao habitat.

A maior vantagem da CCA sobre todos os outros métodos de análise multivariada é admitir um teste de significância das variáveis ambientais na determinação dos padrões ambientais. A variação da comunidade pode ser diretamente relacionada com a variação ambiental, uma vez que os eixos de ordenação são escolhidos à luz do conhecimento das variáveis, por impor a restrição de que os eixos são combinações lineares das variáveis ambientais (Leps e Smilauer, 2003).

De forma a podermos relacionar os vários parâmetros analisados com os macroinvertebrados efetuou-se uma análise canônica, a qual foi possível através do *software* CANOCO 4.5 (Leps e Smilauer, 2003).



Para identificar os padrões de distribuição das espécies de macroinvertebrados que pudessem refletir as variações ambientais recorreu-se, numa primeira fase, a uma análise de correspondência retificada (DCA, “Detrended Correspondence Analysis”). Esta é uma análise de ordenação indireta de gradiente que tem um modelo de resposta unimodal. Os resultados dessa análise efetuada através do *software* CANOCO 4.5 encontram-se resumidos na tabela 9. Ao analisarmos os dados desta tabela verifica-se que, com exceção do eixo 1, todos os outros os eixos têm valores próprios baixos. Verifica-se também que o eixo 1 possui um valor para o comprimento de gradiente de 3,203. Uma vez que este valor é superior a 3 e menor que 4, pode efetuar-se uma CCA ou uma análise de redundância (RDA, “Redundancy Analysis”) (Leps e Smilauer, 2003), tendo-se optado por esta segunda (Tabela 10).

**Tabela 9 - Resumo da análise de correspondência retificada para teste de ajuste**

**** Summary ****						
Eixos		1	2	3	4	Inércia Total
Valores próprios	:	0.660	0.140	0.059	0.004	1.578
Lengths of gradient	:	3.203	1.207	1.346	1.321	
Correlações espécies-variáveis ambientais:		0.000	0.000	0.000	0.000	
Percentagem da variância acumulada						
espécies	:	41.8	50.7	54.4	54.7	
relação espécies-variáveis ambientais:		33.1	42.6	0.0	0.0	
Soma dos valores próprios						1.578
Soma dos valores próprios canónicos						1.578

**Tabela 10 - Resumo da análise de redundância**

**** Summary ****						
Eixos		1	2	3	4	Varância Total
Valores próprios	:	0.329	0.197	0.149	0.108	1.000
Correlações espécies-variáveis ambientais:		1.000	1.000	1.000	1.000	
Percentagem da variância acumulada						
espécies	:	32.9	52.6	67.5	78.2	
relação espécies-variáveis ambientais:		35.0	55.8	71.7	83.1	
Soma dos valores próprios						1.000
Soma dos valores próprios canónicos						0.941

Relativamente aos resultados da análise de redundância podemos verificar que 35% da variabilidade do sistema, contemplando a relação variáveis ambientais e espécies, está representada no eixo 1, 20,8% representada no eixo 2, 15,9% e 11,4% representada nos



eixos 3 e 4 respectivamente. Estes valores de variabilidade são calculados subtraindo à percentagem da variância acumulada do eixo em questão a do eixo anterior (por exemplo para o eixo 3 temos  $71,7\% - 55,8\% = 15,9\%$ ). Desta forma o conjunto de variáveis analisadas no estudo representam 83,1% de toda a variabilidade do sistema, existindo apenas 16,9% que são explicados por variáveis não analisadas, como condições meteorológicas ou caudais.

A análise de redundância é uma análise de ordenação direta de gradiente que, ao contrário da CCA que tem modelo de resposta unimodal, possui um modelo de resposta linear. Os resultados desta análise encontram-se resumidos na tabela 10 e representados graficamente na figura 68.

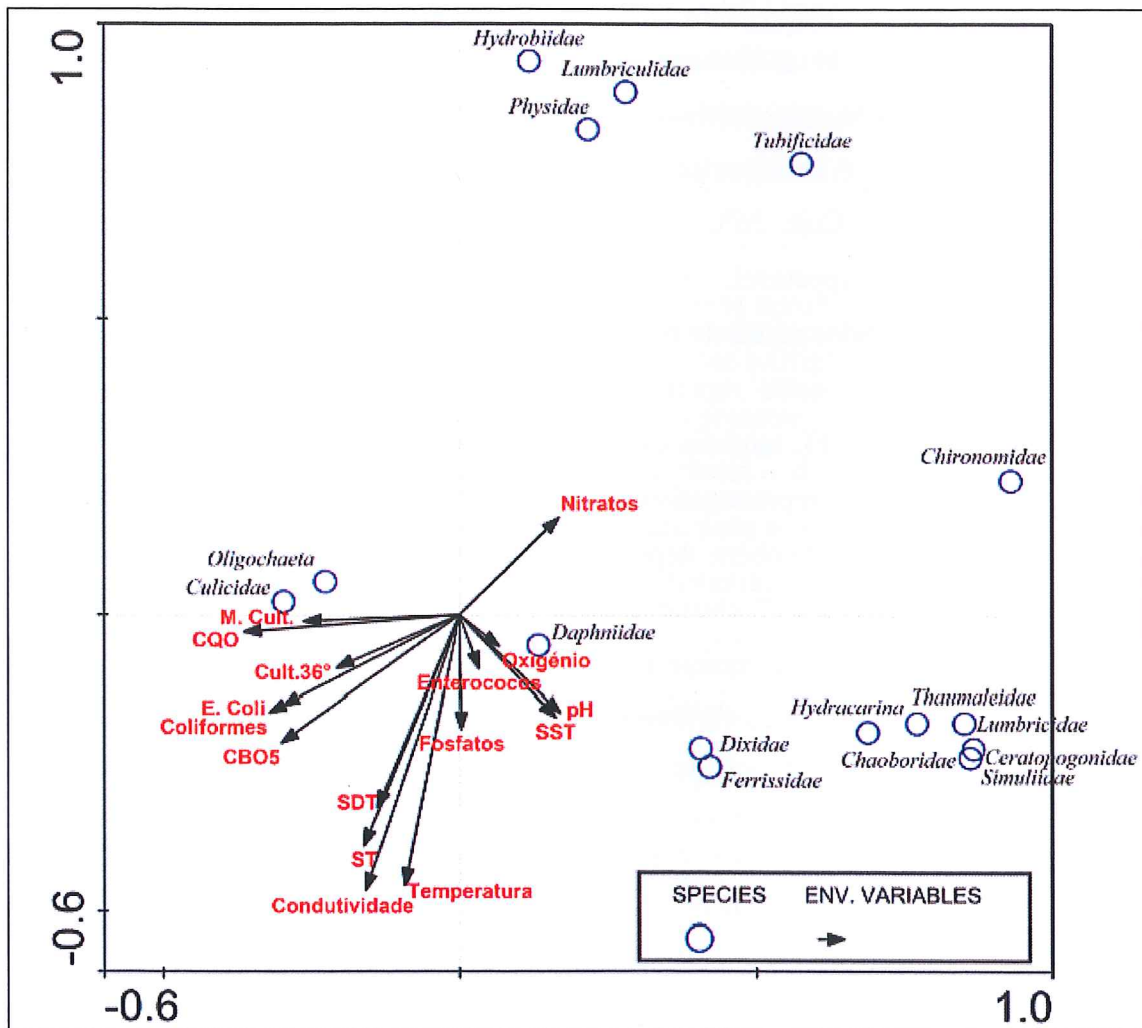


Figura 68 - Análise de redundância

No gráfico da figura 68 todas as variáveis ambientais analisadas se encontram representadas por setas, as quais se prolongam no sentido do aumento dos valores do respetivo parâmetro. Já todas as famílias de macroinvertebrados estão representadas por pontos.

Existem dois tipos de análises que se podem fazer a partir dos dados representados graficamente. Na primeira, que diz respeito apenas às variáveis ambientais, o grau de correlação entre duas variáveis é dado pelo ângulo que é formado pelas respetivas setas que as representam, isto é, essa correlação é tanto maior quanto menor for o ângulo entre as setas. A outra análise, que é a que mais nos interessa, é feita entre as variáveis ambientais e as famílias de macroinvertebrados. Nesta, o grau de correlação entre as variáveis ambientais e as famílias de macroinvertebrados é dado pela projeção perpendicular de linhas entre as setas e pontos que as representam.

Fazendo uma análise ao gráfico da figura 6 e tendo em conta apenas as variáveis ambientais, verifica-se que existem parâmetros que possuem um elevado grau de correlação entre si. A interpretação do 1º Fator indica a influência negativa de M.Cultiváveis, CQO, Cult. 36°C, *E.coli*, Coliformes e CBO<sub>5</sub>. A correlação entre os microrganismos é expectável, no entanto que o conjunto representa variáveis características de elevados níveis de poluição. Menos influenciável para o fator 1 será um segundo cluster onde estão representados os Enterococos, Fosfatos, Temperatura, Condutividade, ST e SDT, também estes um conjunto indicador de pobre qualidade de água, no entanto menos representativa para este fator, provavelmente pelo seu cariz de variabilidade poder ser também dependente de fatores naturais de alterabilidade de ecossistemas. Finalmente o 3º cluster representado pelas variáveis Oxigénio, pH, SST e Nitratos, influenciam positivamente o 1º fator, sendo os Nitratos representativamente mais notáveis que as restantes variáveis, o que se poderá atribuir aos baixos valores de variação observados para pH, Oxigénio e SST notáveis neste conjunto de análises.

O segundo fator, cuja variabilidade é claramente representada por um cluster negativo de todas as variáveis sendo influenciado positivamente pela variável Nitratos. Embora os Nitratos estejam normalmente associados a eventos de poluição e contaminação agrícola de ecossistemas, são também importantes em ambientes lênticos como forma de alimentar fenómenos de funcionamento de produtividade primária (Weller, 1994).



Como é óbvia a recolha de macroinvertebrados em ambiente lótico, a afirmação anterior poderá parecer contraditória, no entanto é perceptível quando analisamos a comunidade de macroinvertebrados cuja abundância está correlacionada com os Nitratos e concluímos que são caraterísticos de ambientes lênticos, aliás como são quase todas as famílias representadas com exceção das famílias da ordem dos Gastrópodes.

A interpretação das correlações entre variáveis abióticas e bióticas, não é clarividente na representação gráfica, apenas as famílias Culicidae, Oligochaeta e Daphniidae com uma abundância respetiva de 29, 5 e 14, estão muito bem correlacionadas com o conjunto de variáveis representadas. Não sendo estas famílias as mais representativas do conjunto analisado, não são também aquelas cuja abundância se poderá explicar com captura accidental.

A interpretação evidente será a importância do Oxigénio Dissolvido, pH e SST para a família Daphniidae que sendo caraterística de águas paradas foi recolhida apenas no ponto 3 que devido à redução dos caudais do Almonda apresenta caraterísticas semelhantes àquelas observadas dentro do paul pelo aumento da sua contribuição para os caudais neste ponto.

Outra interpretação que se poderá tirar, sem uma análise aprofundada das caraterísticas das famílias, será a correlação entre as famílias Culicidae e Oligochaeta com a CQO e M. Cultiváveis. Podemos interpretar que a CQO representa um papel principal na interpretação, sendo responsável pela ocorrência de micro-organismos e subsequentemente as famílias de macroinvertebrados. Esta sequência trófica, dependente na sua origem de matéria orgânica em excesso no sistema, é um excelente indicador do funcionamento deste ecossistema.

A distribuição das restantes famílias está representada por dois clusters, o primeiro positivamente influenciado por ambos os fatores representado no quadrante superior direito do gráfico, embora mais representativamente projetado pelo 2º fator e condicionalmente favorecido pela presença de nitratos no sistema, é sem dúvida um dos mais importantes na interpretação deste gráfico.

Ao interpretar as famílias representadas pelo cluster 1, Hydrobiidae (19), Lumbriculidae (66), Physidae (77), Tubificidae (336) e Chironomidae (619), todas elas apresentam elevados valores de abundância no ecossistema e são todos eles microvoros, Physidae e Hydrobiidae raspadores e os restantes filtradores coletores, dependendo de matéria



orgânica fina particulada (FPOM), sendo que a influência de montante (poluição) principalmente de origem orgânica, favorece estas famílias aumentando os valores de nitratos.

O segundo cluster influenciado negativamente pelo segundo fator e positivamente pelo primeiro, localizado no quadrante inferior direito do gráfico, é composto por várias famílias pertencentes a grupos funcionais alimentares distintos, embora que todos eles microvoros, o que os distingue do 1º cluster é a preferência por habitats mais oxigenados com pouca variação de acidez e maior turbidez, podendo esta ser de maior produtividade primária (algas) o que auxilia a oxigenação ou de fatores ambientais que contribuam para uma maior hidrodinâmica do sistema e conseqüente arrastamento de partículas.

Não obstante ser ainda prematura uma conclusão objetiva sobre quais os fatores representados nos eixos 1 e 2, podemos confortavelmente atribuir ao fator 2 a influência de contaminação das águas por fontes de poluição orgânica e ao fator 1 a influência das características naturais do paul dependentes da sazonalidade e conseqüentes alterações hidrológicas.

Não será possível neste trabalho uma exploração mais aprofundada dos dados, no entanto, seria interessante colocar separadamente conjuntos de variáveis como covariáveis a fim de entender o funcionamento independente de cada um dos 3 clusters de variáveis identificados e a sua influência no conjunto de famílias presentes neste ecossistema.

## **Conclusão**

**Resumo:** Neste capítulo apresentam-se as principais conclusões relativas à realização deste projeto.





## Conclusão

A realização deste projeto de monitorização permitiu-nos através dos resultados obtidos retirar várias conclusões relativas aos vários parâmetros analisados e à situação global de qualidade ambiental da Reserva Natural do Paul do Boquilobo.

As análises físico-químicas e microbiológicas revelaram que existem elevados níveis de poluição na água da RNPB. Verifica-se também que houve uma deterioração da qualidade da água relativamente ao ano de 2014, nomeadamente nos pontos 1 – Entrada da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral, e com maior incidência nos meses de Abril e Maio, onde até visualmente foi possível detetar alterações significativas face ao mês de Março. De referir ainda que para vários parâmetros analisados existem valores bem acima dos valores legais para águas piscícolas, de rega e residuais. A título exemplificativo verificou-se que todos os valores de CBO5 referentes a 2015 se encontram acima de 6 mg O<sub>2</sub>/L que é o valor máximo estabelecido por lei para águas piscícolas. Nos meses de Abril e Maio de 2015 os valores deste parâmetro nos pontos 1 – Entrada da Reserva e 2 – Entrada da Reserva Integral foram vez e meia superiores ao valor limite de emissão para descargas de águas residuais que é de 40 mg O<sub>2</sub>/L.

As comunidades de macroinvertebrados apresentaram variações espaciais influenciadas pelas características de habitat analisadas. Nos meses de Março e Maio, nos pontos 1 e 3, as famílias mais abundantes foram Chironomidae e Tubificidae, expectável visto serem organismos mais tolerantes à poluição.

Através dos índices IPTIN e IBMWP, verificou-se que as águas pertencem maioritariamente à classe V, correspondendo a uma qualidade Má e Muito Crítica, respetivamente. Segundo estas classificações, pode-se concluir que as águas da Reserva do Paul se encontram muito poluídas e com grandes alterações nos ecossistemas naturais.

Em relação à amostragem e análise da fauna piscícola da RNPB concluímos que a pesca elétrica é um método de fácil utilização, que se pode adequar às condições observadas na Reserva, embora um melhor conhecimento das condições do local produzissem resultados mais adequados. Foi-nos possível iniciar a construção da base de dados, já com alguns espécimes encontrados, o que permitirá futuramente a produção do primeiro manual de identificação da fauna piscícola do Paul do Boquilobo, que consideramos possa vir a servir como ferramenta de conservação para esta área protegida.

Pela análise estatística, verificou-se que as variáveis analisadas explicam 83,1% da variabilidade do ecossistema. Os nitratos parecem ser os principais indicadores de poluição, responsáveis pelo desenvolvimento das famílias mais abundantes de macroinvertebrados encontrados, pertencentes ao grupo funcional alimentar de raspadores e filtradores coletores. Podemos inferir ainda que os dois fatores explicativos da variabilidade de qualidade da água podem ser atribuídos à influência das características naturais das diferentes zonas do Paul dependentes da sazonalidade e à influência da contaminação das águas por fontes de poluição orgânica.

Pelos valores observados no ponto 1 pode concluir-se que as fontes de poluição têm origem a montante da Reserva.

Existe também a necessidade de desenvolver ações de prevenção e consciencialização junto das populações envolventes à RNPB e das entidades municipais responsáveis, para que processo de deterioração da água que se tem vindo a verificar possa ser revertido.

## **Bibliografia/Webgrafia**





## Bibliografia/Webgrafia

- Abelho, M. (2013). *Protocolos de Microbiologia Ambiental - Parte 3 Microbiologia ambiental aplicada*. Obtido em 11 de Agosto de 2015, de ESAC: [http://www.esac.pt/Abelho/MicroAmbiental/Protocolos%5b3%5d\\_2012\\_2013.pdf](http://www.esac.pt/Abelho/MicroAmbiental/Protocolos%5b3%5d_2012_2013.pdf)
- ACES. (sd). *Streams: A National Heritage Worth Preserving*. Obtido em 13 de Setembro de 2015, de Aces: <http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-0911/>
- AGRO. (2007). *Caracterização do estado de referência, estabelecimento do caudal ecológico e programa de monitorização de Ribeira de Almansor*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.
- AgSolve. (2013). *Como e porque medir a Condutividade Elétrica com sondas multiparâmetros?*. Obtido em 15 de Agosto de 2015, de AgSolve: <http://www.agsolve.com.br/dicas-e-solucoes/como-e-porque-medir-a-condutividade-eletrica-com-sondas-multiparametros>
- Aguaciclo. (sd). *Parâmetros físico-químicos da água*. Obtido em 13 de Agosto de 2015, de Agua Ciclo: <http://www.aguaciclo.pt/index.php/quimica-agua/parametros-da-agua>
- Aguiar, F.C., Ferreira, M.T., Pinto, P. (2002). *Relative influence of environmental variables on macroinvertebrate assemblages from an Iberian basin*. *Journal North American Benthological Society* 21: 43-53
- Ahmed, A.A., Shah, S. (2015). *Application of adaptive neuro-fuzzy inference system (ANFIS) to estimate the biochemical oxygen demand (BOD) of Surma River*. *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*.
- Aitio, A., Kallio, A. (1999). *Exposure effect monitoring : a critical appraisal of their practical application*. *Toxicology Letters*. 108: 2-3 (1999) 137-147.
- Aitio, A., Kallio, A. (1999). *Exposure effect monitoring: a critical appraisal of their practical application*. *Toxicology Letters*. p.137-147
- Alba-Tercedor, J. (1996). *Macroinvertebrados acuaticos y calidad de las aguas de los rios*. *IV Simposio del Agua en Andalucia*, II, pp.203-213.

- Alba-Tercedor, J., Sánchez-Ortega, A. (1988). *Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978)*. *Limnetica* 4: 51-56.
- Allan, J.D. (1995). *Stream ecology. Structure and function of running waters*. Chapman & Hall, London.
- Amorim, A.C.F., Castillo, A.R. (2009). *Macroinvertebrados bentônicos como Bioindicadores da Qualidade da Água do Baixo Rio Perequê, Cubatão, São Paulo, BRASIL*. *Biodiversidade Pampeana.Uruguaiana*, v.7, n.1, p. 16-22, Fev. 2009.
- APA. (sd). *Recolha de amostras*. Obtido em 13 de Agosto de 2015, de APA: <http://www.apambiente.pt/index.php?ref=17&subref=161&sub2ref=897&sub3ref=951>
- APDA. (2012). *FT-MB-01 - Número de colónias a 37°C e 22°C*. Obtido em 23 de Agosto de 2015, de APDA: [http://www.apda.pt/site/ficheiros\\_eventos/201212041540-ft\\_mb\\_01\\_numero\\_de\\_colonias\\_a\\_22c\\_e\\_37c.pdf](http://www.apda.pt/site/ficheiros_eventos/201212041540-ft_mb_01_numero_de_colonias_a_22c_e_37c.pdf)
- APDA. (2012). *FT-MB-03 - Escherichia coli*. Obtido em 23 de Agosto de 2015, de APDA: <http://www.apda.pt/site/upload/FT-MB-03%20-%20Escherichia%20coli.pdf>
- Baptista, C. (2013). *Manual Prático das Aulas de Bioquímica*. Tomar: Instituto Politécnico de Tomar.
- Barbour, M.T., Gerritsen J., Snyder B. (1999). *Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish, 2nd edn. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office for Water; Washington*.
- Barnes, R.K., Mann, K.H. (1980). *Fundamentals of aquatic ecosystems*, Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Birk, S., Hering, D. (2006). *Direct comparison of assessment methods using benthic macroinvertebrates: a contribution to the EU Water Framework Directive intercalibration exercise*. *Hydrobiologia*, 566, 401-415.
- Blackcrows, (sd). *Paul do Boquilobo – Golegã*. Obtido em 27 de Setembro de 2015, de Blog – olhares cruzados: <http://olharescruzados.blogs.sapo.pt/49254.html>



- Caiada. (2010). *Salamandra-de-costelas-salientes (Pleurodeles waltl)*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, de [https://www.flickr.com/photos/francisco\\_s/5287988214](https://www.flickr.com/photos/francisco_s/5287988214)
- Callisto, M., Moretti, M., Goulart, M. (2001). *Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos*. Revta. Bras. Rec. Hid. 6 (1): 71-82.
- Cardoso, A., Rosado, P. (1998). *Paul do Boquilobo : Reserva Natural, Reserva da Biosfera, zona de protecção especial para as aves*. Reserva Natural do Paul do Boquilobo, Riachos, 1998.
- CE. (1992). *Diretiva 92/43/CEE do conselho de 21 de Maio de 1992 relativa à preservação dos habitats naturais e da fauna e da flora selvagens.*, JO L 206 de 22.7.1992, p.7.
- CE. (2000). *Comissão Europeia - Directiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 23 de Outubro de 2000 que estabelece um quadro de ação comunitária no domínio da política da água*. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*.
- Chang, R. (1994). *Química*. 5ª edição. Mc Graw Hill.
- Coimbra, C.N., Graça, M.A.S., Cortes, R.M.V. (1996). *The Effects of a Basic Effluent on Macrainvertebrate Community Structure in a Temporary Mediterranean River*. *Environmental Pollution* 3: 301-307.
- Correia. (sd). *Garça-Vermelha (Ardea purpurea)*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, de Graciete Oliveira:  
<http://gracieteoliveira.pbworks.com/w/page/35269484/Ardea%20purpurea%20-%20Gar%C3%A7a-vermelha>
- Curado, N. (sd). *Reserva Natural do Paúl do Boquilobo, uma zona húmida a cuidar no coração de Portugal*. Obtido em 27 de Setembro de 2015, 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>
- Decreto-Lei nº 238/98 de 1 de Agosto. Diário da República nº 176/98 - I Série A. Ministério do Ambiente. Lisboa.

- Digital. (2012). *Garça cinzenta ou Garça-real (Ardea cinerea)*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, em <http://www.digitall.pt/2012/02/garca-cinzenta-garca-real-ardea-cinerea.html>
- Eduardo. (2009). *Choupo (Populus nigra)*. ). Obtido em 28 de Setembro de 2015, de [http://arvoreejardim.blogspot.pt/2009\\_05\\_01\\_archive.html](http://arvoreejardim.blogspot.pt/2009_05_01_archive.html)
- Eros, T., Specziár, A., Bíró, P. (2012). *Assessing fish assemblages in reed habitats of a large shallow lake - A comparison between gillnetting and electric fishing*. Fisheries Research 96.
- Fernandes, L. (2014). *Avaliação microbiológica e físico-químicas da qualidade da água para o consumo humano na província do planalto central - Huambo - Angola*. Obtido em 19 de Agosto de 2015, de Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança: [https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/11755/1/Tese\\_final\\_Lafayette\\_16\\_12\\_2014.pdf](https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/11755/1/Tese_final_Lafayette_16_12_2014.pdf)
- 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](http://www.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t_040370156.pdf)
- Flickr. (sd). *Rã-verde (Rana perezi)*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, de Flickr: <https://www.flickr.com/photos/hugoamador/3938949454>
- Florevirtuelle. (sd). *Polygonum amphibium*. Obtido em 08 de Setembro de 2015, de florevirtuelle:[http://florevirtuelle.free.fr/index.php?id\\_partie=3&id\\_page=2&genre=Polygonum&espece=amphibium](http://florevirtuelle.free.fr/index.php?id_partie=3&id_page=2&genre=Polygonum&espece=amphibium)
- Fonseca, T. (2011). *Monitorização da Qualidade Biológica de Rios baseada nos Macroinvertebrados e Requalificação Fluvial dirigida a Populações Piscícolas*. Tese de Mestrado, IPBragança.
- FUNASA. (2014). *Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS*. Obtido em 16 de Agosto de 2015, de FUNASA: [http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files\\_mf/manualcont\\_quali\\_agua\\_tecnicos\\_trab\\_emetas.pdf](http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manualcont_quali_agua_tecnicos_trab_emetas.pdf)
- Geralforum. (2010). *Lontra (Lutra lutra)*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, de <http://faunaiberica.blogspot.pt/2007/07/lontra-super-predadora-dos-nossos-rios.html>



Godinho, A., Fróis, A., Oliveira, A., Marôco, J., Lopes, V. (2012). *Cartografia Ecológica e Monitorização Ambiental da Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Instituto Politécnico de Tomar. Tomar.

Gonçalves, M. (2001). *Métodos Instrumentais para Análise de Soluções*. Fundação Calouste Gulbenkian, 4ª Edição, Lisboa 2001.

Greenberg, A.E., Clesceri, L.S., Eaton, A.D. (1992). *Standard Methods*. 18 th edition.

Hoet, P. (1996). General Principals in Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace. Vol.1:1-19. World Health Organization. Geneve.

ICNF. (sd). *Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, de Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ap/r-nat/rnpb>

INAG, I.P. (2008). *Manual para a avaliação biológica da qualidade da água em sistemas fluviais segundo a Directiva Quadro da Água Protocolo de amostragem e análise para a fauna piscícola*. Obtido em 20 de Setembro de 2015, de Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água, I.P.

INAG, I.P. (2008a). *Manual Para a Avaliação Biológica da Qualidade da Água em Sistemas Fluviais segundo a Directiva Quadro da Água - Protocolo de amostragem e análise para os Macroinvertebrados Bentónicos*. Obtido em 21 de Setembro de 2015, de <http://www.apambiente.pt/dqa/assets/01-protocolo-de-amostragem-e-an%C3%A1lise-para-os-macroinvertebrados-bent%C3%B3nicos.pdf>.

INAG, I.P. (2009). *Critério para a classificação do estado das massas de água superficiais - Rios e Albufeiras*. In: Ministério do Ambiente, d.T.e.d.D.R. (Ed.).

João, M., Braz, R. (sd). *A eutrofização dos sistemas aquáticos*. Obtido em 19 de Agosto de 2015, de Naturlink: <http://naturlink.sapo.pt/NaturSAPO/Artigos/content/A-eutrofizacao-dos-sistemas-aquaticos?bl=1&viewall=true>

Jones, G., Russo, D. (2015). *Bats as bioindicators*. Obtido em 21 de Setembro de 2015, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1616504715000312>

Jouanneau, S., Recoulesb, L., Duranda, M.J., Boukabacheb, A., Picoth, V., Primaultc, Y., ... Thouanda, G. (2014). *Methods for assessing biochemical oxygen demand (BOD)*:



*A review*. Water Research. Volume 49, Pages 62–82. Obtido em 16 de Junho de 2015, de Science Direct: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135413008920>

Kottelat, M., Freyhof, J. (2007). *Handbook of European Freshwater Fishes*. Ed. Kottelat & Freyhof. Switzerland.

Krebs, C.J. (1985). *Ecology. The Experimental Analysis of distribution and Abundance*. 3ªEd. Harper & Row, Publishers. USA.

Leps, J., Smilauer, P. (2003). *Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO*. Cambridge University Press. United Kingdom. Obtido em 30 de Setembro de 2015, de: [http://www.planta.cn/forum/files\\_planta/multivariate\\_analysis\\_of\\_ecological\\_data\\_using\\_canoco\\_390\\_173.pdf](http://www.planta.cn/forum/files_planta/multivariate_analysis_of_ecological_data_using_canoco_390_173.pdf)

Manly, B.F.J. (1994). *Multivariate statistical methods*. London, Chapman & Hall, 1994.

Markos. (2008). *Análise de Águas & Efluentes*. Obtido em 25 de Agosto de 2015, de C2O: [http://www.c2o.pro.br/analise\\_agua/a1833.html](http://www.c2o.pro.br/analise_agua/a1833.html)

Moraes, P. (sd). *Ciclo de Nitrogénio*. Obtido em 21 de Agosto de 2015, de Mundoeducacao: <http://www.mundoeducacao.com/biologia/ciclo-nitrogenio.htm>

Morais, C. (2005). *Escalas de Medida, Estatística Descritiva e Inferência Estatística*. Instituto Politécnico de Bragança. Bragança. Obtido em 30 de Setembro de 2015, de IPB: <http://www.ipb.pt/~cmmm/conteudos/estdescr.pdf>

Mourinha, C., Morais, M.M., Rosado, J., Durão, A. (2013). *Avaliação da qualidade ecológica em linhas de água utilizando macroinvertebrados bentónicos*. 10ª CNA - XII CNEA.

MuseuCM Manteigas. (sd). *Lagartixa-ibérica (Podarcis hispanica)*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, de Museu de Manteigas: <http://museu.cm-manteigas.pt/2014/09/lagartixa-de-montanha-3/>

Nascimento, T., Boijink, C., Pádua, D. (2007). *Efeito do pH da água no equilíbrio iônico de alevinos de *Piaractus mesopotamicus**. Obtido 13 de Agosto de 2015, de Empraba: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/115054/1/QAGUA-06.pdf>

Norma ISO 6222:1999 - *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms*.

Norma ISO 7899-2:2000 - *Water quality - Detection and enumeration of intestinal enterococci*.

Norma ISO 9308-1:2000 - *Water quality - Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria*.

O Riachense. (2015a). *Área da Reserva do Paul aumentada para manter título da UNESCO*. O Riachense, 30 de Setembro 2015.

O Riachense. (2015b). *APA confirma descargas clandestinas da Fabrióleo e suspende licença*. O Riachense, 30 de Setembro 2015

Odum, E.P. (1985). *Trends expected in stressed ecosystems*. BioScience 35 (7): 419-422.

Odum, E.P. (1988). *Fundamentos de ecologia*. Fundação Calouste Gulbenkian, 4ª Edição, Lisboa.

Oliveira, A. (1985). *Alcalinidade e Dureza das Águas*. Obtido em 3 de Setembro de 2015 em Kurita: [http://www.kurita.com.br/adm/download/Alcalinidade\\_e\\_Dureza.pdf](http://www.kurita.com.br/adm/download/Alcalinidade_e_Dureza.pdf)

Oliveira, J.M. (Coord.), Santos, J.M., Teixeira, A., Ferreira, M.T., Pinheiro, P.J., Geraldes, A., Bochechas, J. (2007). *Projecto AQUARIPORT: Programa Nacional de Monitorização de Recursos Piscícolas e de Avaliação da Qualidade Ecológica de Rios*. Direcção-Geral dos Recursos Florestais, Lisboa, PETTS, G.E. 1994. *Rivers: Dynamic Components of Catchment Ecosystems*. In.

Oliveira. (2015). *Papa-ratos (Ardeola ralloides)*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, em <https://www.flickr.com/photos/pedrooliveira/18181197726>

Paris, C. (2011). *Garça-Noturna Nycticorax nycticorax hoactli*. Obtido em 28 de Setembro de 2015 em Olhares: <http://olhares.sapo.pt/garca-noturna-nycticorax-nycticorax-hoactli-foto5036989.html>

Parron, L., Muniz, D., Pereira, C. (2011). *Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água*. Obtido 13 de Agosto de 2015, de Empraba: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/921050/1/Doc232ultimaversao.pdf>



- Peixoto, M. (2008). *Qualidade Biológica da Água do Rio Cávado*. Obtido em 11 de Agosto de 2015, de Faculdade de Ciências da Universidade do Porto: [http://www.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t\\_040370140.pdf](http://www.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t_040370140.pdf)
- Pereira e Oliveira. (sd). *Mal-casada (Polygonum amphibium)*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, em <http://www.icnf.pt/portal/ap/r-nat/rnpb/flora>
- Pereira e Oliveira. (sd). *Narcissus fernandisii*. Obtido em 28 de Setembro de 2015, em <http://www.icnf.pt/portal/ap/r-nat/rnpb/flora>
- Pereira, R.S. (2004). *Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos*. Revista Electrónica de Recursos Hídricos. IPH-UFRGS. 1 (1):20-36. Obtido em 28 de Setembro de 2015, em: <http://www.abrh.org.br/informacoes/rerh.pdf>
- Pisciculturaafb. (sd). Obtido em 13 de Agosto de 2015, de Piscicultura FB: <http://www.pisciculturaafb.com.br/index.html>
- Piveli, R. (sd). *Aula 5: Características físicas das águas: cor, turbidez, sólidos, temperatura, sabor e odor*. Obtido em 14 de Agosto de 2015, de PHD: [http://www.phd.poli.usp.br/LeArq.aspx?id\\_arq=731](http://www.phd.poli.usp.br/LeArq.aspx?id_arq=731)
- Planetazul. (2009). *Reserva Natural do Paul de Boquilobo*. Obtido em 29 de Setembro de 2015, de Planetazul: <http://www.planetazul.pt/edicoes1/planetazul/desenvArtigo.aspx?a=15956&c=2502&r=37>
- Poulton, B.C., Wildhaber, M.L., Charbonneau, C.S., Fairchild, J.F., Mueller, B.G. Schmitt, C.J. (2003). *Longitudinal assesment of the aquatic macroinvertebrate community in the channelized lower Missouri river*. Environmental Monitoring and Assesment 85: 23-53.
- Ramos, A., Matos, M. (2014). *Ensaio de Monitorização Ambiental da Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Instituto Politécnico de Tomar. Tomar.
- RAMP. (sd). *Water Quality Indicators: Temperature and Dissolved Oxygen*. Obtido em 14 de Agosto de 2015, de Regional Aquatics Monitoring Program: <http://www.ramp-alberta.org/river/water+sediment+quality/chemical/temperature+and+dissolved+oxygen.aspx>



- Raposo, H., Sousa, M., Oliveira, M., Rosado, P. (2006). *Reserva Natural do Paul do Boquilobo*. Instituto da Conservação da Natureza: Lisboa.
- Reis, M. (2003). *A qualidade da água (para os mais jovens)*. Obtido em 15 de Agosto de 2015, de Água Online: <http://www.aguaonline.net/thematicarticle/content.php?id=18>
- Rocha, A.R.G. (2001). *Estudo da dinâmica espacio-temporal da comunidade de macroinvertebrados bentónicos do rio Âncora*. Tese de Mestrado, Universidade do Porto.
- Rodrigues. (sd). Garça-boieira (*Bubulcus ibis*). Obtido em 28 de Setembro de 2015, de <https://floraefauna.wordpress.com/bubulcus-ibis-garca-boieira-bubulcus-ibis/>
- Rosenberg, D.M., Resh, V.H. (eds.). (1993). *Freshwater Biomonitoring and Macroinvertebrates*. Chapman & Hall. New York.
- Samus -725G, (sd). *Electrofischer Professional Fishing Device*. Manual do Equipamento.
- Santos, P. (sd). *Identificada mancha de jacinto-de-água a três quilómetros do Alqueva*. Obtido em 29 de Setembro de 2015, de Agrotec: <http://www.agrotec.pt/noticias/identificada-mancha-de-jacinto-de-agua-a-tres-quilometros-do-alqueva/>
- Serra, S., Coimbra, N., Graça, M. (2009). *Invertebrados de água doce: chave de identificação das principais famílias*. Ed. Imprensa da Universidade de Coimbra. Coimbra.
- Silveira, M.P. (2004). *Aplicação do biomonitoramento para avaliação da qualidade da água em rios*. Obtido em 27 de Setembro de 2015, de: [http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos\\_36.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos_36.pdf)
- Silvia, M.T.F.C. (2012). *Macroinvertebrados como bioindicadores da qualidade da água em rios do Sul de Portugal: caso de estudo na Bacia Hidrográfica da Ribeira de Odelouca*. Tese de Mestrado, Universidade de Lisboa. Obtido a 6 de Setembro de 2015, de <http://repositorio.ul.pt>
- Sousa, E. (2001). *Noções sobre a qualidade da água*. Lisboa. Obtido em 14 de Agosto de 2015, de Instituto Superior Técnico: [https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/3779577242158/Nocoos\\_Qualidade\\_Agua\\_ERS.pdf](https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/3779577242158/Nocoos_Qualidade_Agua_ERS.pdf)

Tachet, H., Bournaud, M. Richoux, P. (1984). *Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces*. Université Lyon. Association Française de Limnologie, Lyon

Ter Braak, C.J.F., Prentice, I.C. (1988): *A theory of gradient analysis*. *Advances in Ecological Research*, 18:93–138

Ter Braak, C.J.F., Smilauer, P. (2002). *CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5)*. Ithaca, NY: Microcomputer Power.

Trentin, P., Bostelmann, E. (2010). *Programa interlaboratorial para sólidos totais, dissolvidos e em suspensão em amostras de água*. Obtido em 28 de Agosto de 2015, de BMetrologia: <http://banasmetrologia.com.br/wp-content/uploads/2012/01/Programa-Interlaboratorial.pdf>

Vale, B. (sd). *Efeitos prejudiciais na saúde humana derivados por ingestão de nitratos na zona vulnerável n.º1 (Freguesias: Apúlia, Fão) e na zona não vulnerável (Freguesias: Fonte Boa, Gandra, Gemeses, Rio Tinto)*. Obtido em 20 de Agosto de 2015, de RepositóriUM: <https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/7254/1/F21-EFEITOS%20PREJUDICIAIS%20NA%20SA%20C3%9ADE%20HUMANA.pdf>

Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R., Cushing, C.E. (1980). *The River Continuum Concept*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 130-137.

Vieira, M. (sd). *Os principais parâmetros monitorados pelas sondas multiparâmetros são: pH, condutividade, temperatura, turbidez, clorofila ou cianobactérias e oxigênio dissolvido*. Obtido em 17 de Agosto de 2015, de AgSolve: [http://www.agsolve.com.br/news\\_upload/file/Parametros%20da%20Qualidade%20da%20Agua.pdf](http://www.agsolve.com.br/news_upload/file/Parametros%20da%20Qualidade%20da%20Agua.pdf)

WBCSD. (2009). *Water Facts and Trends*. Obtido em 11 de Agosto de 2015, de WBCSD: <http://www.wbcd.org/Pages/EDocument/EDocumentDetails.aspx?ID=137&NoSearchContextKey=true>

Webpesca. (sd). Boga-Portuguesa (*Chondrostoma lusitanicum*). Obtido em 28 de Setembro de 2015, de <http://webpesca.no.sapo.pt/peixes.htm>

Weller, M. (1994). *Freshwater Marshes: Ecology and Wildlife Management*. Minesota University Press. USA.

WHO (2011). *Guidelines for drinking-water quality - 4th ed.* Obtido em 20 de Agosto de 2015, de World Health Organization: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf)

Xin, X., Li, K., Finlayson, B., Yin, W. (2015). *Evaluation, prediction, and protection of water quality in Danjiangkou Reservoir, China*. *Water Science and Engineering*. 8 (1): 30–39. Obtido em 26 de Maio de 2015, de Science Direct: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1674237015000125>








**Anexo A - Manual de Peixes da RNPB**







Nome científico <i>Alburnus alburnus</i>	Nome comum Alburnete	Imagem 
Caracteres ID Espinhas dorsais- 2 a 4; Barbatanas dorsais moles- 7 a 9; Espinhas anais- 3; Barbatanas anais moles- 14 a 20; vertebras 41 a 44; dimensões de 9 a 25Cm para adultos apresentando dimensões médias de 15Cm.		
Habitat Água doce e salobra, bento-pelágicos, pH 7 a 7; Profundidade 1m a 7; potamodromus (migrantes de água doce); Temperatura 10 a 20°C; espécie introduzida em Portugal considerada exótica invasora.		
Biologia Água abertas, lagos e rios de tamanho médio, formam grandes cardumes em águas interiores durante o inverno; Adultos são pelágicos alimentando-se junto à superfície de insectos em drift, enquanto os juvenis ocupam habitat pelágico, junto à margem	Conservação LC - Pouco ameaçada	
Comentários Espécie abundante no Paul do Boquilobo		
Referências Kottelat, M., 1997. European freshwater fishes. Biologia 52		


Nome científico <i>Cyprinus carpio</i>	Nome comum Carpa	Imagem 
Caracteres ID Espinhas dorsais- 3 a 4; Barbatanas dorsais moles- 17 a 23; Espinhas anais-2 a 3; Barbatanas anais moles- 5 a 6; vertebras 36-37; Dois pares de barbatanas; Dimensões de 25 a 36 cm para adultos apresentando dimensões médias de 34,9 cm.		
Habitat Água doce e salobra, bento-pelágicos, pH 7 a 7,5; Profundidade 10m a 15m; potamodromus (migrantes de água doce); Temperatura 3 a 35°C; espécie subtropical		
Biologia As espécies adultas habitam em locais profundos, quentes e com pouca corrente (lagos, rios). Tanto os adultos como os juvenis alimentam-se de organismos bentônicos e plantas.	Conservação VU - Vulnerável	
Comentários Espécie abundante em Portugal Continental e no Paul do Boquilobo		
Referências Kottelat, M. and J. Freyhof, 2007. Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin		

Nome científico <i>Mugil cephalus</i>	Nome comum Fataça	Imagem 
Caracteres ID Espinhas dorsais - 5; Barbatanas dorsais moles- 7 a 9; Espinhas anais - 3; Barbatanas anais moles- 8 a 9; Dimensões de 30 a 7 cm para adultos apresentando dimensões médias de 34,4cm; Possuem cabeça larga e achatada; Idade e comprimento máximo registado - 16 anos, 120cm, respectivamente.		
Habitat Água doce, Marinhas e salobras; bento-pelágicos; Catodromo, (espécies que migram para desovar no mar); Profundidade 0m a 120m, mas normalmente habitam profundidades até 10; Temperatura 8 a 24°C; espécie sub-tropical		
Biologia Os adultos podem-se ser encontrados em rios, lagoas, estuários e junto à costa. Normalmente estão sobre a areia e/ou junto às lamas no fundo. Espécies maioritariamente diurnas que se alimentam de detritos, micro-algas e organismos	Conservação LC - Pouco ameaçada	
Comentários Espécie abundante em Portugal e no Paul do Boquilobo		
Referências Harrison, I.J., 1995. Mugilidae. Lisas. p. 1293-1298. In W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter and V. Niem (eds.) Guia FAO para Identificação de Especies para lo Fines de la Pesca. Pacifico Centro-Oriental. 3 Vols. FAO, Rome.		

Nome científico <i>Gambusia holbrooki</i>	Nome comum Gambusia	Imagem 
Caracteres ID Espinhas dorsais - 1; Barbatanas dorsais - 7; Espinhas anais - 1; Barbatanas anais- 9; Comprimento máximo 3,5cm para os machos e 8cm para as femeas.		
Habitat Água doce e salobra, bento-pelágicos, pH 6 a 8,8; Profundidade até 40m; potamodromus (migrantes de água doce); Temperatura 15 a 35°C; espécie sub-tropical		
Biologia Os adultos habitam águas paradas, especialmente lagoas com vegetação e lagos. Os adultos alimentam-se de pequenos insetos terrestres normalmente à deriva e entre plantas aquáticas.	Conservação LC - Pouco ameaçada	
Comentários Espécie abundante em Portugal Continental e no Paul do Boquilobo		
Referências Page, L.M. and B.M. Burr, 1991. A field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico. Houghton Mifflin Company, Boston.		



Nome científico <i>Chondrostoma oligolepis</i>	Nome comum Ruivaco	Imagem 
Caracteres ID Espécie de pequeno tamanho com corpo levemente comprimido, perfil da cabeça ligeiramente convexa. A boca é ligeiramente infera (para baixo), subterminal, arqueada e sem barbilhos. O ruivaco apresenta escamas de grandes dimensões, com uma linha lateral muito marcada geralmente com 32 a 40 escamas. A barbatana dorsal é sempre maior que a barbatana anal. Comprimento máximo é de 25cm para os machos e 15cm para as fêmeas.		
Habitat Água doce; bento-pelágicos; Habitam zonas pouco profundas; Resistente à falta de oxigénio; Não habitual em albufeiras.		
Biologia Estão presentes em rios, junto aos estuários. Ameaçados devido à poluição e destruição de habitats	Conservação LC - Pouco ameaçada	
Comentários Espécie abundante em Portugal Continental e no Paul do Boquilobo ( durante o período que a reserva se encontra inundada)		
Referências Robalo, J.I., I. Doadrio, V.C. Almada and M. Kottelat, 2005. <i>Chondrostoma oligolepis</i> , new replacement name for <i>Leuciscus macrolepidotus</i> Steindachner, 1866 (Teleostei: Cyprinidae). <i>Ichthyol. Explor. Freshwat.</i>		

Nome científico <i>Ictalurus punctatus</i>	Nome comum Peixe Gato Americano	Imagem 
Caracteres ID Normalmente azulados, cinzentos ou pretos na parte superior do corpo, tornando-se brancos na parte inferior. O seu corpo apresenta pontos escuros dispersos nos flancos. Os machos apresentam uma cor mais escura, apresentando grandes bigodes e cauda fortemente bifurcada. Os adultos tem comprimentos de 36 a 132cm. O comprimento comum são 57cm, com peso máximo publicado de 26,3Kg. Idade máxima, 24 anos.		
Habitat Água doce; Bento-pelágico; ph de 6 a 8; Profundidade de 4 a 30m; Espécie sub-tropical; Temperatura de 10 a 32°C;		
Biologia Os adultos habitam rios e ribeira, preferindo águas limpas e bem oxigenadas. Podem ainda habitar lagos e reservatórios. Alimentam-se principalmente de pequenos peixes, crustáceos e pequenos mamíferos.	Conservação LC - Pouco ameaçada	
Comentários Espécie abundante em Portugal Continental e no Paul do Boquilobo		
Referências Page, L.M. and B.M. Burr, 1991. <i>A field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico</i> . Houghton Mifflin Company, Boston.		





## **Anexo B - Bioindicadores**





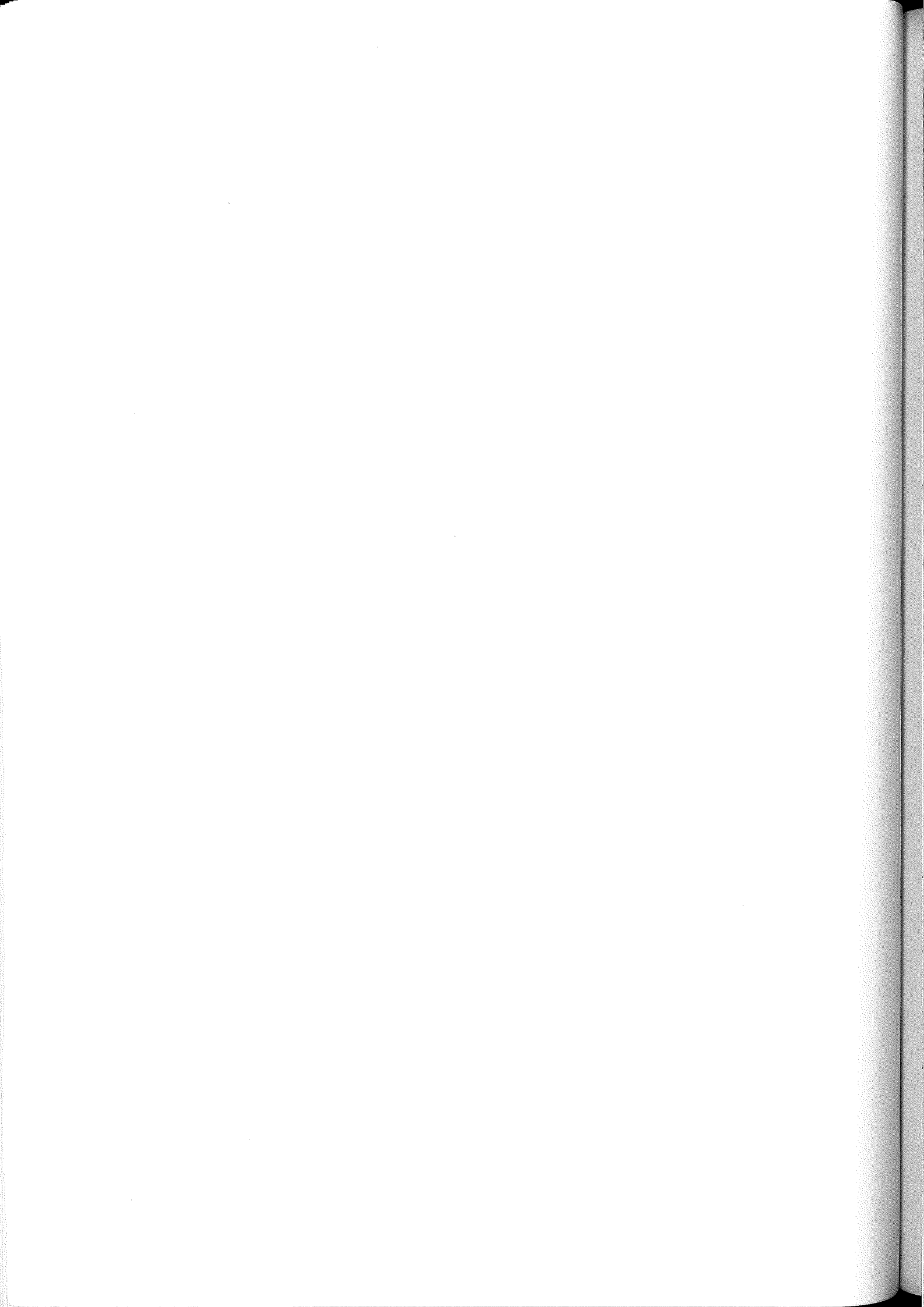
Tabela do Anexo B 1 - Pontuações atribuídas às diferentes famílias de macroinvertebrados aquáticos para o cálculo do IBMWP (adaptado de Alba-Tercedor e Sanchez Ortega 1988)

Famílias	Pontuação
Siphonuridae, Heptageniidae, Leptophlebiidae, Potamanthidae, Ephemeridae Taeniopterygidae, Leuctridae, Capniidae, Perlodidae, Perlidae Chloroperlidae Aphelocheiridae Phryganeidae, Molannidae, Beraeidae, Odontoceridae, Leptoceridae, Goeridae Lepidostomatidae, Brachycentridae, Sericostomatidae Athericidae, Blephariceridae	10
Astacidae Lestidae, Calopterygidae, Gomphidae, Cordulegasteridae, Aeshnidae Corduliidae, Libellulidae Psychomyiidae, Philopotamidae, Glossosomatidae	8
EphemereIIDae Prosopistomatidae Nemouridae Rhyacophilidae, Polycentropodidae, Limnephilidae, Ecnomidae	7
Neritidae, Viviparidae, Ancylidae, Thiaridae Hydroptilidae Unionidae Corophiidae, Gammaridae, Atyidae Platycnemididae, Coenagrionidae	6
Oligoneuriidae, Polymitarcidae Dryopidae, Elmidae, Helophoridae, Hydrochidae, Hydraenidae, Clambidae Hydropsychidae Tipulidae, Simuliidae Planariidae, Dendrocoelidae, Dugesiidae	5
Baetidae, Caenidae Halplidae, Curculionidae, Chrysomelidae Tabanidae, Stratiomyidae, Empididae, Dolichopodidae, Dixidae, Ceratopogonidae, Anthomyidae, Limoniidae, Psychodidae, Sciomyzidae Rhagionidae Sialidae Piscicolidae Hidracarina	4
Mesoveliidae, Hydrometridae, Gerridae, Nepidae, Naucoridae, Pleidae, Veliidae Notonectidae, Corixidae Helodidae, Hydrophilidae, Hygrobiidae, Dytiscidae, Gyrinidae Valvatidae, Hydrobiidae, Lymnaeidae, Physidae, Planorbidae Bithyniidae, Bythinellidae, Sphaeridae Glossiphoniidae, Hirudidae, Erpobdellidae Asellidae, Ostracoda	3
Chironomidae, Culicidae, Ephydriidae, Thaumaleidae	2
Oligochaeta (todas as classes), Syrphidae	1



**Anexo C - Análises Físico-Químicas e Microbiológicas**





## **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.

## **Determinação da 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 Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais**

### **MATERIAL UTILIZADO**

- Estufa;
- Exsiccador;
- 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 exsiccador 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 termostatizado. 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

- ST

$$ST = \frac{[(m_{\text{resíduo seco}} + m_{\text{cápsula}}) - (m_{\text{cápsula}})] \times 1 \times 10^6}{V_{\text{amostra}}}$$

Onde:

- $[m_{\text{resíduo seco}} + m_{\text{cápsula}}]$  (g)
- $m_{\text{cápsula}}$  (g)
- $V_{\text{amostra}}$  (mL)
- $SDT$  (mg/L)

- SDT

$$SDT = \frac{[(m_{\text{resíduo seco}} + m_{\text{cápsula}}) - (m_{\text{cápsula}})] \times 1 \times 10^6}{V_{\text{amostra}}}$$

Onde:

- $[m_{\text{resíduo seco}} + m_{\text{cápsula}}] (g)$
- $m_{\text{cápsula}} (g)$
- $V_{\text{amostra}} (mL)$
- $SDT (mg/L)$

- SST

$$SST = \frac{[(m_{\text{resíduo seco}} + m_{\text{filtro}}) - (m_{\text{filtro}})] \times 1 \times 10^6}{V_{\text{amostra}}}$$

Onde:

- $[m_{\text{resíduo seco}} + m_{\text{filtro}}] (g)$
- $m_{\text{filtro}} (g)$
- $V_{\text{amostra}} (mL)$
- $SST (mg/L)$

### EXEMPLO DE CÁLCULO

Recolha 1 ; Ponto 3 – Saída da Reserva

$$ST = \frac{[(m_{\text{resíduo seco}} + m_{\text{cápsula}}) - (m_{\text{cápsula}})] \times 1 \times 10^6}{V_{\text{amostra}}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow ST = \frac{(59,7895 - 59,7441) \times 1 \times 10^6}{100} = 454 \text{ mg/L}$$

$$SDT = \frac{[(m_{\text{resíduo seco}} + m_{\text{cápsula}}) - (m_{\text{cápsula}})] \times 1 \times 10^6}{V_{\text{amostra}}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow SDT = \frac{(69,4166 - 69,3775) \times 1 \times 10^6}{100} = 391 \text{ mg/L}$$

$$SST = \frac{[(m_{\text{residuo seco}} + m_{\text{filtro}}) - (m_{\text{filtro}})] \times 1 \times 10^6}{V_{\text{amostra}}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow SST = \frac{(0,1229 - 0,1198) \times 1 \times 10^6}{100} = 31 \text{ mg/L}$$



## **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

$$[\textit{Tiosulfato de Sódio}] = \frac{[\textit{Dicromato de Potássio}] \times V_{\textit{Dicromato de Potássio}}}{V_{\textit{Tiosulfato de Sódio gasto na aferição}}}$$

$$OD = \frac{[\textit{Tiosulfato de Sódio}] \times V_{\textit{Tiosulfato de Sódio gasto na titulação}} \times 8000}{V_{\textit{amostra}} - 2}$$

Onde:

- $V_{\text{Dicromato de Potássio}}$  (mL)
- $V_{\text{Tiossulfato de Sódio gasto na aferição}}$  (mL)
- $V_{\text{Tiossulfato de Sódio gasto na titulação}}$  (mL)
- $V_{\text{amostra}}$  (mL)
- $OD$  (mg O<sub>2</sub>/L)

### EXEMPLO DE CÁLCULO

Recolha 2; Ponto 2 – Entrada da Reserva Integral; Ensaio 2

$$[\text{Tiossulfato de Sódio}] = \frac{[\text{Dicromato de Potássio}] \times V_{\text{Dicromato de Potássio}}}{V_{\text{Tiossulfato de Sódio gasto na aferição}}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow [\text{Tiossulfato de Sódio}] = \frac{0,025 \times 20}{20,64} = 0,0242 \text{ N}$$

$$OD = \frac{[\text{Tiossulfato de Sódio}] \times V_{\text{Tiossulfato de Sódio gasto na titulação}} \times 8000}{V_{\text{amostra}} - 2} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow OD = \frac{0,0242 \times 0,36 \times 8000}{268,40 - 2} = 0,26 \text{ mg O}_2/\text{L}$$

Nota: O valor final de OD para este ponto e para esta recolha é de 0,13 mg O<sub>2</sub>/L uma vez que se fez a média dos dois ensaios realizados (OD do Ensaio 1 foi 0 mg O<sub>2</sub>/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 monohidratada 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 VELD-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 de dicromato de potássio (mL)*
- *V1 - volume de sulfato ferroso amoniacal (mL)*
- *N - normalidade da solução de titulante*

### CÁLCULOS

O valor de CQO (em mg O<sub>2</sub>/L) é obtido através da expressão:

$$CQO = \frac{(B - A) \times N \times 8000}{V_{amostra}}$$

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<sub>amostra</sub> - volume da amostra (mL)*
- *CQO - Carência Química de Oxigénio (mg O<sub>2</sub>/L)*



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 3; Ponto 7 – Limnígrafo;

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

$$\Leftrightarrow N = \frac{10 \times 0,25}{22,30} = 0,1121 N$$

$$CQO = \frac{(B - A) \times N \times 8000}{V_{amostra}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow CQO = \frac{(21,90 - 21,28) \times 0,1121 \times 8000}{20} = 27,8^* \text{ mg } O_2/L$$

\* Este valor não corresponde ao valor real que é apresentado na tabela geral (28,03 mg O<sub>2</sub>/L), uma vez que para o cálculo deste valor real se recorreu ao programa Excel o qual utiliza várias casas decimais nos cálculos intermédios o que afeta o valor final calculado.

## **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 oxigênio 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**

$$[\text{Tiosulfato de Sódio}] = \frac{[\text{Dicromato de Potássio}] \times V_{\text{Dicromato de Potássio}}}{V_{\text{Tiosulfato de Sódio gasto na aferição}}}$$

$$OD_{\text{inicial}} = \frac{[\text{Tiosulfato de Sódio}]_{\text{inicial}} \times V_{\text{Tiosulfato de Sódio gasto na titulação}} \times 8000}{V_{\text{amostra}} - 2}$$

$$OD_{\text{final}} = \frac{[\text{Tiosulfato de Sódio}]_{\text{final}} \times V_{\text{Tiosulfato de Sódio gasto na titulação}} \times 8000}{V_{\text{amostra}} - 2}$$

$$CBO_5 = \frac{OD_{\text{inicial}} - OD_{\text{final}}}{\text{Diluição}}$$

Onde:

- $V_{\text{Dicromato de Potássio}}$  (mL)
- $V_{\text{Tiosulfato de Sódio gasto na aferição}}$  (mL)
- $V_{\text{Tiosulfato de Sódio gasto na titulação}}$  (mL)
- $V_{\text{amostra}}$  (mL)
- $OD_{\text{inicial}}$  (mg O<sub>2</sub>/L)
- $OD_{\text{final}}$  (mg O<sub>2</sub>/L)
- $CBO_5$  (mg O<sub>2</sub>/L)

**EXEMPLO DE CÁLCULO**Recolha 4; Ponto 1 – Entrada da Reserva; Ensaio 1

$$[\text{Tioissulfato de Sódio}] = \frac{[\text{Dicromato de Potássio}] \times V_{\text{Dicromato de Potássio}}}{V_{\text{Tioissulfato de Sódio gasto na aferição}}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow [\text{Tioissulfato de Sódio}] = \frac{0,025 \times 20}{21,23} = 0,0232 \text{ N}$$

$$OD_{\text{inicial}} = \frac{[\text{Tioissulfato de Sódio}]_{\text{inicial}} \times V_{\text{Tioissulfato de Sódio gasto na titulação}} \times 8000}{V_{\text{amostra}} - 2}$$

$$\Leftrightarrow OD_{\text{inicial}} = \frac{0,0232 \times 12 \times 8000}{297,60 - 2} = 7,54 \text{ mg } O_2/L$$

$$OD_{\text{final}} = \frac{[\text{Tioissulfato de Sódio}]_{\text{final}} \times V_{\text{Tioissulfato de Sódio gasto na titulação}} \times 8000}{V_{\text{amostra}} - 2}$$

$$OD_{\text{final}} = \frac{0,0232 \times 10,98 \times 8000}{289,30 - 2} = 7,10 \text{ mg } O_2/L$$

$$CBO_5 = \frac{OD_{\text{inicial}} - OD_{\text{final}}}{\text{Diluição}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow CBO_5 = \frac{7,54 - 7,10}{1/30} = 17,70 \text{ mg } O_2/L$$

Nota: Os valores aqui apresentados servem apenas como exemplo de cálculo e não foram os valores reais calculados e que se apresentam ao longo de todo o projeto e que se encontram na tabela geral em anexo. Esta situação ocorre devido a terem sido realizados dois ensaios por amostra e por se ter recorrido ao programa Excel, o qual utiliza várias casas decimais nos cálculos intermédios o que afeta o valor final calculado.

## 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado a 600 mL de água destilada e dilua até 1 L com água destilada;
- Persulfato de Amónio, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> sólido
- Hidróxido de Sódio, NaOH, 1 mol/L
  - Dissolva 40 g de NaOH em 1 L de água destilada;
- Ácido Sulfúrico, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 5N
  - Diluir 70 mL de ácido concentrado em 500 mL de água destilada;
- Solução de Tartarato de Potássio e Antimónio
  - Dissolver 1,3715 g de K(SbO)C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>. ½ H<sub>2</sub>O 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 amónio
  - Dissolver 20 g de (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>. 4H<sub>2</sub>O 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 5N, 10 mL de solução tartarato de potássio e antimónio, 30 mL de solução de molibdato de amónio 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±0,02 mL da solução-padrão de fosfatos e transfira para um balão de 200±0,15 mL e complete com água destilada;

### **PREPARAÇÃO DOS PADRÕES E DAS AMOSTRAS**

Pipetar 50±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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5,4 mol/L até a cor desaparecer.

Adicionar 1±0,007 mL de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 0,4 g de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> sólido.

Levar à autoclave durante 30 minutos à temperatura de 120°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±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  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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.

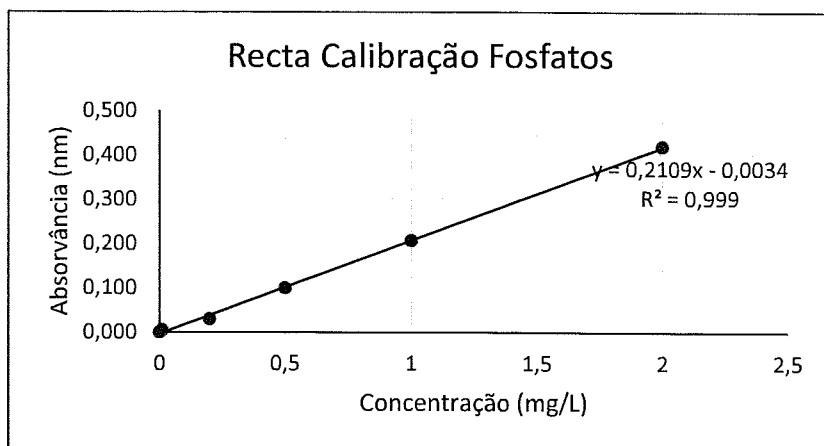
## APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS

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:

Recta de Calibração	
Concentração (mg/L)	Absorvância (nm)
0	0,000
0,01	0,005
0,2	0,030
0,5	0,100
1	0,207
2	0,420



*Equação da recta* →  $Absorvância = 0,2109 \times [Fosfatos] - 0,0034 \Leftrightarrow$

$$\Leftrightarrow [Fosfatos] = \frac{(Absorvância + 0,0034)}{0,2109}$$

Recolha 1; Ponto 3 – Saída da Reserva

$Absorvância = 0,242 \text{ nm}$

$$[Fosfatos] = \frac{(Absorvância + 0,0034)}{0,2109} = \frac{(0,242 + 0,0034)}{0,2109} = 1,164 \text{ mg/L}$$

Como foi realizada uma diluição de 1:10 da amostra a concentração de fosfatos da água é:

$$[Fosfatos] = \frac{1,164}{1/10} = 11,64^* \text{ mg/L}$$

\* Este valor não corresponde ao valor real que é apresentado na tabela geral (11,61 mg/L), uma vez que para o cálculo deste valor real se recorreu ao programa Excel o qual utiliza várias casas decimais nos cálculos intermédios o que afeta o valor final calculado.



## 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,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\rho = 1,05 \text{ g/mL}$
- 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 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ( $\rho = 1,84 \text{ g/mL}$ ) e  $1000 \pm 10 \text{ mL}$  de ácido ortofosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) ( $\rho = 1,71 \text{ g/mL}$ ) 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.

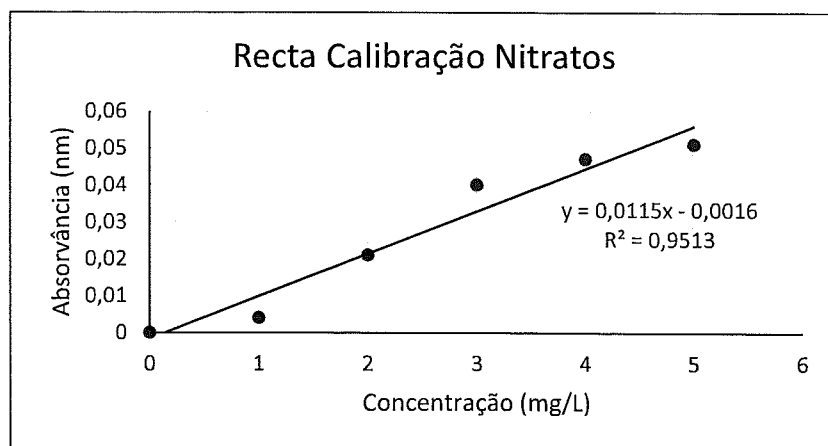
### **CÁLCULOS**

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:

Recta de Calibração	
Concentração (mg/L)	Absorvância (nm)
0	0,000
1	0,004
2	0,021
3	0,040
4	0,047
5	0,051



Equação da recta  $\rightarrow$  Absorvância =  $0,0115 \times [\text{Nitratos}] - 0,0016 \Leftrightarrow$

$$\Leftrightarrow [\text{Nitratos}] = \frac{(\text{Absorvância} + 0,0016)}{0,0115}$$



Recolha 3; Ponto 3 – Saída da Reserva

$$\text{Absorvância} = 0,012 \text{ nm}$$

$$[\text{Fosfatos}] = \frac{(\text{Absorvância} + 0,0016)}{0,0115} = \frac{(0,012 + 0,0016)}{0,0115} = 1,18 \text{ mg/L}$$

## 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 4; Ponto 1 – Entrada da Reserva;

M. Cultiváveis (UFC/mL) (36°C)	M. Cultiváveis (UFC/mL) (22°C)
3	8

Como se fez uma diluição de 1:10 000 temos:

$$N^{\circ} \text{ de } M. \text{ Cultiváveis (UFC/mL)} (36^{\circ}C) = \frac{3}{1/10000} = 30\ 000$$

$$N^{\circ} \text{ de } M. \text{ Cultiváveis (UFC/mL)} (22^{\circ}C) = \frac{8}{1/10000} = 80\ 000$$



## **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  $21\pm 3$  horas.

NOTA: a extensão do tempo de incubação para  $44\pm 4$  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  $21\pm 2$  horas.

Realizar nova(s) sementeira(s) em tubo de ensaio com caldo de triptofano. Incubar a  $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante  $21\pm 3$  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; Ponto 1 – Entrada da Reserva; Diluição de 1:100 000

Colónias		
Amarelas	Rosa	Laranja
52	36	10

- Teste da Oxidase:

Colónias	Repicadas	Positivas	Negativas	% Negativas
Amarelas	4	0	4	100,00%
Rosa	2	2	0	0,00%
Laranja	2	2	0	0,00%



- Teste do Indol:

Colónias	Nº de Tubos	Positivas	Negativas	% Positivas
Amarelas	4	3	1	75,00%
Rosa	0	0	0	0,00%
Laranja	0	0	0	0,00%

- Contagem de Coliformes Totais:

$$N^{\circ} \text{ Coliformes} = \frac{(C_A \times ON_A + C_R \times ON_R + C_L \times ON_L)}{\text{Diluição}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow N^{\circ} \text{ Coliformes} = \frac{(52 \times 100\% + 36 \times 0\% + 10 \times 0\%)}{1/100\,000} = 5\,200\,000$$

Onde:

- $C_A$  – nº de colónias amarelas iniciais
- $C_R$  – nº de colónias rosas iniciais
- $C_L$  – nº de colónias laranjas iniciais
- $ON_A$  – percentagem de colónias amarelas negativas ao teste da oxidase
- $ON_R$  – percentagem de colónias rosas negativas ao teste da oxidase
- $ON_L$  – percentagem de colónias laranjas negativas ao teste da oxidase

- Contagem de Bactérias *E. Coli*:

$$N^{\circ} \text{ E. Coli} = \frac{(C_A \times IP_A + C_R \times IP_R + C_L \times IP_L)}{\text{Diluição}} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow N^{\circ} \text{ E. Coli} = \frac{(52 \times 75\% + 36 \times 0\% + 10 \times 0\%)}{1/100\,000} = 3\,900\,000$$

Onde:

- $C_A$  – nº de colónias amarelas iniciais
- $C_R$  – nº de colónias rosas iniciais
- $C_L$  – nº de colónias laranjas iniciais
- $IP_A$  – percentagem de colónias amarelas positivas ao teste da indol
- $IP_R$  – percentagem de colónias rosas positivas ao teste da indol
- $IP_L$  – percentagem de colónias laranjas positivas ao teste da indol

## **Determinação de Enterococos Intestinais (Norma ISO 7899-2:2000)**

### **Definições**

Enterococos intestinais – bactérias capazes de reduzir o cloreto de 2,3,5 - trifeniltetrazólio (TTC) a formazana e de hidrolizar a esculina a 44°C no meio especificado.

Estas bactérias são Gram positivas, têm uma forma esférica-ovóide, geralmente formam cadeias e são catalase negativas.

### **Princípio**

Filtração de um volume de água amostra através de uma membrana filtrante com um poro de 0,45 mm de diâmetro, suficiente para reter bactérias. O filtro é colocado num meio sólido, selectivo, contendo azida de sódio (para suprimir o crescimento das bactérias Gram negativas) e TTC (incolor) que irá ser reduzido pelos enterococos intestinais a formazana (vermelha).

As colónias típicas apresentam uma cor vermelha, acastanhada ou rosa no centro da colónia ou na sua totalidade. Se existirem estas colónias é necessário realizar um teste de confirmação, transferindo-se a membrana para um novo meio de agar bÍlis-esculina-azida, pré-aquecido a 44°C.

Os enterococos intestinais vão hidrolisar a esculina deste meio num período de 2h. O produto final (6,7-dihidroxycumarina) combina-se com os iões Fe(III) e produzem um composto muito escuro ou preto que se difunde no meio, à volta das colónias.

### **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. Medir com proveta esterilizada 250 mL de água amostra (ou diluição apropriada). Filtrar.

Abrir o funil de filtração e com a pinça transferir a membrana para uma caixa de Petri com meio SB (Slanetz e Bartley). Incubar as caixas a  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  durante  $44 \pm 4\text{h}$ .

## 2 – Confirmação e contagem

Após incubação, considerar como típicas todas as colónias que apresentam uma cor vermelha, castanha ou rosa, quer a cor se apresente em toda a colónia ou somente no seu centro.

Se houver colónias típicas, usando uma pinça esterilizada transferir a membrana sem a inverter para uma caixa de Petri contendo agar BEA (bílis-esculina-azida) previamente aquecido a 44°C. Incubar a  $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$  durante 2h.

Examinar a placa imediatamente após este período de tempo.

Contar o nº de colónias que mostram um escurecimento do meio à sua volta.

Calcular o nº de UFC/100 mL da amostra.

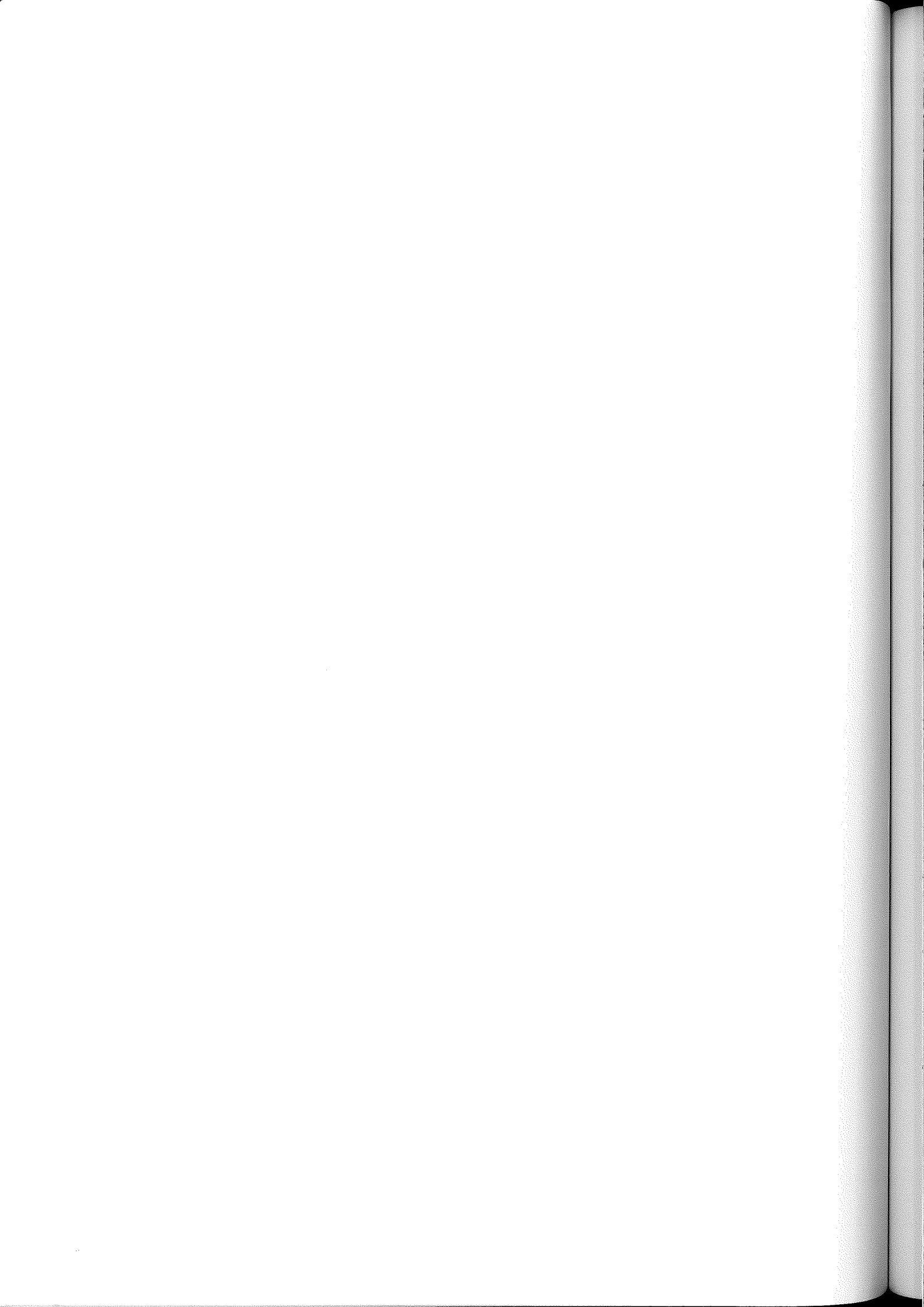
### **EXEMPLO DE CÁLCULO**

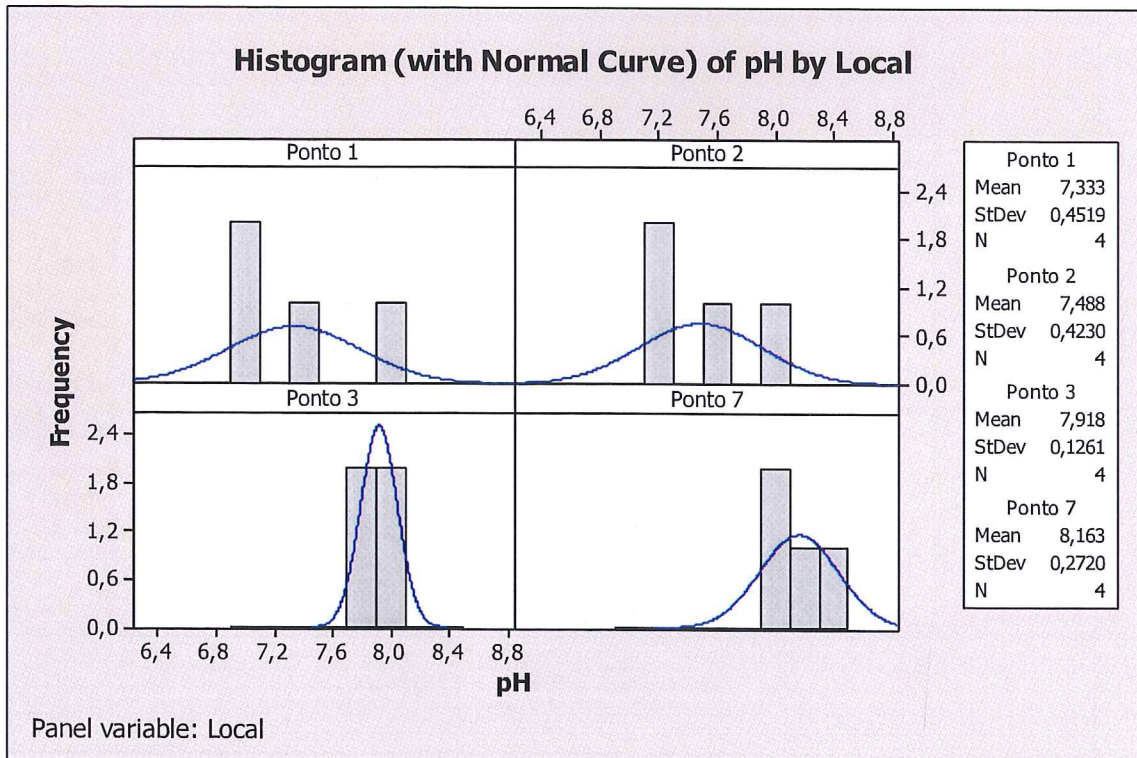
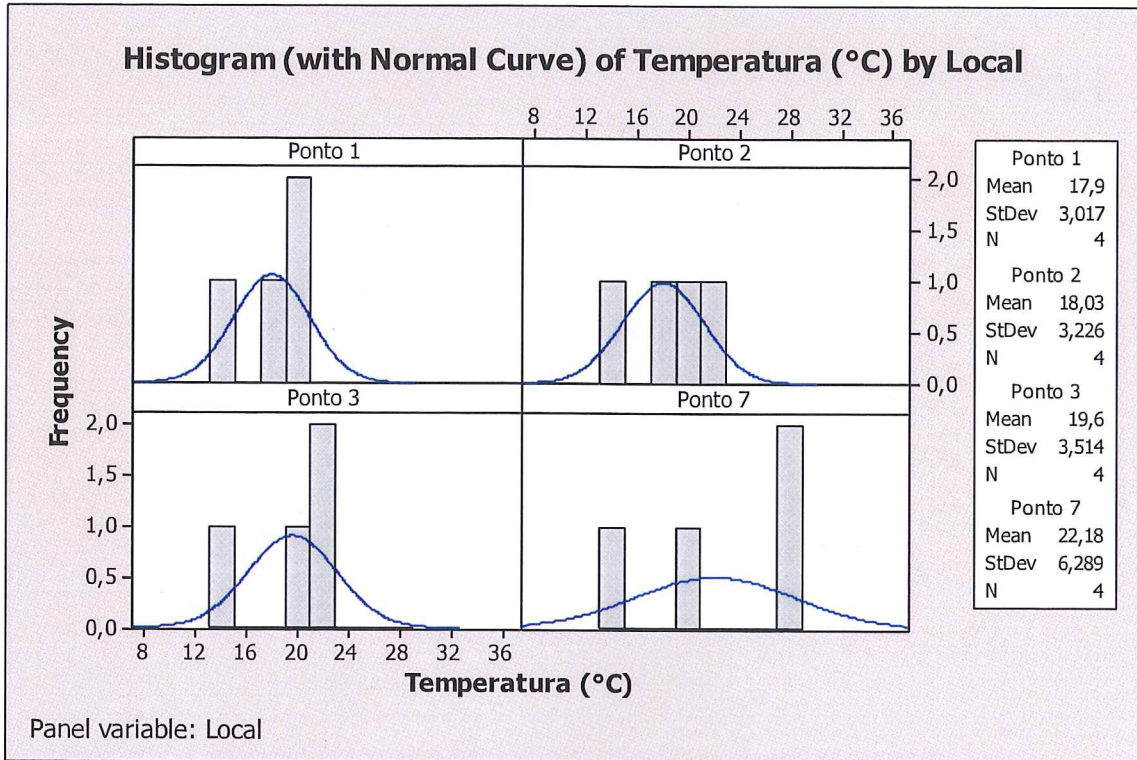
Recolha 3; Ponto 1 – Entrada da Reserva;

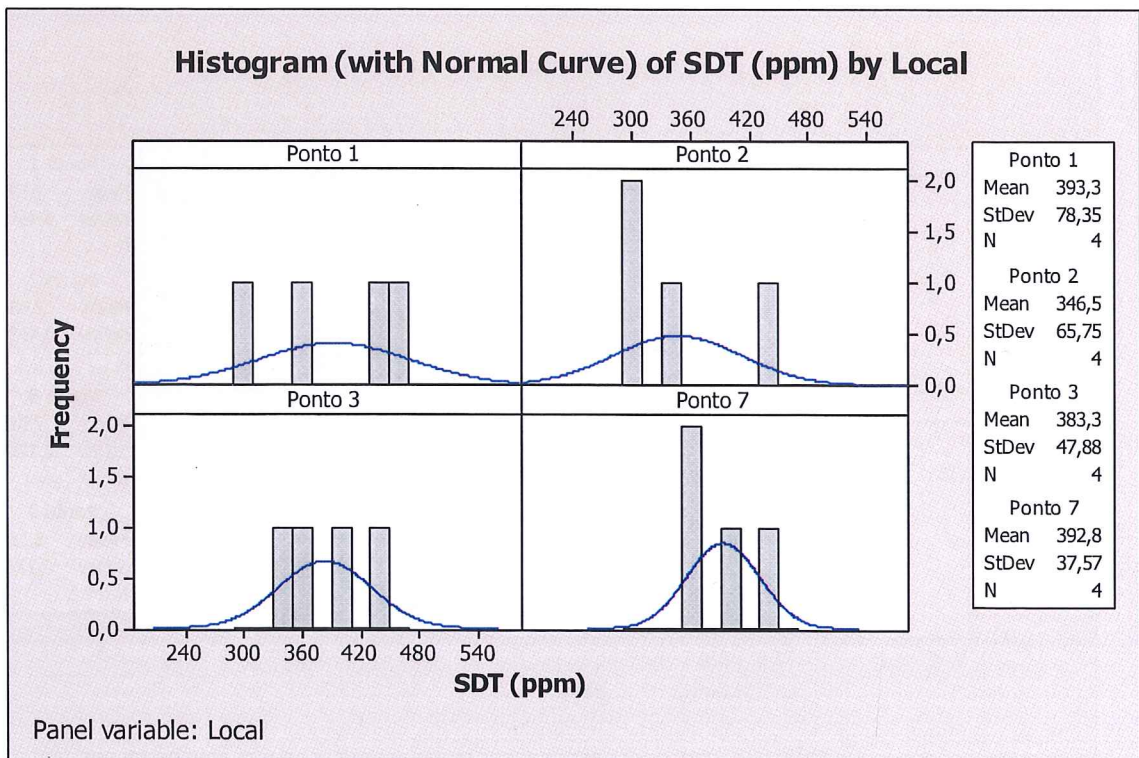
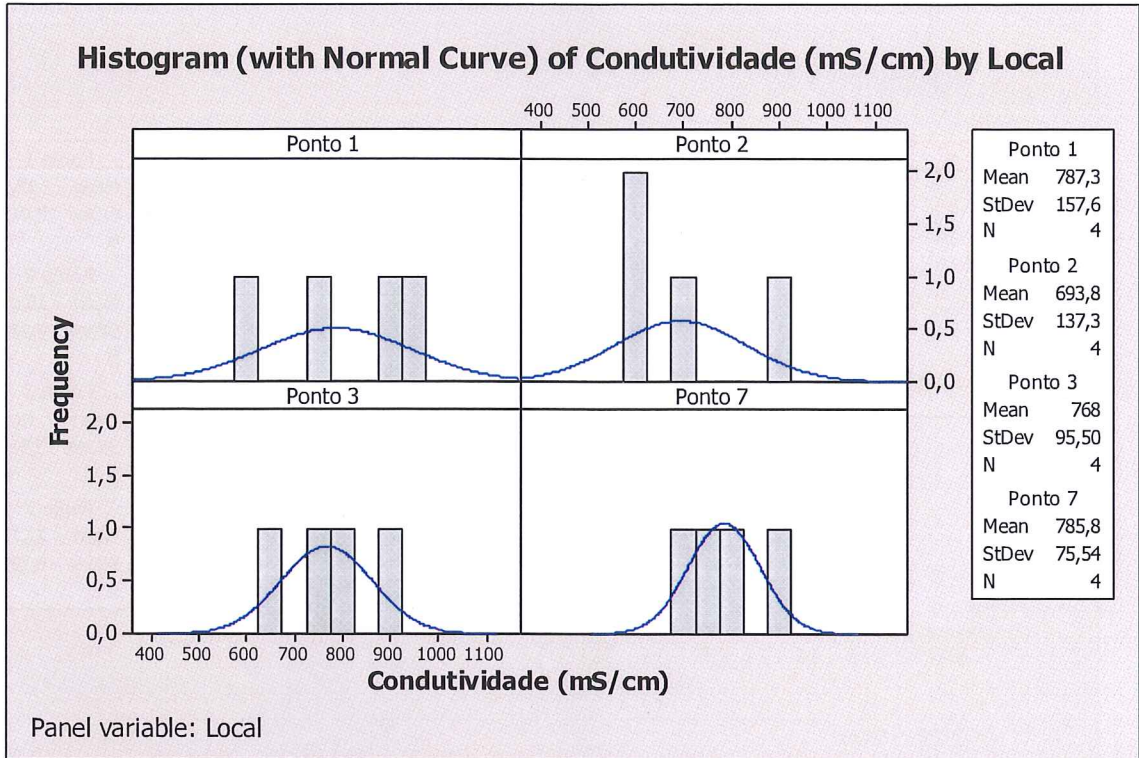
Enterococos Intestinais (UFC/100 mL)
46

## **Anexo D - Análise Estatística**



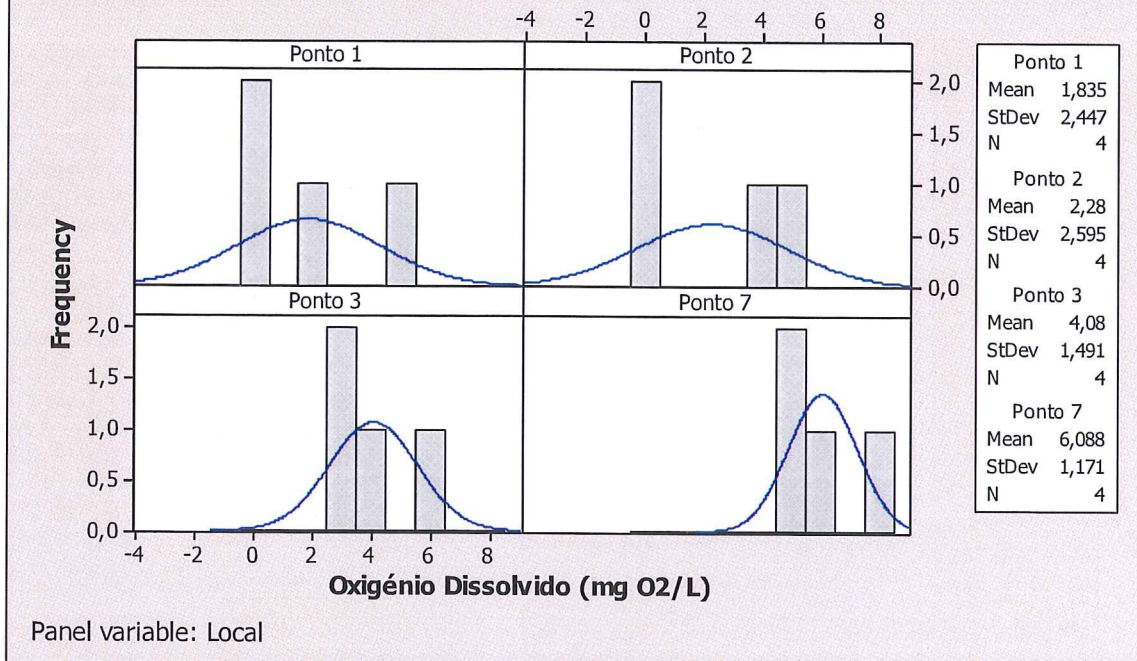




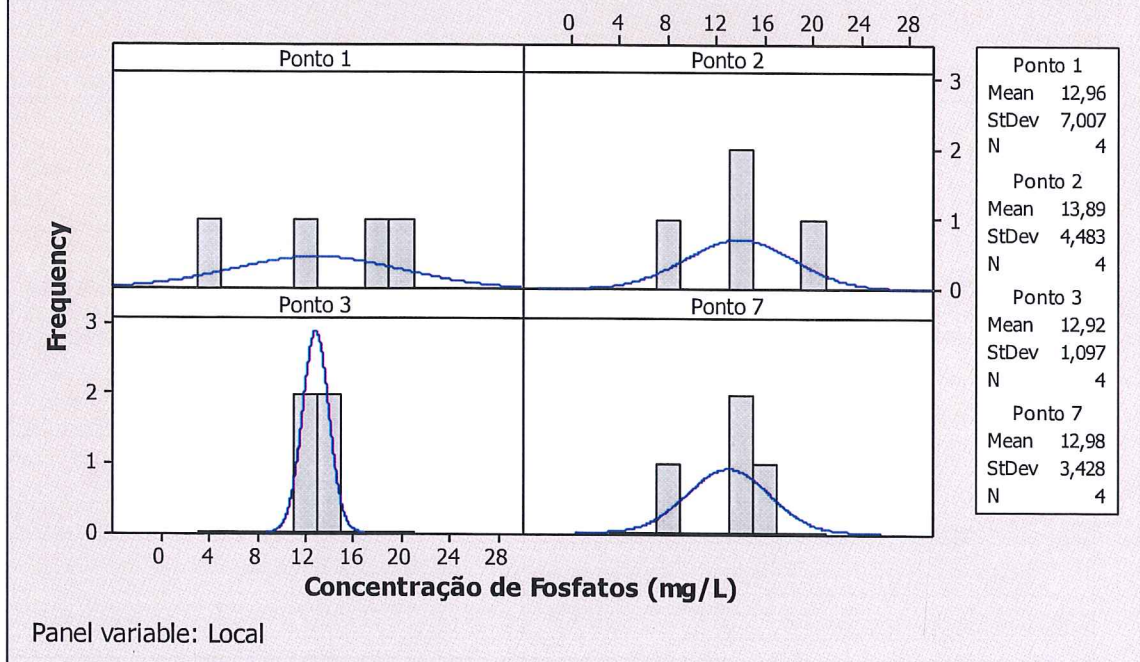




**Histogram (with Normal Curve) of Oxigênio Dissolvido (mg O<sub>2</sub>/L) by Local**

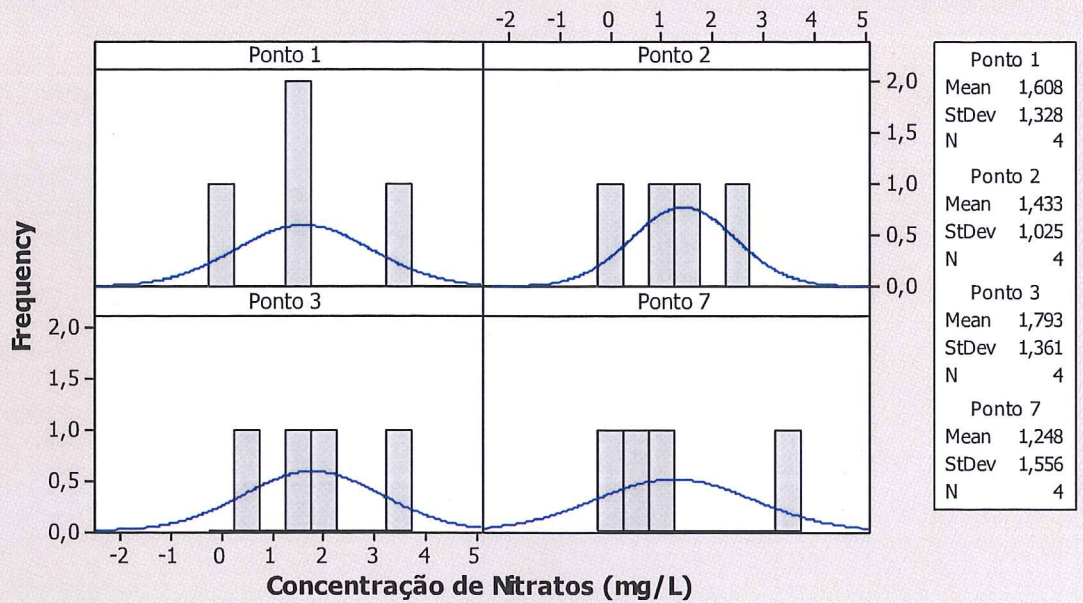


**Histogram (with Normal Curve) of Concentração de Fosfatos (mg/L) by Local**



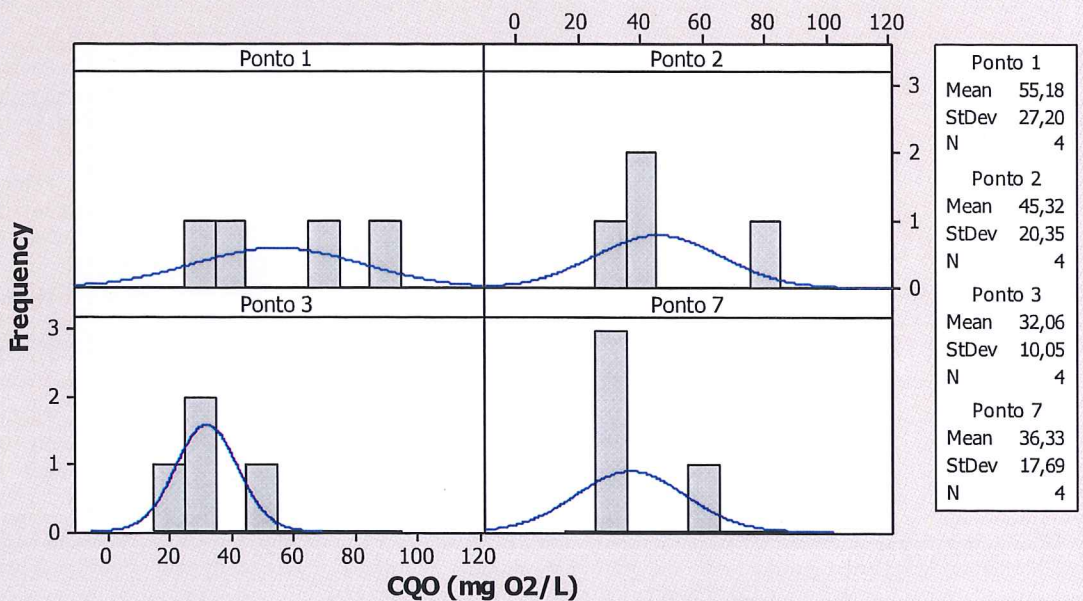


**Histogram (with Normal Curve) of Concentração de Nitratos (mg/L) by Local**

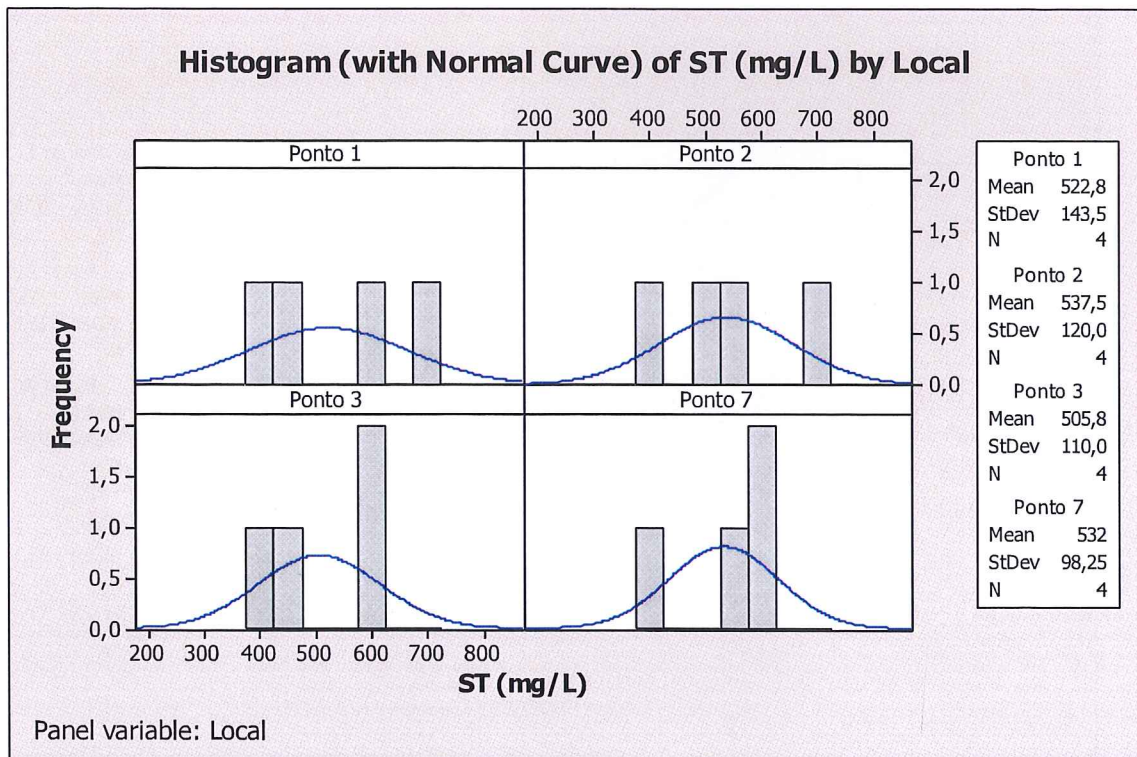
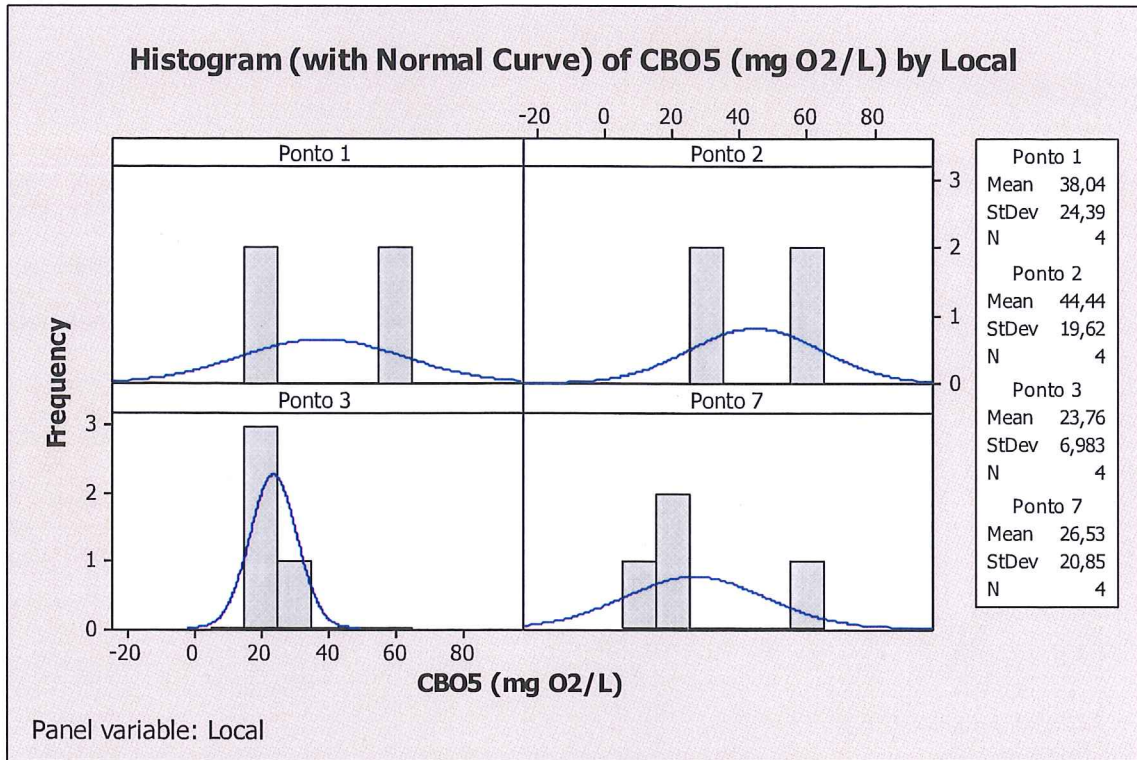


Panel variable: Local

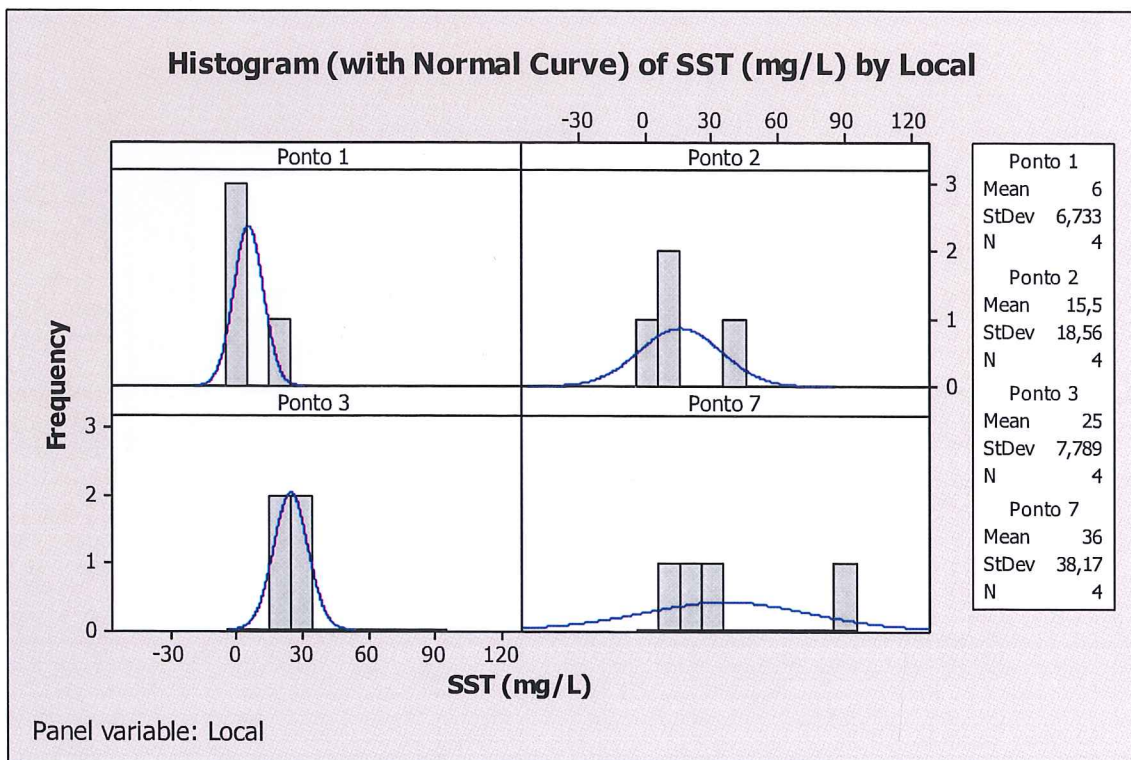
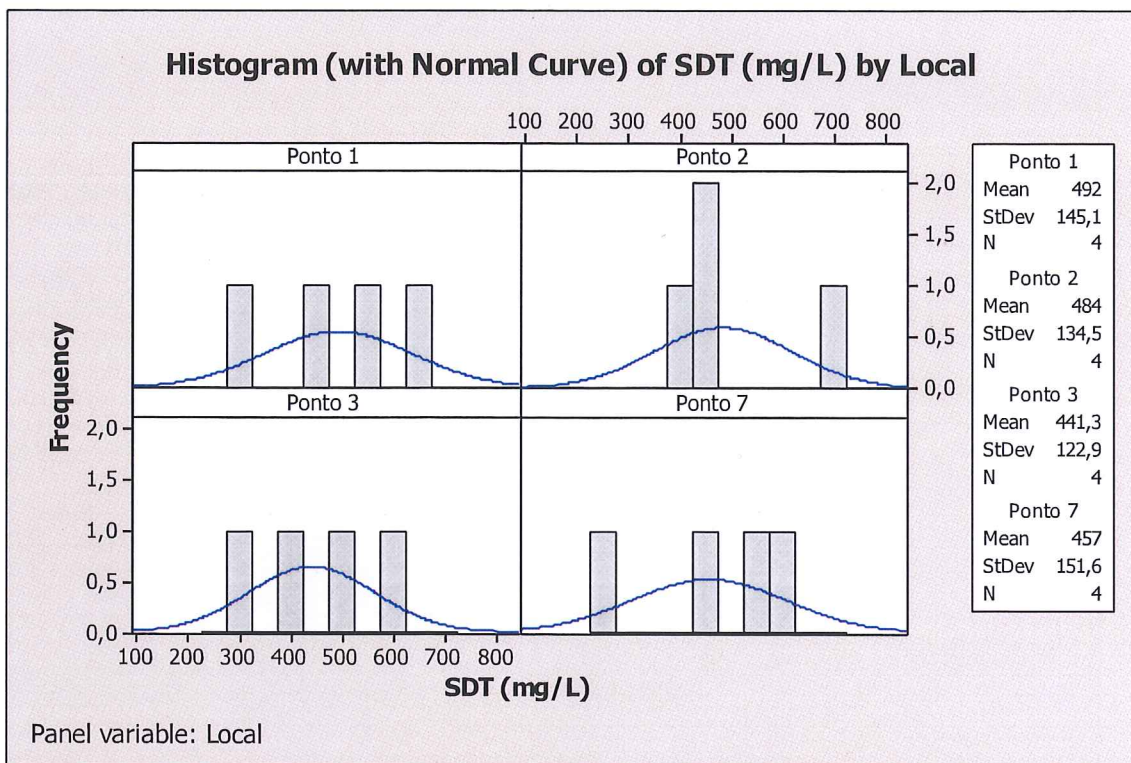
**Histogram (with Normal Curve) of CQO (mg O<sub>2</sub>/L) by Local**



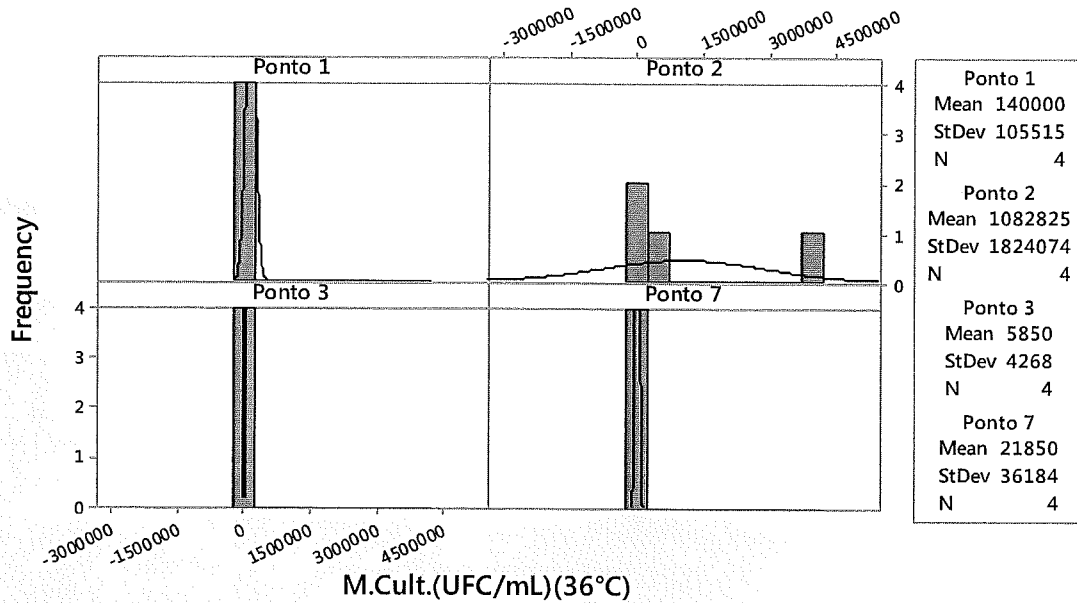
Panel variable: Local





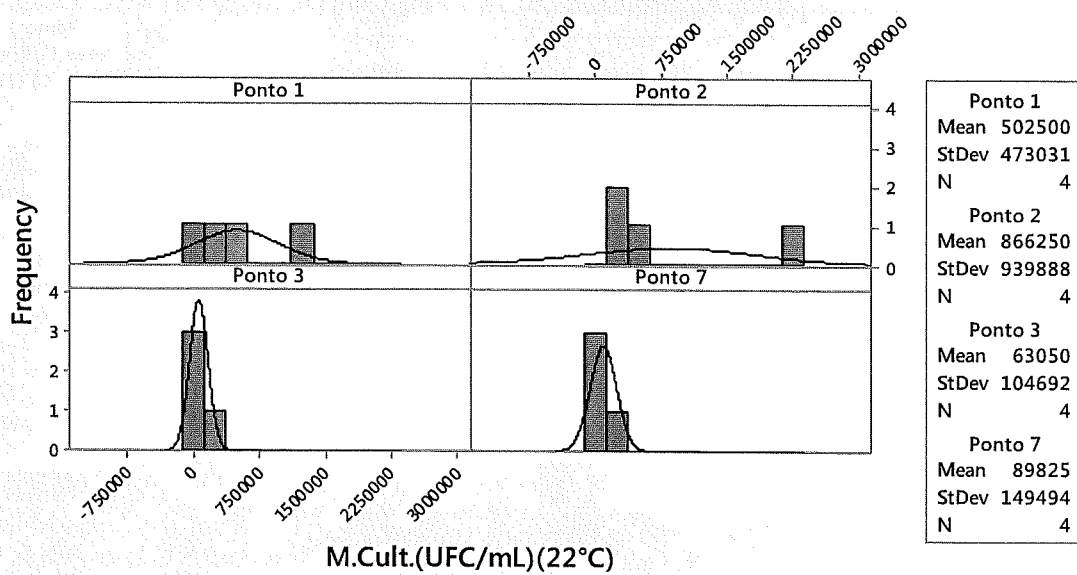


Histogram (with Normal Curve) of M.Cult.(UFC/mL)(36°C) by Local



Panel variable: Local

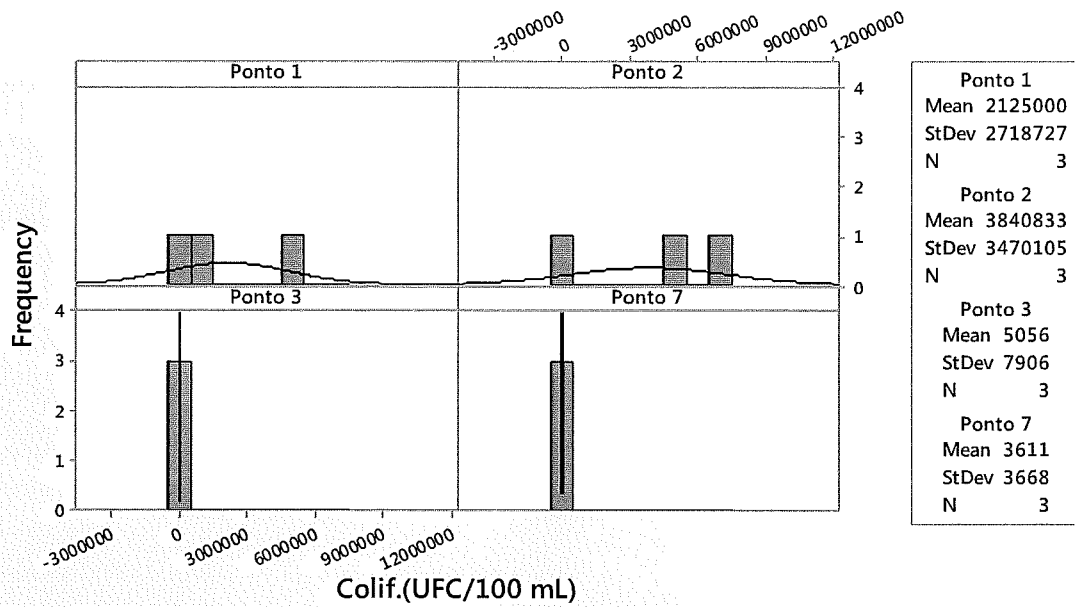
Histogram (with Normal Curve) of M.Cult.(UFC/mL)(22°C) by Local



Panel variable: Local

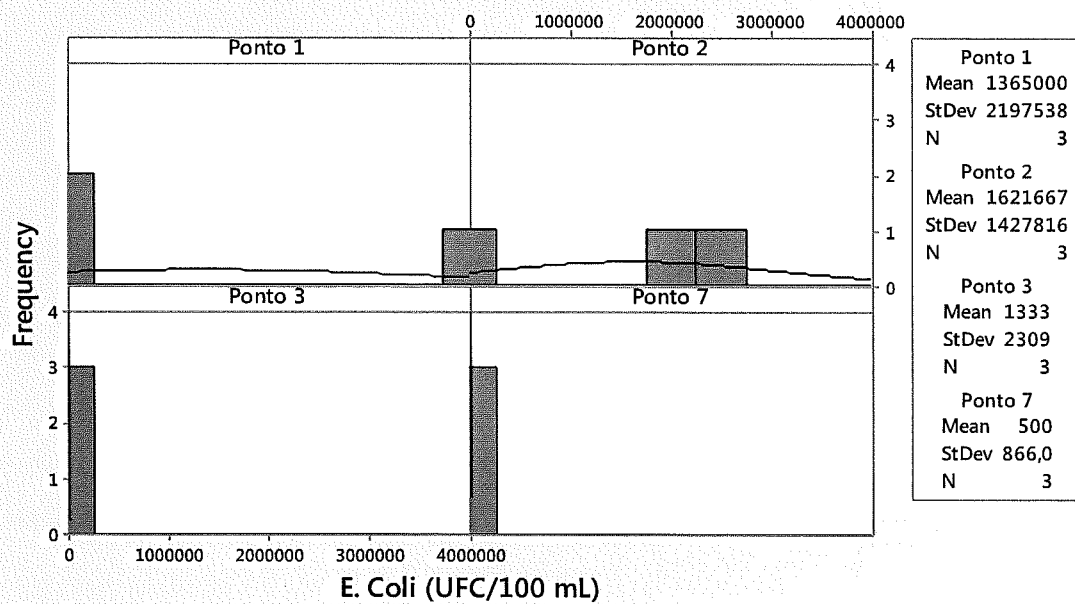


Histogram (with Normal Curve) of Colif.(UFC/100 mL) by Local



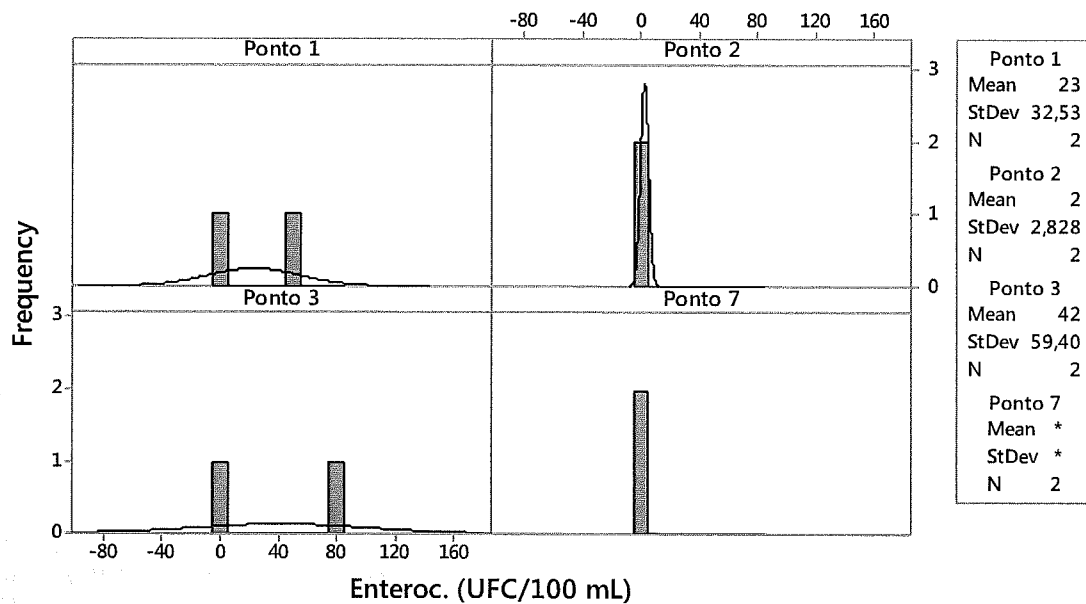
Panel variable: Local

Histogram (with Normal Curve) of E. Coli (UFC/100 mL) by Local



Panel variable: Local

Histogram (with Normal Curve) of Enteroc. (UFC/100 mL) by Local



Panel variable: Local

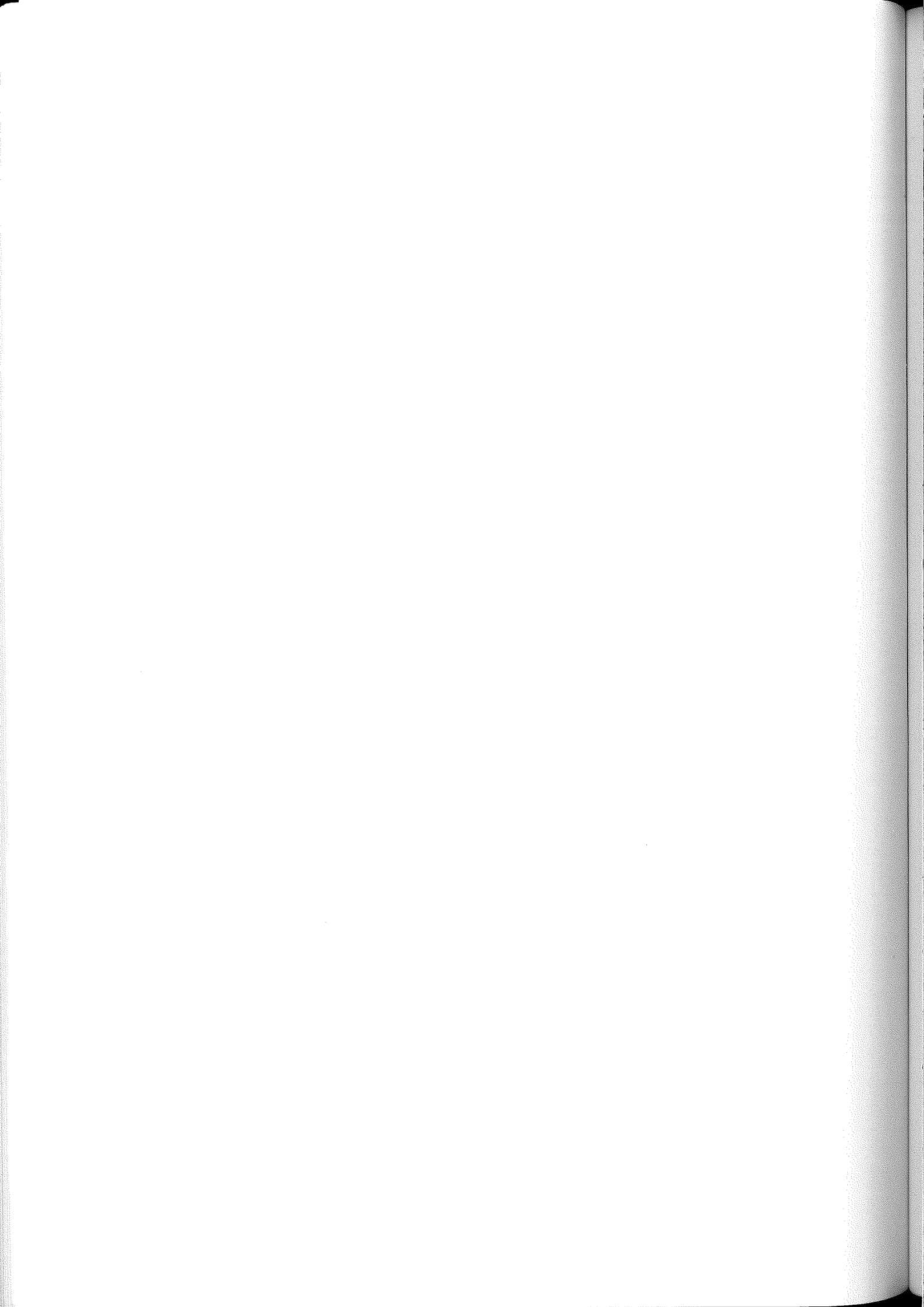
**Descriptive Statistics: Temp. (°C); pH; Cond. (mS/cm; SDT (ppm); Ox. Diss. (mg; ...**

Variable	Local	Total Count	Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
Temp. (°C)	Ponto 1	4	17,90	3,02	14,00	18,45	20,70
	Ponto 2	4	18,02	3,23	13,90	18,55	21,10
	Ponto 3	4	19,60	3,51	14,80	20,50	22,60
	Ponto 7	4	22,18	6,29	14,60	23,35	27,40
pH	Ponto 1	4	7,333	0,452	6,900	7,255	7,920
	Ponto 2	4	7,488	0,423	7,160	7,360	8,070
	Ponto 3	4	7,9175	0,1261	7,7800	7,9150	8,0600
	Ponto 7	4	8,162	0,272	7,910	8,125	8,490
Cond. (mS/cm)	Ponto 1	4	787,3	157,6	595,0	807,0	940,0
	Ponto 2	4	693,8	137,3	591,0	646,5	891,0
	Ponto 3	4	768,0	95,5	665,0	757,0	893,0
	Ponto 7	4	785,8	75,5	723,0	767,5	885,0
SDT (ppm)	Ponto 1	4	393,3	78,3	298,0	402,5	470,0
	Ponto 2	4	346,5	65,8	297,0	324,0	441,0
	Ponto 3	4	383,3	47,9	333,0	377,0	446,0
	Ponto 7	4	392,8	37,6	361,0	384,0	442,0
Ox. Diss. (mg O <sub>2</sub> /L)	Ponto 1	4	1,84	2,45	0,00	1,08	5,17
	Ponto 2	4	2,28	2,59	0,00	2,05	5,03
	Ponto 3	4	4,080	1,491	2,992	3,559	6,211
	Ponto 7	4	6,086	1,171	5,139	5,773	7,658

C. Fosfatos (mg/L)	Ponto 1	4	12,96	7,01	3,62	14,61	19,01
	Ponto 2	4	13,89	4,48	8,32	14,04	19,17
	Ponto 3	4	12,920	1,097	11,730	12,795	14,360
	Ponto 7	4	12,98	3,43	8,10	13,83	16,14
C. Nitratos (mg/L)	Ponto 1	4	1,607	1,327	0,139	1,465	3,357
	Ponto 2	4	1,433	1,028	0,226	1,400	2,704
	Ponto 3	4	1,791	1,360	0,400	1,574	3,617
	Ponto 7	4	1,248	1,556	0,139	0,661	3,530
CQO (mg O <sub>2</sub> /L)	Ponto 1	4	55,2	27,2	25,9	54,2	86,3
	Ponto 2	4	45,3	20,4	32,5	36,5	75,7
	Ponto 3	4	32,06	10,05	23,54	29,36	45,99
	Ponto 7	4	36,33	17,69	25,94	28,28	62,81
CBO <sub>5</sub> (mg O <sub>2</sub> /L)	Ponto 1	4	38,0	24,4	15,8	36,8	62,8
	Ponto 2	4	44,43	19,62	25,26	44,56	63,35
	Ponto 3	4	23,75	6,98	15,23	23,77	32,24
	Ponto 7	4	26,5	20,8	8,8	20,5	56,3
ST (mg/L)	Ponto 1	4	522,8	143,5	378,0	507,0	699,0
	Ponto 2	4	537,5	120,0	400,0	532,5	685,0
	Ponto 3	4	505,7	110,0	376,0	519,0	609,0
	Ponto 7	4	532,0	98,3	387,0	570,0	601,0
SDT (mg/L)	Ponto 1	4	492,0	145,1	321,0	494,5	658,0
	Ponto 2	4	484,0	134,5	377,0	439,0	681,0
	Ponto 3	4	441,3	122,9	303,0	436,0	590,0
	Ponto 7	4	457,0	151,6	249,0	493,0	593,0
SST (mg/L)	Ponto 1	4	6,00	6,73	2,00	3,00	16,00
	Ponto 2	4	15,50	18,56	3,00	8,00	43,00
	Ponto 3	4	25,00	7,79	16,00	26,00	32,00
	Ponto 7	4	36,0	38,2	9,0	21,5	92,0
M.Cult. (UFC/mL) (36°C)	Ponto 1	4	140000	105515	30000	145000	240000
	Ponto 2	4	1082825	1824074	20000	255650	3800000
	Ponto 3	4	5850	4268	1900	5350	10800
	Ponto 7	4	21850	36184	1000	5200	76000
M.Cult. (UFC/mL) (22°C)	Ponto 1	4	502500	473031	80000	375000	1180000
	Ponto 2	4	866250	939888	320000	437500	2270000
	Ponto 3	4	63050	104692	8000	12100	220000
	Ponto 7	4	89825	149494	12000	16650	314000
Colif. (UFC/100 mL)	Ponto 1	4	2125000	2718727	40000	1135000	5200000
	Ponto 2	4	3840833	3470105	0	4772500	6750000
	Ponto 3	4	5056	7906	0	1000	14167
	Ponto 7	4	3611	3668	0	3500	7333
E. coli (UFC/100 mL)	Ponto 1	4	1365000	2197538	0	195000	3900000
	Ponto 2	4	1621667	1427816	0	2175000	2690000
	Ponto 3	4	1333	2309	0	0	4000
	Ponto 7	4	500	866	0	0	1500
Enteroc. (UFC/100 mL)	Ponto 1	4	23,0	32,5	0,0	23,0	46,0
	Ponto 2	4	2,00	2,83	0,00	2,00	4,00
	Ponto 3	4	42,0	59,4	0,0	42,0	84,0
	Ponto 7	4	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000

**Anexo E - Tabela Geral Análises Físico-Químicas e Microbiológicas**







		Medições no local								Medições em laboratório																										
		Temperatura (°C)		pH		Condutividade (µS/cm)		SDT (ppm)		Oxigênio Dissolvido (mg O <sub>2</sub> /L)		Conc. de Fosfatos (mg/L)		Conc. de Nitratos (mg/L)		CQO (mg O <sub>2</sub> /L)		CBO <sub>5</sub> (mg O <sub>2</sub> /L)		ST (mg/L)		SDT (mg/L)		SST (mg/L)		M. Cultiváveis (UFC/mL) (36°C)		M. Cultiváveis (UFC/mL) (22°C)		Coliformes (UFC/100 mL)		E. Coli (UFC/100 mL)		Enterococos Intestinais (UFC/100 mL)		
		2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014
<b>Ponto 1</b> Início da Reserva	Março	18,5	14,0	7,73	7,44	451	595	271	298	6,72	2,17	0,08	11,61	9,49	1,57	10,51	40,20	80,05	18,44	*	378	325	321	3	4	*	70000	*	400000	*	*	*	*	*	*	*
	Abril	18,7	17,1	7,78	7,07	661	940	331	470	5,54	0,00	88,17	19,01	3,07	0,14	23,28	68,24	13,03	62,76	*	575	351	551	7	16	105000	220000	23000	350000	440	1135000	0	195000	*	*	
	Maio	16,6	20,7	7,48	6,90	1506	889	750	443	6,53	0,00	9,01	17,61	0,00	3,36	16,75	86,32	42,26	55,18	*	699	383	658	23	2	9000	240000	13	1180000	3360	5200000	2120	3900000	*	46	
	Junho	22,4	19,8	7,51	7,92	1867	725	930	362	5,85	5,17	15,15	3,62	346,03	1,36	7,58	25,94	37,73	15,77	*	439	82	438	2	2	22700	30000	19400	80000	0	40000	0	0	*	0	
<b>Ponto 2</b> Entrada da Reserva Integral	Março	17,9	13,9	7,82	7,53	527	610	264	307	6,59	3,96	0,00	13,22	2,54	2,70	14,02	37,69	97,53	29,91	*	497	319	439	8	43	*	31300	*	355000	*	*	*	*	*	*	
	Abril	18,9	17,1	7,85	7,19	671	891	336	441	6,00	0,13	0,00	19,17	3,46	0,23	15,52	75,68	10,26	63,35	*	568	387	439	2	10	115000	480000	21000	2270000	460	4772500	0	2690000	*	*	
	Maio	16,6	21,1	7,55	7,16	1505	591	749	297	6,05	0,00	3,39	14,86	3,39	1,18	31,10	32,51	15,20	59,22	*	685	679	681	40	6	3500	3800000	5300	320000	3080	6750000	0	2175000	*	4	
	Junho	23,2	20,0	7,49	8,07	1945	683	971	341	6,15	5,03	14,16	8,32	168,37	1,62	10,82	35,38	14,35	25,26	*	400	300	377	2	3	11700	20000	18100	520000	1000	0	2850	0	*	0	
<b>Ponto 3</b> Saída da Reserva	Março	20,4	14,8	7,85	7,85	535	665	267	333	7,00	6,21	0,07	12,58	3,00	3,62	15,19	32,66	74,66	32,24	*	454	371	391	45	31	*	2700	*	8500	*	*	*	*	*	*	
	Abril	22,5	19,2	8,02	7,78	730	736	365	364	7,12	2,99	27,73	11,73	0,00	0,40	52,11	26,05	29,48	24,67	*	376	404	303	8	21	77000	10800	4100	15700	0	14167	0	4000	*	*	
	Maio	18,3	22,6	8,16	8,06	1702	778	845	390	7,04	4,01	0,00	14,36	0,00	1,88	33,49	23,54	39,17	22,88	*	609	655	590	37	32	2600	1900	3800	220000	280	1000	0	0	*	0	
	Junho	27,3	21,8	7,69	7,98	1913	893	952	446	5,39	3,11	11,30	13,01	336,10	1,27	46,54	45,99	52,99	15,23	*	584	439	481	50	16	5400	8000	6200	8000	200	0	600	0	*	84	
<b>Ponto 7</b> Limnígrafo	Março	19,2	14,6	8,18	7,91	522	731	261	366	11,97	5,14	0,01	8,10	6,01	3,53	16,36	62,81	95,59	24,49	*	558	324	445	8	92	*	3400	*	20200	*	*	*	*	*	*	
	Abril	22,6	19,4	8,39	7,97	732	723	366	361	11,53	5,25	0,19	13,89	0,00	0,40	33,26	28,54	22,18	56,28	*	387	432	249	21	28	32000	1000	58000	13100	0	3500	0	1500	*	*	
	Maio	18,9	27,4	7,84	8,28	1727	804	863	402	9,51	7,66	9,90	16,14	3,85	0,92	52,63	28,03	22,51	16,55	*	601	459	593	88	15	2900	76000	72	314000	120	0	80	0	*	0	
	Junho	27,6	27,3	7,97	8,49	1875	885	939	442	8,90	6,30	16,16	13,77	147,80	0,14	27,06	25,94	27,06	8,78	*	582	389	541	53	9	1500	7000	5200	12000	50	7333	150	0	*	0	

\* Não houve recolha de amostra





## ANEXO VIII

Frequência mínima de amostragem e análise de águas para consumo humano para efeitos de controlo, definida pelo intervalo máximo entre colheitas e pelo número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento, em função da população servida (\*).

População servida (hab.)	Grupo de parâmetros					
	G1		G2		G3	
	Intervalo máximo	Número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento	Intervalo máximo	Número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento	Intervalo máximo	Número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento
$N \leq 5\,000$	2 meses	1 por 1 000 hab.	6 meses	1	1 ano	1
$5\,000 < N \leq 20\,000$	1 mês	1 por 2 500 hab.	6 meses	1 por 5 000 hab.	1 ano	1 por 5 000 hab.
$20\,000 < N \leq 100\,000$	15 dias	1 por 5 000 hab.	2 meses	1 por 20 000 hab.	1 ano	1 por 20 000 hab.
$100\,000 < N \leq 500\,000$	5 dias	1 por 15 000 hab.	20 dias	1 por 50 000 hab.	6 meses	1 por 50 000 hab.
$N > 500\,000$	2 dias	1 por 30 000 hab.	10 dias	1 por 100 000 hab.	3 meses	1 por 100 000 hab.

(\*). A determinação dos parâmetros correspondentes ao grupo G2 implica, em simultâneo, a determinação dos parâmetros contidos em G1 e, identicamente para G3, implica G2 e G1.

## ANEXO IX

Frequência mínima de amostragem e análise de águas para consumo humano para efeitos de vigilância sanitária, definida pelo intervalo máximo entre colheitas e pelo número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento público, em função da população servida (\*).

População servida (hab.)	Grupo de parâmetros					
	G1		G2		G3	
	Intervalo máximo	Número mínimo	Intervalo máximo	Número mínimo	Intervalo máximo	Número mínimo
$N \leq 5\,000$	1 ano	1 por 1 000 hab.	1 ano	1 por 5 000 hab.	4 anos	1 por 5 000 hab.
$5\,000 < N \leq 20\,000$	6 meses	1 por 2 500 hab.	1 ano	1 por 5 000 hab.	4 anos	1 por 5 000 hab.
$20\,000 < N \leq 100\,000$	3 meses	1 por 5 000 hab.	4 meses	1 por 20 000 hab.	2 anos	1 por 20 000 hab.
$100\,000 < N \leq 500\,000$	1 mês	1 por 15 000 hab.	2 meses	1 por 50 000 hab.	1 ano	1 por 50 000 hab.
$N > 500\,000$	15 dias	1 por 30 000 hab.	1 mês	1 por 100 000 hab.	6 meses	1 por 100 000 hab.

(\*). A determinação dos parâmetros correspondentes ao grupo G2 implica, em simultâneo, a determinação dos parâmetros contidos em G1 e, identicamente para G3, implica G2 e G1.

## ANEXO X

## Qualidade das águas doces para fins aquícolas — águas piscícolas

Parâmetros	Águas de salmonídeos		Águas de ciprinídeos		Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Observações
	VMR	VMA	VMR	VMA			
Temperatura	A temperatura medida a jusante de um ponto de descarga térmica (no limite da zona de mistura) não deve ultrapassar a temperatura natural em mais de:  -   1,5   -   3  A descarga térmica não deve levar a que a temperatura, na zona situada a jusante do ponto de descarga (no limite da zona de mistura), ultrapasse os seguintes valores:  =   17,5 (8)   =   18 (8)  O limite de temperatura de 10°C só se aplica nos períodos de reprodução das espécies que necessitam de água fria para se reproduzirem e apenas nas águas susceptíveis de conter tais espécies. Os limites de temperatura podem, no entanto, ser ultrapassados em 2% do tempo.				°C	Termometria	Devem ser evitadas variações de temperatura demasiado bruscas.
Oxigénio dissolvido.	50% ≥ 9 100% > 7	50% ≥ 9	50% ≥ 8 100% ≥ 5	50% ≥ 7	mg/l O <sub>2</sub>	Método de Winkler ou electrodos específicos (método electroquímico).	



Parâmetros	Águas de salmonídeos		Águas de ciprinídeos		Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Observações
	VMR	VMA	VMR	VMA			
<i>pH</i> .....		6-9 (O) ( <sup>1</sup> )		6-9 (O) ( <sup>1</sup> )	Escala de Sorensen	Electrometria: avaliação por meio de duas soluções tampão de <i>pH</i> conhecidos vizinhos e de preferência situados acima e abaixo do valor de <i>pH</i> a medir.	
Sólidos suspensos totais.	25 (O)		25 (O)		mg/l	Por filtração através de membrana filtrante de 0,45 µm, ou por centrifugação (tempo mínimo de cinco minutos, aceleração média de 2 800, a 3 200 g), secagem a 105°C e pesagem.	Os valores indicados referem-se a concentrações e não se aplicam às matérias em suspensão que tenham propriedades químicas nocivas. As inundações são susceptíveis de provocar concentrações muito elevadas.
<i>CBO</i> <sub>5</sub> (20) .....	3		6		mg/l <i>O</i> <sub>2</sub>	Determinação de <i>O</i> <sub>2</sub> pelo método de Winkler antes e após cinco dias de incubação na obscuridade total, a 20°C 1°C (sem impedir a nitrificação).	
Fósforo total ....					mg/l <i>P</i>	Espectrometria de absorção molecular.	No que respeita aos lagos cuja profundidade média se situa entre 18 m a 150 m pode aplicar-se a seguinte fórmula: $L \leq 10 \frac{Z}{T_w} (1 + \sqrt{T_w})$ onde: <i>L</i> = carga, expressa em mg <i>P</i> por metro quadrado de superfícies do lago durante um ano; <i>Z</i> = profundidade média do lago, expressa em metros; <i>T<sub>w</sub></i> = tempo teórico de renovação da água do lago, expresso em anos. Nos outros casos, os valores limite de 0,2 mg/l para as águas de salmonídeos e de 0,4 mg/l para as águas de ciprinídeos, expressos em <i>PO</i> <sub>4</sub> , podem ser considerados como valores indicativos que permitam reduzir a eutrofização.
Nitritos .....	0,01		0,03		mg/ <i>NO</i> <sub>2</sub>	Espectrometria da absorção molecular.	
Compostos fenólicos.		( <sup>2</sup> )		( <sup>2</sup> )	mg/l <i>C</i> <sub>6</sub> <i>H</i> <sub>5</sub> <i>OH</i>	Exame gustativo .....	O exame gustativo só é efectuado se presumir a presença de compostos fenólicos.
Hidrocarbonetos		( <sup>3</sup> )		( <sup>3</sup> )		Exame visual; exame gustativo	É feito mensalmente um exame visual; o exame gustativo só se efectua se se presumir a presença de hidrocarbonetos.
Amoníaco não ionizado.	0,005	0,025	0,005	0,025	mg/l <i>NH</i> <sub>3</sub>	Espectrometria de absorção molecular com azul de indofenol ou segundo o método de Nessler associado à determinação do <i>pH</i> e temperatura.	Os valores para o amoníaco não ionizado podem ser ultrapassados desde que se trate de doses de pouca importância que apareçam durante o dia.
Azoto amoniacal	0,04	( <sup>4</sup> ) 1	0,2	( <sup>4</sup> ) 1	mg/l <i>NH</i> <sub>4</sub>		

Parâmetros	Águas de salmonídeos		Águas de ciprinídeos		Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Observações
	VMR	VMA	VMR	VMA			
Cloro residual disponível total.		0,005		0,005	mg/l HOCl	Método DPD (N, N-dietyl-p-fenilenodiamina).	Os valores VMA correspondem a um pH=6. Podem admitir-se concentrações superiores de cloro total se o pH for superior.
Zinco total . . . . .		0,3		1,0	mg/l Zn	Espectrometria atómica . . . . .	Os valores VMA correspondem a uma dureza da água de 100 mg/l em CaCO <sub>3</sub> . Para durezas compreendidas entre 10 mg/l e 500 mg/l, os valores limites correspondentes podem ser encontrados no anexo XI.
Cobre solúvel . . . . .	0,4		0,04		mg/l Cu	Espectrometria atómica . . . . .	Os valores VMR correspondem a uma dureza da água de 100 mg/l em CaCO <sub>3</sub> . Para durezas compreendidas entre 10 mg/l e 300 mg/l, os valores limites correspondentes podem ser encontrados no anexo XI.

(1) As variações artificiais do pH em relação aos valores constantes não devem ultrapassar 0,5 unidades de pH nos limites compreendidos entre 6 e 9, desde que essas variações não aumentem a nocividade de outras substâncias presentes na água.

(2) Os compostos fenólicos não devem estar presentes em concentrações que alterem o sabor do peixe.

(3) Os produtos de origem petrolífera não devem estar presentes nas águas em quantidades tais que:

Formem um filme visível na superfície da água ou que se depositem em camadas no leito dos cursos de água e dos lagos e provoquem efeitos nocivos nos peixes, dando aos mesmos um sabor de hidrocarbonetos, perceptível pelo homem.

(4) Podem fixar-se valores superiores a 1 mg/l em condições geográficas ou climatológicas particulares e especialmente em caso de baixas temperaturas da água e de reduzida nitrificação ou quando a autoridade competente puder provar que não há consequências prejudiciais para o desenvolvimento equilibrado dos povoamentos de peixes.

VMR — valor máximo recomendado.

VMA — valor máximo admissível.

(O) — derrogações possíveis.

Nota. — Os valores destes parâmetros foram fixados considerando que não há sinergia pela presença de outras substâncias nocivas (não enumeradas).

ANEXO XI

Frequência mínima de amostragem e de análise de águas doces superficiais para fins aquícolas — Águas piscícolas

Parâmetros	Expressão dos resultados	Frequência mínima
Temperatura . . . . .	°C	Semanal (a montante e a jusante do ponto de descarga térmica). Mensal, com pelo menos uma amostra representativa dos baixos teores de oxigénio presentes no dia da colheita. No entanto, se houver suspeita de variações diurnas significativas, serão efectuadas pelo menos duas colheitas por dia.
Oxigénio dissolvido . . . . .	mg/l O <sub>2</sub>	
pH . . . . .	Escala de Sorensen	Mensal.
Sólidos suspensos totais . . . . .	mg/l	Mensal.
CBO <sub>5</sub> (20) . . . . .	mg/l O <sub>2</sub>	Mensal.
Fósforo total . . . . .	mg/l PO <sub>4</sub>	Mensal.
Nitritos . . . . .	mg/l NO <sub>2</sub>	Mensal.
Compostos fenólicos . . . . .	mg/l C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH	Mensal.
Hidrocarbonetos . . . . .	mg/l	Mensal.
Amoníaco não ionizado . . . . .	mg/l NH <sub>3</sub>	Mensal.
Azoto amoniacal . . . . .	mg/l NH <sub>4</sub>	Mensal.
Cloro residual disponível total . . . . .	mg/l HOCl	Mensal.
Zinco total . . . . .	mg/l Zn	Mensal.
Cobre solúvel . . . . .	mg/l Cu	Mensal.

ANEXO XII

Variação dos valores máximos admissíveis e recomendáveis do zinco total e do cobre solúvel, respectivamente, em função da dureza total das águas doces superficiais para fins aquícolas — águas piscícolas

Parâmetros	Expressão dos resultados	Tipos de águas piscícolas	Valor máximo	Dureza de água (mg/l CaCO <sub>3</sub> )				
				10	50	100	300	500
Zinco total . . . . .	mg/l Zn	Salmonídeos . . . . .	Admissível . . . . .	0,03	0,2	0,3	—	0,5
		Ciprinídeos . . . . .	Admissível . . . . .	0,3	0,7	1,0	—	2,0

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Frequência mínima de amostragem	Métodos analíticos de referência
Cianetos .....	mg/l	—	—	( <sup>2</sup> )	Espectrometria de absorção molecular com reagente específico.
Nitratos e fosfatos .....	mg/l NO <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	—	—	( <sup>3</sup> )	Espectrometria de absorção molecular com reagente específico.

(<sup>1</sup>) Quando a amostragem efectuada em anos anteriores tenha dado resultados sensivelmente melhores que os especificados neste anexo e não se verificando qualquer fenómeno susceptível de provocar uma degradação da qualidade da água, as autoridades competentes podem reduzir a frequência de amostragem de um factor 2.

(<sup>2</sup>) Este valor deve ser verificado pelas autoridades competentes quando um inquérito local na zona balnear revele a sua presença ou que a qualidade da água se deteriorou.

(<sup>3</sup>) Estes parâmetros devem ser verificados pelas autoridades competentes sempre que haja tendência para a eutrofização das águas.

VMR — valor máximo recomendado.

VMA — valor máximo admissível.

(O) Os limites podem ser excedidos no caso de condições geográficas ou meteorológicas excepcionais.

#### ANEXO XVI

##### Qualidade das águas destinadas à rega

Parâmetro S	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Observações
Alumínio (Al) .....	mg/l	5,0	20	Risco de improdutividade em solos com pH<5,5. Em solos com pH>7 o risco de toxicidade é eliminado por precipitar o alumínio.
Arsénio (As) .....	mg/l	0,10	10	Toxicidade variável consoante as culturas, oscilando entre 12 mg/l para a erva-do-sudão e 0,05 mg/l para o arroz.
Bário (Ba) .....	mg/l	1,0		
Berílio (Be) .....	mg/l	0,5	1,0	
Boro (B) .....	mg/l	0,3	3,75	Para solos de textura fina e em curtos períodos recomenda-se como concentração máxima 2 mg/l.
Cádmio (Cd) .....	mg/l	0,01	0,05	Tóxico para o feijoeiro, beterraba e nabo em concentrações da ordem dos 0,1 mg/l em soluções nutritivas. Recomenda-se limites mais restritivos, dado este ião se acumular nas plantas e no solo, podendo prejudicar o ser humano.
Chumbo (Pb) .....	mg/l	5,0	20	As concentrações muito elevadas podem inibir o desenvolvimento celular das culturas.
Cloretos (Cl) .....	mg/l	70	—	Para a cultura do tabaco recomenda-se uma concentração inferior a 20 mg/l, não devendo exceder os 70 mg/l.
Cobalto (Co) .....	mg/l	0,05	10	Tóxico em soluções nutritivas para a cultura do tomate na ordem dos 0,1 mg/l. Tende a ser inactivo em solos neutros ou alcalinos.
Cobre (Cu) .....	mg/l	0,20	5,0	Tóxico em soluções nutritivas com concentrações entre 0,1 mg/l e 1 mg/l para diversas culturas.
Crómio total (Cr) .....	mg/l	0,10	20	Por se desconhecer o seu efeito tóxico, recomendam-se limites mais restritivos.
Estanho (Sn) .....	mg/l	2,0		
Ferro (Fe) .....	mg/l	5,0		Não tóxico em solos bem arejados, mas pode contribuir para a acidificação do solo, tornando indisponível o fósforo e o molibdénio.
Flúor (F) .....	mg/l	1,0	15	Inactivado em solos neutros e alcalinos.
Lítio (Li) .....	mg/l	2,5	5,8	Tolerado pela maioria das culturas em concentrações superiores a 5 mg/l; móvel no solo. Tóxico para os citrinos a baixas concentrações (<0,075 mg/l).

Parâmetro S	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Observações
Manganés ( <i>Mn</i> ) .....	mg/l	0,20	10	Tóxico para um certo número de culturas desde algumas décimas até poucos mg/l, mas normalmente só em solos ácidos.
Molibdénio ( <i>Mo</i> ) .....	mg/l	0,005	0,05	Não é tóxico em concentrações normais. Em solos ricos em molibdénio livre as forragens podem no entanto ocasionar toxicidade nos animais.
Níquel ( <i>Ni</i> ) .....	mg/l	0,5	2,0	Tóxico para um certo número de culturas entre 0,5 mg/l e 1 mg/l; reduzida toxicidade para <i>pH</i> neutro ou alcalino.
Nitratos ( <i>NO<sub>3</sub></i> ) .....	mg/l	50		Concentrações elevadas podem afectar a produção e qualidade das culturas sensíveis. No plano de fertilização da parcela convirá contabilizar o azoto veiculado pela água de rega.
Salinidade: CE .....	dS/m	1		Depende muito da resistência das culturas à salinidade, bem como do clima, do método de rega e da textura do solo.
SDT .....	mg/l	640		
SAR <sup>(1)</sup> .....		8		Depende da salinidade da água, características do solo e do tipo de cultura a ser irrigada.
Selénio ( <i>Se</i> ) .....	mg/l	0,02	0,05	Tóxico para culturas em concentrações da ordem dos 0,025 mg/l. Em solos com um teor relativamente elevado em selénio absorvido as forragens podem ocasionar toxicidade nos animais.
Sólidos suspensos totais (SST).	mg/l	60		Concentrações elevadas poderão ocasionar colmatagem em solos e assoreamento nas redes de rega, bem como entupimentos nos sistemas de rega gota-a-gota e aspersão, bem como neste último sistema a água poderá provocar depósitos sobre as folhas e frutos.
Sulfatos ( <i>SO<sub>4</sub></i> ) .....	mg/l	575		
Vanádio ( <i>V</i> ) .....	mg/l	0,10	1,0	Tóxico para diversas culturas em concentrações relativamente baixas.
Zinco ( <i>Zn</i> ) .....	mg/l	2,0	10,0	Tóxico para diversas culturas numa gama ampla, toxicidade reduzida a <i>pH</i> >6 e solos de textura fina ou de solos orgânicos.
<i>pH</i> .....	Escala de Sorensen	6,5-8,4	4,5-9,0	
Coliformes fecais .....	/100 ml	100		
Ovos de parasitas intestinais	N/l		1	

(<sup>1</sup>) A relação de adsorção de sódio (SAR) é traduzida pela seguinte equação, onde as concentrações devem estar expressas em meq/l:  $SAR = Na/[(Ca + Mg)/2]^{1/2}$ .

## ANEXO XVII

## Métodos analíticos de referência e frequência mínima de amostragem das águas destinadas à rega

Parâmetros	Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Frequência mínima de amostragem (*)
Alumínio ( <i>Al</i> ) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	( <sup>1</sup> )
Arsénio ( <i>As</i> ) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	( <sup>1</sup> )
Bário ( <i>Ba</i> ) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	( <sup>1</sup> )
Berílio ( <i>Be</i> ) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	( <sup>1</sup> )
Boro ( <i>B</i> ) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	( <sup>1</sup> )



Parâmetros	Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Frequência mínima de amostragem (*)
Cádmio (Cd) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou polarografia .....	(1)
Chumbo (Pb) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	(1)
Cloretos (Cl) .....	mg/l	Titulação (método de Mohr) ou espectrometria de absorção molecular .....	Semestral (2).
Cobalto (Co) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	(1)
Cobre (Cu) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular ou polarografia.	(1)
Crómio total (Cr) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	(1)
Ferro (Fe) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica depois de filtração sobre membrana filtrante (0,45 µm) ou espectrometria de absorção molecular depois de filtração sobre membrana filtrante (0,45 µm).	(1)
Flúor (F) .....	mg/l	Espectrometria de absorção molecular ou eléctrodos específicos .....	(1)
Lítio (Li) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	(1)
Manganés (Mn) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	(1)
Molibdénio (Mo) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	(1)
Níquel (Ni) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	(1)
Nitratos (NO <sub>3</sub> ) .....	mg/l	Espectrometria de absorção ou eléctrodos específicos .....	(1)
Salinidade: CE .....	dS/m a 25°C mg/l	Electrometria .....	Semestral (2).
SDT .....		Secagem a 180°C e pesagem .....	
SAR .....		$SAR = Na / [(Ca + Mg) / 2]^{1/2}$ (**)	Semestral (2).
Selénio (Se) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica .....	(1)
Sólidos suspensos totais (SST).	mg/l	Centrifugação (tempo mínimo de cinco minutos; aceleração média de 2800 g a 3000 g), secagem a 105°C e pesagem ou filtração através da membrana filtrante de 0,45 µm, secagem a 105°C e pesagem.	(1)
Sulfatos (SO <sub>4</sub> ) .....	mg/l	Gravimetria ou complexometria ou espectrometria .....	(1)
Vanádio (V) .....	mg/l	Absorção atómica .....	(1)
Zinco (Zn) .....	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	(1)
pH .....	Escala de Sorensen	Electrometria .....	Semestral (2).
Coliformes fecais .....	/100 ml	Fermentação em tubos múltiplos e subcultura dos tubos positivos em meios de confirmação. Determinação por NMP.	(1)
Ovos de parasitas intestinais	N/l	Contagem com o auxílio de microscópio .....	(1)

(1) As águas doces para rega não apresentam normalmente teores elevados deste elemento, pelo que se recomenda uma análise de despistagem. Sempre que haja degradação da água de rega, devem as DRA, com base na fonte poluidora, definir a frequência de amostragem, após parecer das DRAG.

(2) Quando, em dois anos consecutivos, os resultados analíticos forem inferiores ou iguais ao valor máximo recomendado (VMR) e não se verificar nenhum fenómeno susceptível de provocar uma degradação da qualidade da água, recomenda-se como frequência mínima de amostragem uma vez por ano (durante o período de rega). No entanto, as DRA podem definir outra frequência de amostragem, após parecer da DRAG.

(\*) Quando não se verifique a conformidade da água para rega, de acordo com o disposto no n.º 2 do artigo 61.º, deve a DRAG definir o prazo para novas amostragens.

(\*\*) Concentração dos cationes expressa em meq/l.

## ANEXO XVIII

## Valores limite de emissão (VLE) na descarga de águas residuais

Parâmetros	Expressão dos resultados	VLE (1)
pH (0) .....	Escala de Sorensen	6,0-9,0 (2)
Temperatura (0) .....	°C	Aumento de 3°C (3)
CBO <sub>5</sub> , 20°C (20) (0) .....	mg/l O <sub>2</sub>	40
CQO (0) .....	mg/l O <sub>2</sub>	150
SST (0) .....	mg/l	60
Alumínio .....	mg/l Al	10
Ferro total .....	mg/l Fe	2,0
Manganés total .....	mg/l Mn	2,0
Cheiro .....	—	Não detectável na diluição 1:20
Cor (0) .....	—	Não visível na diluição 1:20
Cloro residual disponível:		
Livre .....	mg/l Cl <sub>2</sub>	0,5
Total .....	mg/l Cl <sub>2</sub>	1,0
Fenóis .....	mg/l C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH	0,5
Óleos e gorduras .....	mg/l	15
Sulfuretos .....	mg/l S	1,0
Sulfitos .....	mg/l SO <sub>3</sub>	1,0
Sulfatos .....	mg/l SO <sub>4</sub>	2000
Fósforo total .....	mg/l P	10 3 (em águas que alimentem lagoas ou albufeiras) 0,5 (em lagoas ou albufeiras)
Azoto amoniacal .....	mg/l NH <sub>4</sub>	10
Azoto total .....	mg/l N	15
Nitratos .....	mg/l NO <sub>3</sub>	50
Aldeidos .....	mg/l	1,0
Arsénio total .....	mg/l As	1,0
Chumbo total .....	mg/l Pb	1,0
Cádmio total .....	mg/l Cd	0,2
Crómio total .....	mg/l Cr	2,0

Parâmetros	Expressão dos resultados	VLE (1)
Crómio hexavalente .....	mg/l Cr (VI)	0,1
Cobre total .....	mg/l Cu	1,0
Níquel total .....	mg/l Ni	2,0
Mercúrio total .....	mg/l Hg	0,05
Cianetos totais .....	mg/l CN	0,5
Sulfuretos .....	mg/l S	1,0
Óleos minerais .....	mg/l	15
Detergentes (sulfato de lauril e sódio) .....	mg/l	2,0 (4) (5)

(1) VLE — valor limite de emissão, entendido como média mensal, definida como média aritmética das médias diárias referentes aos dias de laboração de um mês, que não deve ser excedido. O valor diário, determinado com base numa amostra representativa da água residual descarregada durante um período de vinte e quatro horas, não poderá exceder o dobro do valor médio mensal (a amostra num período de vinte e quatro horas deverá ser composta tendo em atenção o regime de descarga das águas residuais produzidas).

(2) O valor médio diário poderá, no máximo, estar compreendido no intervalo 5,0-10,0.

(3) Temperatura do meio receptor após a descarga de água residual, medida a 30 m a jusante do ponto de descarga, podendo o valor médio exceder o valor médio mensal do 2.º

(4) O valor médio diário não poderá exceder o dobro do valor médio mensal.

(5) Valor relativo à descarga da unidade industrial para a produção de HCH extracção de lindano ou, simultaneamente, produção de HCH e extracção de lindano.

#### ANEXO XIX

##### Lista I de famílias de grupos de substâncias

A lista I inclui determinadas substâncias individuais que fazem parte das famílias e grupos de substâncias a seguir indicados, a escolher principalmente com base na toxicidade, persistência e bioacumulação, com excepção das que são biologicamente inofensivas ou que se transformam rapidamente em substâncias biologicamente inofensivas:

- 1) Compostos orgânicos de halogéneo e substâncias que podem produzir tais compostos no meio aquático;
- 2) Compostos orgânicos de fósforo;
- 3) Compostos orgânicos de estanho;
- 4) Substâncias em relação às quais se provou que possuem um poder cancerígeno no meio aquático ou por intermédio deste (\*);
- 5) Mercúrio e compostos de mercúrio;
- 6) Cádmio e compostos de cádmio;
- 7) Óleos minerais persistentes e hidrocarbonetos de origem petrolífera persistentes;
- 8) Matérias sintéticas persistentes que podem flutuar, ficar em suspensão ou afundar-se e que podem prejudicar qualquer utilização das águas.

(\*) Determinadas substâncias enunciadas na lista II ficam incluídas na categoria 4, na medida em que têm um poder cancerígeno.

##### Lista II de famílias de grupos de substâncias

A lista II inclui:

- As substâncias que fazem parte das famílias e grupos de substâncias constantes da lista I e para as quais os valores limite referidos no artigo 6.º da Directiva n.º 76/464/CEE, de 4 de Maio, não foram fixados;
- Determinadas substâncias individuais e determinadas categorias de substâncias que fazem parte das famílias e grupos de substâncias a seguir enumeradas;

e que têm um efeito prejudicial no meio aquático, que pode, todavia, ser limitado a uma certa zona e que

depende das características das águas de recepção e da respectiva localização.

Famílias e grupos de substâncias referidos no segundo travessão:

- 1) Metalóides e metais a seguir mencionados, assim como os respectivos compostos:

- 1) Zinco;
- 2) Cobre;
- 3) Níquel;
- 4) Crómio;
- 5) Chumbo;
- 6) Selénio;
- 7) Arsénio;
- 8) Antimónio;
- 9) Molibdénio;
- 10) Titânio;
- 11) Estanho;
- 12) Bário;
- 13) Berílio;
- 14) Boro;
- 15) Urânio;
- 16) Vanádio;
- 17) Cobalto;
- 18) Tálcio;
- 19) Telúrio;
- 20) Prata;

- 2) Biocidas e respectivos derivados que não figuram na lista I;
- 3) Substâncias que têm um efeito prejudicial no sabor ou no cheiro dos produtos para o consumo do homem derivados do meio aquático, assim como os compostos susceptíveis de produzir tais substâncias nas águas;
- 4) Compostos orgânicos de silício tóxicos ou persistentes e substâncias que podem produzir tais compostos nas águas, com exclusão dos que são biologicamente inofensivos ou que se transformam rapidamente na água em substâncias inofensivas;

- 5) Compostos inorgânicos de fósforo e fósforo elementar;  
 6) Óleos minerais não persistentes e hidrocarbonetos de origem petrolífera não persistentes;  
 7) Cianetos, fluoretos;  
 8) Substâncias que exercem uma influência desfavorável no balanço de oxigénio, designadamente amoníaco e nitritos.

## ANEXO XX

## Disposições específicas relativas a pesticidas e a compostos organoclorados

De acordo com o disposto na Directiva n.º 84/491/CEE, de 9 de Outubro, relativa aos valores limites e aos objectivos de qualidade para a descarga de hexaclorociclo-hexano, na Directiva n.º 86/280/CEE, de 12 de Junho, relativa aos valores limites e aos objectivos de qualidade para a descarga de tetracloreto de carbono, DDT e pentaclorofenol, e na Directiva n.º 88/347/CEE, de 16 de Junho, relativa aos valores limites e aos objectivos de qualidade para a descarga de substâncias perigosas — aldrina, dialdrina, endrina, isodrina, hexaclorobenzeno, hexaclorobutadieno e clorofórmio —, são indicadas no quadro as normas de qualidade a cumprir nas diversas categorias de água e os respectivos métodos analíticos de referência:

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMA	Métodos analíticos de referência
Hexaclorociclo-hexano (HCH) <sup>(5)</sup> .....	µg/l	( <sup>1)</sup> 20 ( <sup>2)</sup> 100 ( <sup>3)</sup> 50	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente adequado e purificação.
Tetracloreto de carbono .....	µg/l	12	Cromatografia em fase gasosa.
DDT <sup>(5)</sup> :			
Isómero p-p' DDT .....	µg/l	10	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente apropriado.
Total .....	µg/l	25	
Pentaclorofenol <sup>(5)</sup> .....	µg/l	2	Cromatografia em fase líquida a alta pressão ou cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente apropriado.
Aldrina, dialdrina, endrina e isodrina <sup>(5)</sup> .	µg/l g/l	( <sup>4)</sup> 30	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente adequado e purificação.
Hexaclorobenzeno (HCB) <sup>(5)</sup> .....	µg/l	0,03	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente adequado e purificação.
Hexaclorobutadieno (HCBd) <sup>(5)</sup> .....	µg/l	0,1	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente adequado e purificação.
Clorofórmio .....	µg/l	12	Cromatografia em fase gasosa.

(<sup>1</sup>) Aplicável a águas de estuários, marinhas e territoriais.

(<sup>2</sup>) Aplicável a águas doces superficiais afectadas pelas descargas.

(<sup>3</sup>) Aplicável a águas doces superficiais não afectadas pelas descargas.

(<sup>4</sup>) Na totalidade, para as quatro substâncias, com um máximo de 5 ng/l para a endrina.

(<sup>5</sup>) A concentração de hexaclorociclo-hexano, DDT, pentaclorofenol, dialdrina e ou dialdrina e ou endrina e ou isodrina e hexaclorobenzeno e hexaclorobutadieno nos sedimentos e ou moluscos e ou crustáceos e ou peixes não deve aumentar de modo significativo com o tempo.

## ANEXO XXI

## Objectivos ambientais de qualidade mínima para as águas superficiais

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMA
pH .....	Escala de Sorensen	5,0-9,0
Temperatura .....	°C	30
Variacão da temperatura .....	°C	3
Oxigénio dissolvido .....	% de saturação	50
CBO <sub>5</sub> .....	O <sub>2</sub> mg/l	5
Azoto amoniacal .....	N mg/l	1
Fósforo total .....	P mg/l	1
Cloretos .....	Cl mg/l	250
Sulfatos .....	SO <sub>4</sub> mg/l	250
Clorofenóis .....	µg/l, por composto	100
Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares .....	µg/l	100
Substâncias tensoactivas aniónicas .....	mg/l	0,5



Parâmetros	Expressão dos resultados	VMA
Pesticidas:		
Total .....	µg/l	2,5
Por substância individualizada .....	µg/l	0,5
Bifenilospoliclorados (PCB) .....	µg/l	20
Azoto Kjeldhal .....	N mg/l	2
Cianetos totais .....	CN mg/l	0,05
Arsénio total .....	As mg/l	0,1
Cádmio total .....	Cd mg/l	0,01
Chumbo total .....	Pb mg/l	0,05
Crómio total .....	Cr mg/l	0,05
Cobre total .....	Cu mg/l	0,1
Mercúrio total .....	Hg mg/l	0,001
Níquel total .....	Ni mg/l	0,05
Zinco total .....	Zn mg/l	0,5

## ANEXO XXII

## Métodos analíticos de referência para descarga de águas residuais

Parâmetros	Expressão dos resultados	Limite de detecção — % valor paramétrico	Precisão — % valor paramétrico	Exactidão — % valor paramétrico ±	Métodos analíticos de referência (*)
pH .....	Escala de Sorensen	10	10	10	Electrometria.
Cor (após filtração simples)	mg/l, escala Pt-Co				Método fotométrico, após filtração simples, com padrões da escala Pt-Co.
Sólidos suspensos totais ....	mg/l	10	10	10	Centrifugação (tempo mínimo de cinco minutos. Aceleração média de 2800 g a 3200 g), secagem a 105°C e pesagem. Filtração através de membrana filtrante de 0,45 µm, secagem a 105°C e pesagem.
Temperatura .....	°C	10	10	10	Termometria.
Condutividade .....	µS/cm, 20°C	10	10	10	Electrometria.
Nitratos .....	mg/l NO <sub>3</sub>	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Cromatografia iónica. Eléctrodos específicos.
Nitritos .....	mg/l NO <sub>2</sub>	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Cromatografia iónica.
Fluoretos .....	mg/l F	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Eléctrodos específicos. Cromatografia iónica.
Cloro orgânico total extraível.	mg/l CI				
Ferro total .....	mg/l Fe	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP).
Manganés total .....	mg/l Mn	( <sup>3</sup> ) 10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.
Cobre total .....		( <sup>4</sup> ) 10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Espectroscopia de absorção atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP).
Zinco total .....	mg/l Zn	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Espectroscopia de absorção atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP).
Boro .....	mg/l B	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP). ⊗

Parâmetros	Expressão dos resultados	Límite de detecção — % valor paramétrico	Precisão — % valor paramétrico	Exactidão — % valor paramétrico ±	Métodos analíticos de referência (¹)
Berílio .....	mg/l <i>Be</i>				
Cobalto .....	mg/l <i>Co</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Níquel .....	mg/l <i>Ni</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Vanádio .....	mg/l <i>V</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Arsénio total .....	mg/l <i>As</i>	10	10	10	Espectrometria atómica com geração de hidretos. Espectrometria de absorção molecular.
Alumínio .....	mg/l <i>Al</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Cádmio total .....	mg/l <i>Cd</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Polarografia.
Crómio VI .....	mg/l <i>Cr VI</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.
Chumbo total .....	mg/l <i>Pb</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Polarografia.
Selénio total .....	mg/l <i>Se</i>	10	10	10	Espectrometria atómica com geração de hidretos.
Mercúrio total .....	mg/l <i>Hg</i>	20	10	20	Espectrometria atómica sem chama (vaporização a frio).
Bário total .....	mg/l <i>Ba</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Cianetos totais .....	mg/l <i>CN</i>	10	10	10	Volumetria. Espectrometria de absorção molecular.
Sulfatos .....	mg/l <i>SO<sub>4</sub></i>	10	10	10	Análise gravimétrica. Complexometria com EDTA. Espectrometria de absorção molecular.
Cloretos .....	mg/l <i>Cl</i>	10	10	10	Volumetria. Espectrometria de absorção molecular. Eléctrodos específicos. Cromatografia iónica.
Substâncias tensoactivas (que reagem com o azul-de-metileno).	mg/l, sulfato de laurilo e sódio	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular.
Fósforo total .....	mg/l <i>P</i>	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular.
Fenóis .....	mg/l <i>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH</i>	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular Método da 4-aminoantipirina Método da paranitranilina
Hidrocarbonetos totais .....	mg/l	25	25	10	Espectrometria no infravermelho após extracção com solventes adequados. Gravimetria após extracção com solventes adequados.
Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares.	µg/l	25	25	25	Cromatografia em fase gasosa. Cromatografia líquida de alta eficiência (¹).
Pesticidas totais (paratião, hexacloro-ciclo-hexano, dieldrina).	µg/l	25	25	25	Cromatografia em fase gasosa ou líquida após extracção por solventes adequados e purificação. Identificação dos constituintes da mistura (²). Determinação quantitativa

Parâmetros	Expressão dos resultados	Limite de detecção — % valor paramétrico	Precisão — % valor paramétrico	Exactidão — % valor paramétrico ±	Métodos analíticos de referência (1)
Carência química de oxigénio (CQO).	mg/l O <sub>2</sub>	25	25	10	Método do dicromato de potássio.
Oxigénio dissolvido . . . . .	% saturação de O <sub>2</sub>				Método de Winkler . Método electroquímico .
Carência bioquímica de oxigénio (CBO <sub>5</sub> , 20°C).	mg/l O <sub>2</sub>	25	25	10	Determinação de O <sub>2</sub> dissolvido antes e após cinco dias de incubação a 20°C 1°C ao abrigo da luz, com adição de um inibidor da nitrificação.
Azoto Kjeldahl (não inclui o azoto de NO <sub>2</sub> e NO <sub>3</sub> ).	mg/l N	10	10	10	Mineralização, destilação segundo o método Kjeldahl e determinação do amónio por espectrometria de absorção molecular ou volumetria.
Azoto amoniacal . . . . .	mg/l NH <sub>4</sub>	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Volumetria.
Salmonelas . . . . .					Concentração por filtração (através de membrana ou filtro apropriado). Sementeira em meio de pré-enriquecimento. Enriquecimento, subcultura em meio de isolamento. Identificação .

(1) Mistura de seis substâncias padrão a tomar em consideração e que têm a mesma concentração: fluoranteno, benzo [3,4] fluoranteno; benzo [1,12] fluoranteno; benzo [3,4] pireno; benzo [1,12] perileno; indeno [1,2,3-cd] pireno.

(2) Mistura de três substâncias a tomar em consideração e tendo a mesma concentração: paratião, hexaclorociclo-hexano, dieldrina.

(3) Se a concentração das amostras em sólidos em suspensão for tão elevada que elas necessitem de um tratamento prévio especial, poderão excepcionalmente ser ultrapassados os valores de exactidão que constam do presente anexo, e estes constituirão um objectivo. Estas amostras devem ser tratadas de modo a garantir que a maior parte das substâncias a determinar seja analisada.

Material recomendado para o recipiente:

- vidro;
- vidro esterilizado;
- vidro ou alumínio;
- ⊗ — sem quantidades significativas de boro.



## DIÁRIO DA REPÚBLICA

Depósito legal n.º 8814/85

ISSN 0870-9963

### AVISO

Por ordem superior e para constar, comunica-se que não serão aceites quaisquer originais destinados ao *Diário da República* desde que não tragam aposta a competente ordem de publicação, assinada e autenticada com selo branco.

Os prazos para reclamação de faltas do *Diário da República* são, respectivamente, de 30 dias para o continente e de 60 dias para as Regiões Autónomas e estrangeiro, contados da data da sua publicação.

**PREÇO DESTA NÚMERO 456\$00 (IVA INCLuíDO 5%)**

*Diário da República Electrónico*: Endereço Internet: <http://www.incm.pt>



## IMPRESA NACIONAL-CASA DA MOEDA, E. P.

### LOCAIS DE INSCRIÇÃO DE NOVOS ASSINANTES, VENDA DE PUBLICAÇÕES, IMPRESSOS E ESPÉCIMES NÚMISMÁTICOS

Rua de D. Francisco Manuel de Melo, 5 — 1099 Lisboa Codex  
Telef. (01)387 30 02 Fax (01)384 01 32

Rua da Escola Politécnica, 135 — 1250 Lisboa  
Telef. (01)397 30 35/(01)397 47 68 Fax (01)396 94 33 Metro — Rato

Rua do Marquês de Sá da Bandeira, 16-A e 16-B — 1050 Lisboa  
Telef. (01)353 03 99 Fax (01)353 02 94 Metro — S. Sebastião

Rua de D. Filipa de Vilhena, 12 — 1000 Lisboa  
Telef. (01)796 55 44 Fax (01)797 68 72 Metro — Saldanha

Avenida do Engenheiro Duarte Pacheco — 1070 Lisboa  
(Centro Comercial das Amoreiras, loja 2112)  
Telef. (01)387 71 07 Fax (01)353 02 94

Avenida Lusitana — 1500 Lisboa  
(Centro Colombo, loja 0.503)

Telefs. (01)711 11 19/23/24 Fax (01)711 11 21 Metro — C. Militar

Praça de Guilherme Gomes Fernandes, 84 — 4050 Porto  
Telef. (02)205 92 06/(02)205 91 66 Fax (02)200 85 79

Avenida de Fernão de Magalhães, 486 — 3000 Coimbra  
Telef. (039)2 69 02 Fax (039)3 26 30

Correio electrónico: [dre@incm.pt](mailto:dre@incm.pt) Linha azul: 0808 200 110

Toda a correspondência, quer oficial, quer relativa a anúncios e a assinaturas do «Diário da República» e do «Diário da Assembleia da República», deve ser dirigida à administração da Imprensa Nacional-Casa da Moeda, E. P., Rua de D. Francisco Manuel de Melo, 5 — 1099 Lisboa Codex



Instituto Politécnico de Tomar

[www.ipt.pt](http://www.ipt.pt)