



Dissertação

Mestrado em Engenharia da Energia e do Ambiente

Avaliação da Ecotoxicidade da Água no Rio Lis

Mariama Cândido Sanó

Leiria, *março* de 2015



Dissertação

Mestrado em Engenharia da Energia e do Ambiente

Avaliação da Ecotoxicidade da Água no Rio Lis

Mariama Cândido Sanó

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Doutora Judite dos Santos Vieira, Professora da Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Leiria e coorientação da Doutora Sílvia Cristina Rodrigues dos Santos, Investigadora de Pós-Doutoramento da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

Leiria, *março* de 2015

“Tudo é remédio e tudo é veneno em função da dosagem”.

Paracelso

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Agradecimentos

A presente Dissertação de mestrado foi concluída com a amabilidade e disponibilidade de várias pessoas, as quais manifesto os meus sinceros e reconhecidos agradecimentos:

À professora Doutora Judite Vieira, a minha orientadora, agradeço pelo apoio e ajuda prestada, disponibilidade, incentivo, conhecimentos transmitidos e cedência bibliográfica.

À professora Doutora Sílvia, o meu sincero agradecimento pela coorientação neste projeto. Agradeço o seu apoio e sugestões essenciais para a elaboração da dissertação, bem como a disponibilidade.

Ao Laboratório de Processos de Separação e Reação / Laboratório de Catálise e Materiais (LSRE/LCM) da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP), em especial à Eng.^a Liliana Pereira, por me terem proporcionado as condições necessárias à elaboração da componente prática do meu projeto.

À Associação de Regantes e Beneficiários do Vale do Lis, por me terem facultado documentação de suporte à concretização do meu projeto.

À Eng.^a Kátia Monteiro, pela colaboração na análise das águas realizadas nos laboratórios da Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Leiria (ESTG).

Ao Eng.^o André Fonseca, pela sua disponibilidade e análise crítica na componente prática do projeto.

Aos meus amigos, em especial à Fátima Suaré e ao Aly, pela partilha de bons momentos, a ajuda e os estímulos nas alturas de desânimo. À minha amiga Cláudia pela ajuda que me prestou no âmbito informático e pelos bons conselhos. Pela sua paciência, carinho e disponibilidade.

Ao meu irmão e ao meu tio Francisco Cândido, por acreditarem sempre em mim e me apoiarem em todo o meu percurso académico.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Resumo

A bacia hidrográfica do rio Lis constitui um dos recursos naturais mais importante da região de Leiria. No entanto, a qualidade do ecossistema aquático não tem correspondido à importância que este recurso tem para a vida humana.

No presente trabalho, pretendeu-se caracterizar a qualidade da água através da determinação de parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos, no troço Vale do Lis, em Monte Real com o objetivo de avaliar a ecotoxicidade da água e o potencial impacto ambiental que os poluentes apresentam nas linhas de água. A área da bacia hidrográfica do rio Lis é utilizada para a prática de pesca desportiva e rega.

Foi efetuada a recolha e análise da água nos meses de junho, julho e setembro de 2014. Os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos determinados demonstraram que a água analisada cumpre os requisitos de qualidade definidos no Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de agosto para rega e fins piscícola. Relativamente à quantificação de metais (zinco, ferro, cobre, cádmio, chumbo, níquel, cromo e arsénio) as análises efetuadas não revelam contaminação metálica, atendendo aos baixos valores obtidos, em alguns casos abaixo do limite de deteção. No entanto, os parâmetros mais preocupantes no contexto da saúde pública foram os microbiológicos, nomeadamente o número de coliformes fecais obtidos, verificando-se valores superiores ao máximo permitido por lei (100 ufc/100 mL) para rega.

A avaliação ecotoxicológica foi realizada para a amostra recolhida em setembro de 2014, recorrendo ao organismo-teste bactéria *Vibrio fischeri* como indicador do efeito tóxico total. Os resultados obtidos não revelaram uma resposta muito significativa, uma vez que a concentração efetiva para 10% de efeito inibitório é de cerca de 26%. O efeito inibitório máximo quantificado para 5 minutos de exposição foi de 12%. Para tempos de exposição superiores, observou-se estímulo da bactéria e a ausência de efeito inibitório.

Embora os resultados deste trabalho não evidenciem ecotoxicidade preocupante, há que realçar a importância de realizar futuramente este tipo de estudos, em diferentes locais na bacia hidrográfica do Lis, por ser alvo de contantes contaminações.

Palavras-chave: Rio Lis, Qualidade da água, Ecotoxicologia, Vibrio fischeri

Abstract

The water catchment area of Lis river constitutes one of the most important natural resources of the region. However, the quality of the aquatic ecosystem has not done justice to how important this resource is to human life.

In the present study it was intended to characterize water quality through the determination of physical, chemical and microbiological parameters and ecotoxicological tests on the Valley of the Lis in Monte Real, area of catchment of the Lis river used for the practice of sport fishing and irrigation, aiming to evaluate the ecotoxicity of the water and the potential environmental impact of the pollutants present in the water lines.

The collection and analysis were carried out in different months of the year 2014, June, July and September. The results for the physico-chemical parameters demonstrated that the analyzed water meets requirements defined in Decreto-Lei n. °236/98 for watering and fishing purposes. The results obtained in the quantification of metals (zinc, iron, copper, cadmium, lead, nickel, chromium and arsenic) have not shown metallic contamination, given the low values obtained in some cases below of the detection limit.

However, of concern in the context of public health, it was in the microbiological fecal coliform number obtained, higher values to the maximum extent permitted by law (100 cfu/100 ml) for irrigation.

Ecotoxicological assessment was performed for a sample collected in September, using the organism test, bacteria *Vibrio fischeri*, as an indicator of the total toxic effect. The results obtained have not revealed a significant response, since the effective concentration for 10% of inhibitory effect is about 26%. The maximum inhibitory effect quantified for 5 minutes of exposure was 12%. For the higher exposure times it was observed stimulus of the bacterium and the absence of inhibitory effect.

Although the results of this work have not shown clearly concern to ecotoxicity stress, it is important conducting this type of future studies, at different locations in the watershed of Lis, for being the target of constant contamination.

Keywords: *Lis River, Water Quality, Ecotoxicology, Vibrio fischeri*

Índice de Figuras

Figura 1 - Bacia Hidrográfica do Rio Lis - Portugal.....	5
Figura 2 - Bacia Hidrográfica do rio Lis e principais afluentes	6
Figura 3 - Uso do solo (%) na bacia hidrográfica do rio Lis.....	8
Figura 4 – População residente em cada concelho em 2001 e 2011	9
Figura 5 - Utilização da água para consumo urbano na bacia do rio Lis no ano de 2008- valores em dam ³	10
Figura 6 - Emissões totais das cargas tóxicas anuais por concelho (valores em kg/ano).	20
Figura 7 - Quantidade anual de cada carga poluente produzida nos três concelhos (valores em kg/ano).....	20
Figura 8 - Exemplo de uma curva dose- resposta de um efluente ou amostra.....	28
Figura 9 - Local da recolha das amostras	38
Figura 10 - Câmara de Absorção Atómica com atomização eletrométrica.....	40
Figura 11 – Equipamento Microtox ®, utilizado para a medição da luminescência da bactéria <i>Vibrio fischeri</i>	41
Figura 12 – Relação efeito-concentração	48

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Área/Culturas regadas na bacia hidrográfica do rio Lis (ha). Regadios individuais e coletivos	12
Tabela 2 - Classificação das águas balneares da bacia do rio Lis no ano de 2012	13
Tabela 3 - Cargas poluentes descarregadas pelas ETAR urbanas ou FSC na bacia do rio Lis	16
Tabela 4 - Cargas poluentes estimadas para cada atividade industrial inserida na bacia hidrográfica do rio Lis.....	17
Tabela 5 - Concelhos de ação prioritária, do núcleo NAP 8, da Região de Leiria.....	19
Tabela 6 - Cargas tóxicas associadas à descarga de efluentes suinícolas	19
Tabela 7 - Carga de nutrientes provenientes da agricultura	23
Tabela 8 - Exemplo das principais espécies representativas de determinados níveis tróficos utilizados em testes toxicológicos	30
Tabela 9 - Resultados e respetivos parâmetros analisados referentes à bacia hidrográfica do rio Lis no período de 2011-2013.	35
Tabela 10 - Parâmetros analíticos de qualidade da água determinados em laboratório.....	41
Tabela 11 - Resultados de parâmetros medidos no local de amostragem.....	44
Tabela 12 - Resultados dos parâmetros analisados em laboratório (\pm desvio absoluto, em relação a média).	44

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Lista de Siglas

ARH – Administração da região Hidrográfica

ATP – Adenosina Trifosfato

C - Condutividade

CBO₅ – Carência Bioquímica de Oxigênio

CBPA - Código de Boas Práticas Agrícolas

CE₁₀ – Concentração efetiva 10 (Concentração da amostra responsável pelo efeito em 10% dos organismos)

CE₅₀ – Concentração efetiva 50 (Concentração da amostra responsável pelo efeito em 50% dos organismos)

CENO – Concentração de Efeito Não Observado

CEO – Concentração de Efeito Observado

CF- Coliformes Fecais

CL₁₀ – Concentração Letal 10 (Concentração do agente tóxico que causa 10% da mortalidade na população de organismos submetidos a teste)

CL₅₀ – Concentração Letal 50 (Concentração do agente tóxico que causa 50% da mortalidade na população de organismos submetidos a teste)

CQO – Carência Química de Oxigênio

CT- Coliformes Totais

DDT – Diclorodifeniltricloroetano

DL – Decreto-Lei

DQA – Diretiva Quadro da Água

ENEAPAI – Estratégia Nacional para os Efluentes Agropecuários e Agroindustriais

EPA- *Environmental Protection Agency*

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

ETES – Estação de Tratamento de Efluentes Suinícolas

FAS – Sulfato Ferroso Amoniacal

FMN – Mononucleótido de Flavina Oxidada

FMNH₂ – Mononucleótido de Flavina Reduzida

FSC – Fossa Sética Coletiva
GEE – Gases com Efeito Estufa
INSAAR – Instituto Nacional de Sistemas de Abastecimento de Águas e Águas Residuais
ISO – International Standardization Organization
LCM – Laboratório de Catálise e Materias
LSRE – Laboratório de Processos de Separação e Reação
N – Norte
NAP- Núcleo de Ação Prioritária
N_{Total} – Azoto Total
NW - Noroeste
OD – Oxigénio Dissolvido
ORP – Potencial de Oxidação-Redução
Ox-MnO₄ – Oxidabilidade ao permanganato
PDML – Plano Diretor Municipal de Leiria
PGRH – Plano de Gestão de Região Hidrográfica
P_{Total} – Fósforo Total
RCHO – Aldeído alifático de cadeia longa
RCOOH – Ácido Carboxílico
RGA- Recenseamento Geral da Agricultura
Simlis- Saneamento Integrado dos Municípios do Lis
SMAS – Serviços Municipalizados de Águas e Saneamento de Leiria.
SNIRH- Sistema Nacional de Informação de Recursos Hidrícios
SST – Sólidos Suspensos Totais
T – Temperatura
TDS – Sólidos Dissolvidos Totais
TRH- Taxa de Recursos Hidrícios
ufc- unidades formadoras de colónias

Índice

AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VII
ABSTRACT	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE TABELAS	XIII
LISTA DE SIGLAS	XV
ÍNDICE	XVII
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. OBJETIVOS.....	1
1.2. ENQUADRAMENTO.....	1
1.3. ESTRUTURA DO TRABALHO.....	2
2. A BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO LIS	5
2.1. CARACTERIZAÇÃO GERAL DA BACIA HIDROGRÁFICA	5
2.1.1. <i>Uso da Água</i>	9
2.2. POLUIÇÃO DA ÁGUA E CARGAS POLUENTES.....	14
2.2.1. <i>Efluentes Urbanos</i>	15
2.2.2. <i>Efluentes Industriais</i>	16
2.2.3. <i>Efluentes Agropecuários</i>	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1. INTRODUÇÃO	25
3.2. ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA.....	25
3.2.1. <i>Estudos Ecotoxicológicos: Bioensaios</i>	26
3.3. EVOLUÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO LIS.....	34
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1. ÁREA DE ESTUDO.....	37
4.2. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	38
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS	43
5.1. RESULTADOS DOS TESTES DE TOXICIDADE AGUDA COM A BACTÉRIA <i>VIBRIO FISCHERI</i>	47
6. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXOS.....	59

1. Introdução

1.1. Objetivos

O objetivo do presente trabalho tem como finalidade a avaliação da qualidade da água do rio Lis, em particular no troço localizado no Vale do Lis (Monte Real), através da realização de testes de ecotoxicidade com a bactéria *Vibro fischeri* e da determinação de alguns parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Considerou-se relevante avaliar a qualidade da água deste troço por ser conhecido pela prática de pesca desportiva, para além da sua utilidade para a população e biodiversidade existente, bem como se localizar numa zona de prática agrícola intensa. Acresce o facto da linha de água em estudo estar localizada a jusante de outros cursos de água, que são sujeitos a continuadas contaminações por diversas fontes poluentes existentes, como fontes domésticas e pecuárias (afluência da Ribeira dos Milagres), agrícolas e industriais (afluência do Coletor de Amor), entre outros. A análise da água permitirá avaliar o seu estado global e eventuais associações a diferentes cargas poluentes e existência ou não de potencial tóxico.

1.2. Enquadramento

Os recursos hídricos foram desde sempre a componente essencial no sustento e desenvolvimento da vida vegetal e animal. A evidência que a água tem nas nossas vidas é incontestável, pela importância que tem na saúde humana como bem e como risco.

Em termos de distribuição da água no planeta, os oceanos representam cerca de 97,5% (1 365 000 000 km³) e a água doce manifesta-se em apenas aproximadamente 2,5% (35 000 000 km³) da quantidade total de água existente. A água doce tem grande importância na subsistência humana, nos setores agrícola, alimentar, industrial e doméstico.

As modificações demográficas, económicas e climáticas foram acompanhadas pela variação da disponibilidade dos recursos hídricos, e o conseqüente aumento da poluição que levou à implementação de políticas adequadas de gestão de recursos hídricos. Tais políticas têm como finalidade, garantir um melhor aproveitamento da água disponível, bem como reconhecer a importância da água como fator de produção nos diversos setores de atividade económica e social. A variação da qualidade da água e o desequilíbrio entre o uso de água doce e os recursos hídricos disponíveis - *stress* hídrico (“*water stress*”) - estão efetivamente associados às atividades antropogénicas. No entanto, as alterações climáticas dão o seu contributo na perturbação do ciclo hidrológico, especificamente a absorção de Dióxido de Carbono (CO₂) pelas plantas, que quando efetuada acima do ideal promove a diminuição do processo de evapotranspiração e a conseqüente alteração dos níveis de escoamento (LNEG, 2014).

É de conhecimento geral que o rio Lis é um dos recursos naturais mais importantes na região de Leiria e trata-se de um curso de água sujeito a constantes agressões ambientais, decorrentes de diversas práticas inadequadas. A sua visível degradação resulta da introdução de matéria orgânica, matéria em suspensão, gorduras, metais pesados e matéria fecal nas linhas de água. Embora existam alguns estudos sobre a qualidade da água do rio Lis e seus afluentes, não foram encontrados estudos que abordassem a ecotoxicidade da água, assunto que motivou a realização do presente trabalho.

1.3. Estrutura do Trabalho

De modo a atingir os objetivos, este estudo está dividido da seguinte forma:

No **capítulo 2** é apresentada a caracterização da bacia hidrográfica do rio Lis, utilizações da água, fontes e cargas poluentes.

No **capítulo 3** é apresentada uma revisão bibliográfica sobre a ecotoxicidade, bem como a evolução da qualidade da água do rio Lis nos últimos anos, abordando resultados obtidos em estudos anteriores e dados da monitorização disponibilizados pelo Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos (SNIRH).

No **capítulo 4** é efetuada uma breve descrição da área de estudo, no qual são apresentados os materiais e os procedimentos adotados durante a recolha e análise das amostras, bem como a identificação dos s parâmetros determinados.

No **capítulo 5** são apresentados e analisados os resultados obtidos na determinação dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e nos ensaios de ecotoxicidade aguda com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*, a fim de verificar os possíveis efeitos sobre o sistema aquático em estudo.

O **capítulo 6** sintetiza os resultados obtidos durante toda a realização das atividades e propõe algumas sugestões para trabalhos futuros.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

2. A Bacia Hidrográfica do Rio Lis

2.1. Caracterização Geral da Bacia Hidrográfica

A bacia hidrográfica do rio Lis situa-se na região centro de Portugal Continental delimitada pela bacia do rio Mondego a Norte, pela bacia do rio Tejo a Este e pela bacia do Rio Alcoa a Sul (**Figura 1**). A bacia hidrográfica do Rio Lis apresenta um escoamento anual médio de 318 hm³ e uma altitude máxima de 562 m situada na Pedra do Altar (PGRH, 2012).

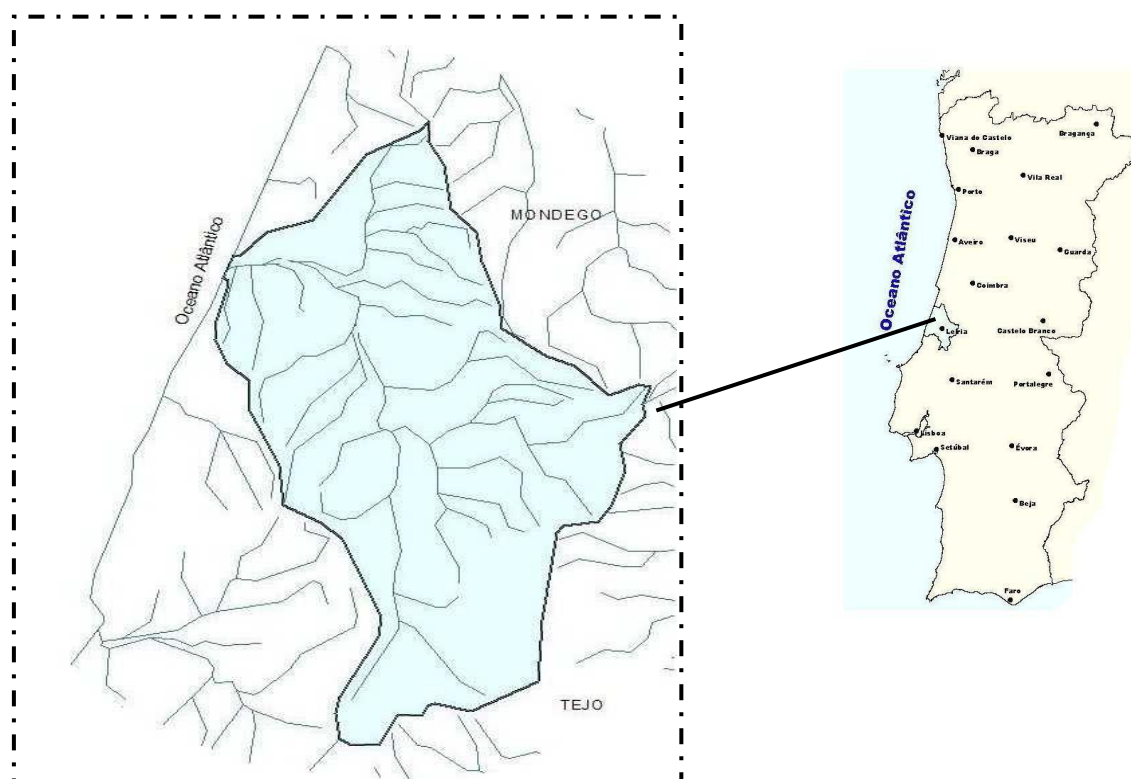


Figura 1 - Bacia Hidrográfica do Rio Lis - Portugal

(Fonte: Vieira, 2007)

A bacia hidrográfica do rio Lis estende-se por uma área de 850,09 km² com um comprimento total de linha de água de 40 km. A sua nascente situa-se no lugar das Fontes (Freguesia de Cortes – Leiria) e desagua na Vieira de Leiria. Os principais afluentes são o rio Lena (que constitui a maior sub-bacia), o rio Alcaide na margem esquerda, o rio Fora, as ribeiras do Sirol (também conhecida por ribeira da Caranguejeira) e dos Milagres, na margem direita (PGRH, 2012). A **Figura 2** ilustra a rede hidrográfica da bacia e os principais afluentes do rio Lis.

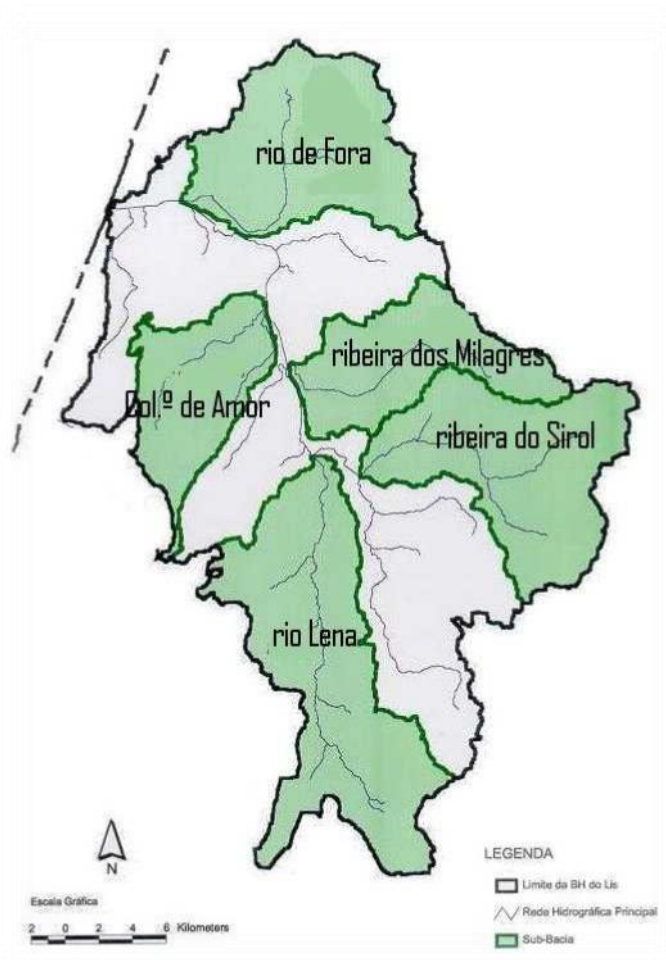


Figura 2 - Bacia Hidrográfica do rio Lis e principais afluentes

(Fonte: Vieira, 2007)

Sob o ponto de vista geológico e morfológico, uma grande parte da bacia hidrográfica do rio Lis está integrada numa região composta por argilas, areias e cascalheiras do Terceário, calcários do Jurássico Médio e calcários margosos e margas do Cretácio e do Jurássico superior. No que se refere ao período Holocénio, encontram-se aluviões nos vales da rede e areias dunares na Orla Costeira, que são grupos litológicos de grande importância devido à sua permeabilidade com capacidades hidrogeológicas suscetíveis de condicionar o curso de água e provocar a difusão dos poluentes domésticos e industriais (Vieira, 2007; PGRH, 2012).

A hidrogeologia está associada à circulação, armazenamento e distribuição das águas subterrâneas. O sistema hidrogeológico está vulnerável à poluição das diferentes formações geológicas. A determinação da vulnerabilidade depende das características geológicas e hidromorfológicas do sistema e de outras, tais como: a ocupação do solo ou o tipo de contaminante (PGRH, 2012).

A bacia hidrográfica do rio Lis enquadra-se num clima mediterrânico com duas estações bem definidas no ponto de vista térmico, assim como pluviométrico - verões quentes e sem precipitação - e invernos com temperaturas suaves e forte pluviosidade (Jesus & Carvalho, 1997; PGRH, 2012). Inserida numa zona de forte pluviosidade, nos meses de outubro a março ocorre uma precipitação mais acentuada na bacia do rio Lis (PGRH, 2012). A precipitação tem características que lhe conferem importância quanto à difusão e transporte dos poluentes nos cursos de água. Adicionalmente, a dispersão de poluentes é preponderante, nomeadamente os poluentes atmosféricos. Os ventos registados na bacia hidrográfica do rio Lis têm grande relevância para a agricultura, particularmente no período do verão, devido aos ventos de advecção litoral que colmatam a falta de precipitação existente neste período. Os ventos dominantes sopram no sentido dos quadrantes Norte (N) e Noroeste (NW) essencialmente nos meses de verão e a disposição do relevo, particularmente a orientação e abertura dos vales do Lis e do Lena, tendem a favorecer a circulação e a penetração dos ventos marítimos húmidos em praticamente toda a bacia hidrográfica. No período de 2011 a velocidade média anual dos ventos na bacia do rio Lis variou entre 6 e 9 km/h (PGRH, 2012).

Os solos da bacia hidrográfica apresentam características decorrentes do desenvolvimento ocasionado por condições litológicas e hídricas. São considerados os quatro principais tipos de solo: os podzóis, cambissolos, luvisolos e aluviossolos.

Os podzóis ocupam a maior área superficial da bacia (40%), são tipos de solos pobres que se localizam a jusante de Leiria e com predominância na vegetação à base de resinosas - pinheiro bravo. Porém, a forte permeabilidade conferida a estes solos efetivam a pouca capacidade de retenção de água. A área a Sul da bacia hidrográfica é coberta com cerca de 20% de luvisolos, tendo uma boa capacidade de retenção de água e fertilidade quando se encontram a grandes profundidades. Contudo, devido a limitações desta tipologia de solos a prática agrícola é condicionada e pouco desenvolvida. O tipo de solos cambissolos apresentam características que permitem a prática agrícola intensiva neste tipo de solos, para além de cobrirem aproximadamente 28% da área da bacia do rio Lis. Já os aluviossolos ocupam apenas cerca de 7% da superfície da bacia, no entanto são os solos com as melhores condições para a ocupação agrícola devido à boa capacidade de fertilidade inerente (Vieira, 2007; PDML, 2010).

Segundo o Plano de Gestão de Região Hidrográfica (PGRH) dos rios Vouga, Mondego e Lis (2012), estima-se que a ocupação florestal na bacia do rio Lis represente mais de metade da área do concelho (60,5%), comparativamente às áreas infraestruturadas, ao espaço urbano, industrial, agrícola e outros espaços (**Figura 3**).

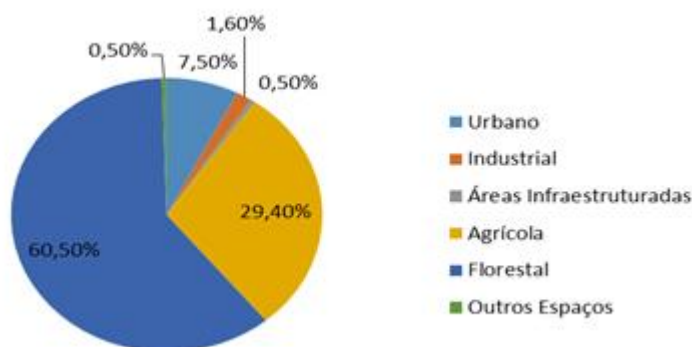


Figura 3 - Uso do solo (%) na bacia hidrográfica do rio Lis

(Adaptado do PGRH, 2012)

A agricultura é a segunda ocupação mais importante, cerca de 29,4%, ligada ao cultivo de vinhas, pomares, oliveiras e culturas arvenses de sequeiro e regadio.

A bacia hidrográfica do rio Lis compreende seis concelhos inseridos na Região Centro do país, que por sua vez estão inseridos na sub-região do Pinhal Litoral. Os concelhos abrangidos pela bacia são Leiria, Pombal, Batalha, Marinha Grande, Porto Mós e Ourém, estando este inserido no distrito de Santarém e da região Médio Tejo.

A Figura 4 – População residente em cada concelho em 2001 e 2011

apresenta a população residente em cada concelho nos anos de 2001 e 2011, num total de 84 freguesias. De 2001 para 2011 observou-se um acréscimo da população residente na área da bacia do rio Lis, com maior incidência no concelho de Leiria, seguido da Marinha Grande e Batalha.

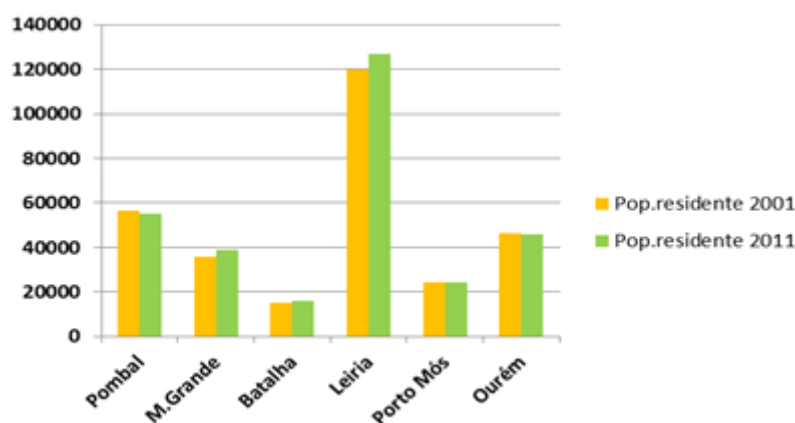


Figura 4 – População residente em cada concelho em 2001 e 2011

(Fonte: INE, 2011)

2.1.1. Uso da Água

O crescimento populacional e o conseqüente aumento do consumo da água levou à necessidade da criação de meios de controlo e gestão dos recursos hídricos, que permitiriam a disponibilidade adequada para os diferentes setores, não comprometendo a realidade socioeconómica e cultural da região.

Segundo o PGRH (2012), com base nos dados disponibilizados pelo Inventário Nacional de Sistemas de Abastecimento de Água e Águas Residuais (INSAAR) e pela Administração da Região Hidrográfica do Centro (ARH centro) obtiveram-se valores para o volume total captado por tipo de origem para consumo urbano na bacia hidrográfica do rio Lis. O valor total captado em 2008, para consumo humano, em área urbana, foi de 13 000 dam³.

A **Figura 5** representa a distribuição dos volumes de água captados no ano de 2008 na bacia hidrográfica do rio Lis para consumo urbano por tipo de origem.

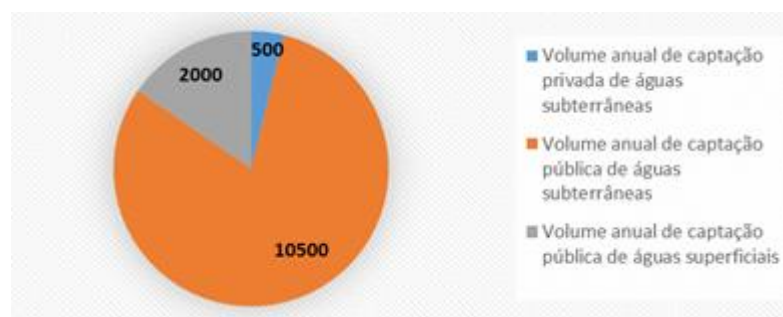


Figura 5 - Utilização da água para consumo urbano na bacia do rio Lis no ano de 2008- valores em dam³
(Adaptado de PGRH, 2012)

Nos pontos seguintes são descritas as utilizações de água associadas a cada setor.

2.1.1.1. Abastecimento Público

De acordo com o Decreto-Lei 306/2007, de 27 de agosto, um sistema de abastecimento de água tem como função fornecer “água destinada ao consumo humano” para fins domésticos independentemente da sua origem e de ser fornecida a partir de uma rede de distribuição. Independentemente da sua origem a água necessita passar por um tratamento prévio antes da sua distribuição. A região do concelho a água apresenta características diferentes, e, portanto, o processo de tratamento vai compreender procedimentos de tratamento distintos (SMAS, 2014). Os Serviços Municipalizados de Águas e Saneamento de Leiria (SMAS) são a entidade gestora responsável pelo abastecimento público de água e de saneamento de águas residuais urbanas.

Segundo o plano de gestão de região hidrográfica dos rios Vouga, Mondego e Lis, a bacia hidrográfica do Lis dispõe de 72 captações subterrâneas distribuídas pelos seis concelhos e de 3 captações superficiais. Uma das captações superficiais situa-se no concelho de Leiria com uma captação anual de 1 821 dam³ que abastece 31 299 habitantes, em São Romão. As restantes captações superficiais situam-se no concelho de Pombal, na nascente do Ourão, onde se regista uma captação anual de 258 dam³ destinados ao abastecimento de 2 933 habitantes (PGRH, 2012).

2.1.1.2. Indústria

Tendo em conta a variabilidade existente ao nível dos processos produtivos e das origens das águas disponíveis, os valores das necessidades hídricas são desconhecidos. Tal sucede porque, as indústrias possuem captações próprias e os caudais são desconhecidos. Para além da dificuldade associada à obtenção de dados de caudais utilizados, a carência de um método rápido e eficaz que permita uma melhor e correta estimativa das necessidades hídricas também é um obstáculo. Para o setor industrial, as necessidades totais hídricas estimadas são de 4 260 000 m³/ano. (PGRH, 2012).

2.1.1.3. Agricultura

O uso de água na agricultura está essencialmente associada à sua utilização na rega. A quantidade de água utilizada para rega é variável, pois o volume a utilizar depende de fatores meteorológicos e hidrológicos que determinam a humidade no solo (PGRH, 2012).

A informação disponível para a rega é muito escassa, e o uso de água no setor agrícola é caracterizado através dos regadios. No período de 2010, 5 793 ha de culturas foram regadas na bacia hidrográfica do rio Lis, sendo que o principal aproveitamento hidroagrícola localiza-se no Vale do Lis, numa área de 2 132 ha (PGRH, 2012).

Segundo o PGRH (2012), registaram-se alterações na área regada no Vale do Lis entre 1999 e 2008, 1 804 ha e 1 415 ha respetivamente, onde se verificou uma redução de cerca de 20% da área regada.

A **Tabela 1** apresenta, para as diferentes culturas as áreas regadas para os regadios coletivos de iniciativa pública do tipo II - Vale do Lis - na bacia hidrográfica do rio Lis, entre 2010 e 2013 batata (PGRH,2012; Lis, 2013). É possível constatar que a cultura predominante deste aproveitamento é o milho, seguindo-se o prado e o arroz. Note-se que houve uma diminuição acentuada na área de culturas de batata, eventualmente uma das causas será a evolução dos preços dos fatores para a produção dos produtos agrícolas.

Tabela 1 - Área/Culturas regadas na bacia hidrográfica do rio Lis (ha). Regadios individuais e coletivos

Culturas	Regadios Coletivos (2010)	Regadios Coletivos (2013)
Milho	630	650
Batata	309	5
Prado	260	250
Pomar	91	115
Arroz	125	160

Fonte: PGRH, 2012

2.1.1.4. Pecuária

A pecuária é uma atividade com um peso económico significativo na região de Leiria e com exigências de água significativas. Nesta atividade a criação de animais com maior representatividade na bacia do rio Lis são: bovinos, suínos, ovinos, caprinos, equídeos e aves (PGRH, 2012).

Segundo o Plano Diretor Municipal de Leiria (PDML), em 2010, o setor suinícola estava distribuído maioritariamente pela zona centro-norte do concelho de Leiria, que em termos económicos superava a atividade agrícola (PDML, 2010). No entanto, a localização das suiniculturas, junto às linhas de água, levam a consecutivas descargas dos efluentes, muitas vezes, sem qualquer tratamento prévio proporcionando graves impactes ambientais no meio hídrico. De acordo com o PGRH (2012) as necessidades hídricas para a pecuária na bacia do Lis totalizam 690 000 m³/ano.

2.1.1.5. Atividades de Recreio e Lazer

- Atividade Balnear

De acordo com o artigo 2º da Portaria n.º267/2010 de 16 de abril, as zonas balneares da bacia hidrográfica do rio Lis são identificadas como águas balneares costeiras e de transição, e que dela faz parte o concelho da Marinha Grande, Pombal e Leiria. São zonas balneares utilizadas por um número considerável de banhistas o que implica um controlo rigoroso dos parâmetros de qualidade de acordo com a legislação vigente, e atribuição de uma classificação à qualidade da água consoante os resultados obtidos. Na **Tabela 2** estão mencionadas as classificações correspondentes para cada zona balnear existente na bacia hidrográfica do rio Lis em 2012.

Tabela 2 - Classificação das águas balneares da bacia do rio Lis no ano de 2012

Cód. Água Balnear	Nome da Água Balnear	ARH/Região	Concelho	Classificação	Categoria
PTCW7N	Praia da Vieira	ARH-Centro	Marinha Grande	Boa	Costeira
PTCH3P	Pedrogão Sul	ARH-Centro	Leiria	Excelente	Costeira
PTCF7U	Pedrogão Centro	ARH-Centro	Leiria	Excelente	Costeira
PTCT8J	Osso da Baleia	ARH-Centro	Pombal	Excelente	Costeira

Adaptado do *site* www.apambiente.pt das águas balneares, em 10-06-2014

- Atividade Piscatória

A atividade piscatória na região de Leiria tem grande incidência na pesca desportiva como forma de aproveitamento dos potenciais da bacia hidrográfica do rio Lis. As freguesias de Monte Real e Carreira são locais onde habitualmente se realizam as atividades referidas.

- Termas

A atividade termal tem vindo a ter um papel importante na economia, devido à forte procura como tratamento medicinal e ponto turístico. As termas concessionadas na bacia do rio Lis são as termas de Monte Real, do concelho de Leiria (PGRH, 2012).

2.2. Poluição da Água e Cargas Poluentes

De acordo com a alínea tt) do artigo n.º4 da Lei n.º 58/2005, de 29 de dezembro, entende-se por poluição, como “a introdução direta ou indireta, em resultado da atividade humana, de substâncias ou de calor no ar, na água ou no solo”, em quantidade tal que possa alterar e ser prejudicial para a saúde humana ou para a qualidade dos ecossistemas.

A contaminação das águas na bacia hidrográfica do rio Lis começa no setor a montante da bacia, região calcária, com características geológicas de grande permeabilidade, ou seja, a água pode infiltrar-se na rocha sem sofrer qualquer processo de filtragem natural, o que acontece nas águas que brotam das nascentes do Lis e do Lena (Jesus & Carvalho, 1997).

Nesta secção são apresentadas as fontes de poluição que ameaçam os recursos hídricos da bacia do rio Lis. As principais fontes foram classificadas quanto à sua forma de inserção no meio e quanto à sua origem.

A poluição de fonte tónica está associada à poluição decorrente de descargas residuais que podem ser identificadas e controladas.

Os efluentes podem ter origem em atividades domésticas (efluentes urbanos), industriais (efluentes industriais), explorações pecuárias (efluentes agropecuários) e agrícolas (efluentes agrícolas).

2.2.1. Efluentes Urbanos

Devido à descarga em sistemas de drenagem deste tipo de efluentes, a concentração dos principais poluentes varia em função da sua composição, dadas as condições de variabilidade de origem e combinação que os efluentes urbanos dispõem (PGRH, 2012). Em determinadas regiões evidencia-se um maior risco de poluição devido à não conformidade dos níveis de atendimento em drenagem e tratamento, derivado de fatores como o crescimento acelerado da urbanização e o conseqüente aumento do volume de efluentes (Costa *et al.*, 2007).

O concelho mais populoso que integra a bacia, logo gerador de maior carga poluente de origem doméstica associada aos efluentes urbanos, segundo o PGRH 2012, é o concelho de Leiria, contribuindo com 89-92% da carga poluente total (em SST, nutrientes e matéria orgânica).

Os efluentes domésticos apresentam elevada quantidade de matéria orgânica biodegradável, responsável pela significativa redução de oxigénio nos cursos de água, como resultado da estabilização do material orgânico realizado pelas bactérias.

De acordo com o PGRH 2012, para a análise das cargas poluentes associadas aos efluentes urbanos, foram considerados os seguintes parâmetros de qualidade: a Carência Bioquímica de Oxigénio (**CBO₅**) aos 5 dias e a 20°C, a Carência Química em Oxigénio (**CQO**), os Sólidos Suspensos Totais (**SST**), o Azoto Total (**N_{total}**) e o Fósforo Total (**P_{total}**).

A **Tabela 3** apresenta as cargas estimadas na bacia hidrográfica do rio Lis, associadas às descargas de efluentes urbanos provenientes das estações de tratamento e das Fossas Sépticas Coletivas (FSC) no ano de 2010. Sendo que, o atendimento dos serviços públicos de tratamento de águas residuais foi direcionado maioritariamente para o setor doméstico (com cerca de 66%). Note-se ainda que na bacia do rio Lis, o concelho de Leiria foi quem mais contribuiu com cargas poluentes em termos de CQO, CBO₅ e SST (com cerca de 90% do total descarregado) (PGRH, 2012).

Tabela 3 - Cargas poluentes descarregadas pelas ETAR urbanas ou FSC na bacia do rio Lis

Cargas	(t/ano)
CBO ₅	89,4
CQO	534,4
SST	408,0
N _{total}	262,2
P _{total}	28,9

Fonte: PGRH, 2012

2.2.2. Efluentes Industriais

Os efluentes industriais são igualmente uma fonte de poluição com grande impacto nos cursos de água, e como tal um fator importante a ter em conta.

Os referidos efluentes antes de serem rejeitados são sujeitos a tratamento em sistemas de drenagem municipalizados ou multimunicipais. Na bacia do rio Lis, para além da suinicultura, a indústria é também um dos principais motores de desenvolvimento económico da região, com destaques na indústria vinícola, de laticínios, lagares, outras indústrias agroalimentares e indústria transformadora.

A produção de vinho passa por várias etapas onde a qualidade e a quantidade do efluente líquido produzido é variável. Tal variação tem influência ao nível da carga poluente. A composição destes efluentes caracteriza-se por serem mais poluentes que os efluentes domésticos, impossibilitando o seu encaminhamento para Estação de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) (Vieira, 2009).

Os efluentes resultantes da produção láctea são ocasionados, essencialmente, pela lavagem dos tanques de refrigeração e outros equipamentos das instalações. A lavagem desses equipamentos produz efluentes com elevada carga orgânica e alguns vestígios de soluções de limpeza (PGRH, 2012).

As águas residuais provenientes do processo de extração de azeite, denominadas de águas ruças, têm um elevado teor orgânico de difícil biodegradabilidade, devido à presença dos compostos fenólicos que dificultam os processos de depuração. Assim, os efluentes resultantes dos lagares de azeite constituem um grave problema na poluição dos recursos

hídricos (Curinha, 2008; PGRH, 2012). Por outro lado, as águas ruças contêm compostos minerais com propriedades fertilizantes que podem ser benéficas no uso dos solos se tiverem uma aplicação controlada, que de acordo com o Despacho Conjunto 626/2000 de 6 de junho, presente no Diário da República- II Série, nº131 de junho, esta é uma prática já utilizada noutros países produtores de azeite, nomeadamente da Europa Mediterrânica.

A indústria transformadora engloba diversas atividades industriais desde a indústria metalúrgica e têxtil, à fabricação de produtos químicos e de borracha, bem como equipamentos de transporte e materiais de plástico, papel e borracha, entre outras.

De modo a determinar o impacto que as unidades industriais têm nos recursos hídricos, o PGRH (2012) efetuou uma estimativa das cargas poluentes emitidas pelas diversas indústrias da bacia hidrográfica do Lis abrangidas no plano (**Tabela 4**).

Tabela 4 - Cargas poluentes estimadas para cada atividade industrial inserida na bacia hidrográfica do rio Lis

	SST (kg/ano)	CBO ₅ (kg/ano)	CQO (kg/ano)	N _{Total} (kg/ano)	P _{Total} (kg/ano)
Vinícola	578	7 500	12 669	791	268
Laticínio	12	30	45	28	8
Lagares	16 773	26 769	67 374	380	171
Outras indústrias Agroalimentares	341	341	512	292	97
Transformadoras	-	77	4246	54	-

Fonte: PGRH 2012

2.2.3. Efluentes Agropecuários

A atividade pecuária tem uma maior relevância na bacia hidrográfica do rio Lis relativamente à agricultura, em virtude do aumento de práticas de criação e exploração de animais suínos, e conseqüente aumento económico regional estabelecido por estas explorações (PDML, 2012).

A má gestão no tratamento dos efluentes agropecuários tem várias consequências a nível de contaminação do solo, das linhas de água e produção de odores desagradáveis. A deterioração ambiental provocada por este setor impulsionou a investigação e o desenvolvimento de técnicas que visam a resolução ou mitigação destes problemas.

Todavia de acordo com o conceito de sustentabilidade é necessário definir opções políticas para encorajar o uso sustentável dos resíduos/efluentes agropecuários, do ponto de vista ambiental e técnico, através do tratamento de efluentes, reciclagem dos efluentes com posterior valorização dos mesmos, potenciar a produção energética de efluentes pecuários na forma de chorume, que contém nutrientes de bovinos e suínos para produção de biogás, e ainda redução de gases com efeito estufa (Neves, 2013; Deng *et al.*, 2014).

- Suiculturas

O impacte ambiental das pecuárias, designadamente deste subsector das suiculturas, é dos mais preocupantes de todos os tipos de indústrias. A produção intensiva e o aumento da produtividade resultaram no aumento da poluição por efluentes suínos, que têm causado desequilíbrios ecológicos nas diversas regiões onde se localizam.

A região de Leiria está inserida no Núcleo de Ação Prioritária (NAP 8), que segue orientações políticas definidas pela Estratégia Nacional para os Efluentes Agropecuários e Agroindustriais (ENEAPAI). A ENEAPAI integra os concelhos de Pombal, Batalha, Marinha Grande, Leiria e Porto Mós, que representam cerca de 15% da produção nacional (**Tabela 5**). O concelho de Leiria é o que se destaca no setor, com cerca de 68%, sendo também o que apresenta menor área agrícola/exploração.

Tabela 5 - Concelhos de ação prioritária, do núcleo NAP 8, da Região de Leiria

	Explorações	Porcas	Efetivo Total	Efet.M ed.	
Pombal	314	3 606	25 007	80	9%
Leiria	208	16 728	175 644	845	68%
Batalha	28	2 108	22 134	790	8%
Marinha Grande	3	461	4 734	1578	2%
Porto de Mós	41	3 412	32 889	802	13%
	594	26 315	260 478	438	

15% da produção nacional

Fonte: Neves, 2013

Os poluentes produzidos por este setor caracterizam-se essencialmente, pelas emissões atmosféricas (odores desagradáveis), pela produção e rejeição de efluentes sólidos, e de efluentes líquidos com elevada carga orgânica e bacteriológica, como por exemplo, o estrume, chorume e águas de lavagem.

A Administração de Recursos Hídricos Centro (ARH-centro) disponibiliza dados referentes às emissões dos poluentes associados aos efluentes suínícolas dos concelhos de Leiria, Pombal e Porto Mós (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Cargas tóxicas associadas à descarga de efluentes suínícolas

	SST (kg/ano)	CBO ₅ (kg/ano)	CQO (kg/ano)	N (kg/ano)	P (kg/ano)
Leiria	17 160	8 077	37 364	3 264	125
Pombal	14 295	9 528	35 738	3 574	2 383
Porto Mós	2 851	1 901	7 128	713	475

Fonte: PGRH 2012

As Figuras Figura 6 e **Figura 7** evidenciam os valores anuais dos poluentes produzidos pela atividade suinícola nos respetivos concelhos e as emissões totais produzidas por cada poluente.

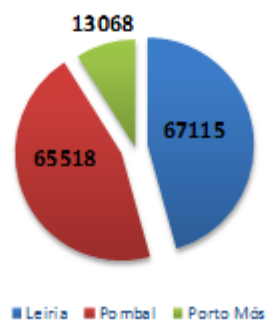


Figura 6 - Emissões totais das cargas tóxicas anuais por concelho (valores em kg/ano).

(Fonte: PGRH, 2012)

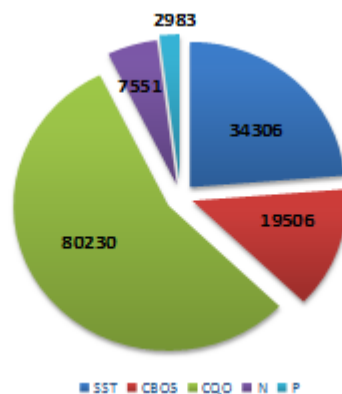


Figura 7 - Quantidade anual de cada carga poluente produzida nos três concelhos (valores em kg/ano)

(Fonte: PGRH, 2012)

Analisando a **Figura 6** e de acordo com PGRH 2012, Leiria é o concelho que apresenta maior carga poluente, pelo facto de ser o concelho que apresenta maior número de explorações, seguido de Pombal e de Porto Mós. Relativamente às emissões dos poluentes (**Figura 7**) emitidos nos três concelhos, a nível de CQO, SST, CBO₅, N e P, verifica-se que a CQO, os SST e a CBO₅ apresentam uma quantidade consideravelmente elevada comparativamente à quantidade de azoto e fósforo, o que sugere uma ineficiência na remoção destes poluentes por inexistência de tratamento adequado ou mesmo inexistência de tratamento.

Apesar das baixas quantidades de N e P produzidas pelos três concelhos, 7551 kg e 2983 kg, respetivamente, estes nutrientes têm potenciais impactes nas águas superficiais devido ao lançamento dos efluentes sem tratamento adequado e a sua incorreta aplicação na fertilização de terrenos. Um dos efeitos sobre as águas superficiais é a eutrofização, que leva à redução de Oxigénio Dissolvido (OD) e poderá pôr em causa a sobrevivência das espécies aquáticas.

A problemática ambiental dos resíduos suinícolas está associada à emissão de efluentes líquidos com elevada carga orgânica, nutrientes como o azoto (N) e o fósforo (P), para além de outros contaminantes como metais e detergentes, resultante das águas de lavagem. A concentração dos poluentes tem elevada variabilidade devido às diferentes práticas de exploração (Vivan *et al.*, 2010; Lahav *et al.*, 2013). A minimização destas ocorrências passa pela adoção de técnicas de tratamento de efluentes de suiniculturas, que incluam o tratamento dos efluentes líquidos através de processos físicos, químicos e biológicos, reduzindo assim a quantidade de contaminantes perigosos e desta forma criar um produto final útil para a fertilização de terrenos ou produção de biogás.

Atualmente, muitas suiniculturas enviam os seus resíduos para tratamento na ETAR Norte (estação de tratamento de águas residuais em Coimbra- Leiria), através de camiões cisterna, o que tem obviamente implicações em termos de custos e em termos de tratamento na ETAR. Muitos suinicultores dispõem de sistemas de lagunagem, para estabilização de efluentes, que podem servir como soluções de pré-tratamento, mas estão longe de ter eficiência suficiente para uma descarga direta nos meios hídricos. Este comportamento, muito por culpa do incumprimento das leis estabelecidas e impunidade sobre quem as pratica, mas também por não existir ainda solução alternativa aceite pelos suinicultores, tem ocasionado a degradação da qualidade do meio hídrico.

Por forma a evitar as situações persistentes e gravosas sobre o sistema aquático da região, o distrito de Leiria conta com a empresa Recilis. A empresa Recilis é uma entidade promotora, desenvolvida por autarquias e suinicultores, responsável pelo tratamento e valorização dos efluentes suinícolas, que visa melhorar a qualidade do tratamento de efluentes suinícolas efetuados pela ETAR Norte. O projeto mais recente da Recilis destina-se à construção, instalação e exploração da Estação de Tratamento de Efluentes Suinícolas (ETES)

na freguesia de amor para o tratamento de cerca de 900 m³ de efluentes diários de mais de 400 explorações distribuídas pela bacia hidrográfica do rio Lis, abrangendo os concelhos de ação prioritária, do núcleo NAP8, da região de Leiria (Lopes, 2014; MAM, 2014).

O recurso ao uso de resíduos orgânicos derivados essencialmente da exploração pecuária, estrumes, chorumes e lamas de depuração, asseguram às culturas o fornecimento dos principais nutrientes - azoto, fósforo e potássio. A técnica de valorização agrícola através da utilização dos subprodutos pecuários leva à incorporação de quantidades excessivas de metais e microrganismos patogénicos nos solos.

A presença de metais tóxicos no solo poderá afetar as águas superficiais através do arrastamento dos seus constituintes pelas águas das chuvas ou da rega. Processo que contribui também para o transporte de fertilizantes e consequente contaminação das águas superficiais, devido à lixiviação de nitrato (NO₃⁻) ou organismos patogénicos.

O tipo de aproveitamento de efluentes pecuários tem um forte contributo como fonte de pressão difusa de nutrientes nas águas superficiais. Como tal, a acidificação das lamas é uma tecnologia desenvolvida e testada nos últimos anos, que consiste na diminuição do pH das lamas no pré-tratamento do chorume para o posterior espalhamento nos terrenos agrícolas, no entanto só adotada em determinados países (Bertoncini, 2008; Bernet & Béline, 2009; Fangueiro *et al.*, 2014). O Código de Boas Práticas Agrícolas (CBPA) bem como o Decreto-Lei n.º235/97, de 3 de setembro, asseguram a utilização racional e controlada de chorumes em solos agrícola, a fim de proteger do recursos hídricos desta forma de poluição.

De acordo com o PGRH (2012), é a cultura de milho que mais contribui para a carga poluente em azoto. A bacia hidrográfica do rio Lis no ano de 2010 registou valores de carga poluente em azoto de 132,59 t/ano e em fósforo de 18,08 t/ano. Estes valores podem estar associados ao facto de a cultura de milho ter maior representatividade na bacia hidrográfica relativamente às restantes culturas, tanto no regadio individual como no regadio coletivo.

Dados da ARH do centro referentes ao período de 2009 a 2010 revelam que a qualidade da água no que se refere ao estado ecológico para a bacia do rio Lis é “Medíocre” ou “Má”, nomeadamente na qualidade dos elementos biológicos (composição, abundância e estrutura etária de organismos aquáticos) (PGRH, 2012). Para o mesmo período o Sistema Nacional de Recursos Hídricos (SNIRH) classifica a qualidade da água como “Má” e “Muito Má” para os parâmetros de CQO, Fósforo total e Fosfatos P₂O₅ (SNIRH, 2015).

A poluição difusa compreende fontes de contaminação não pontuais, ou seja, está associada principalmente à drenagem dos solos e escoamento superficial que arrasta todos os poluentes naturais e antropogénicos neles depositados para os lagos, rios, águas costeiras e subterrâneas de forma dispersa e mal definida (D'Arcy & Frost, 2001; Hranova, 2006). A poluição das massas de água superficiais pode advir de fontes rurais, devido à prática de agricultura intensiva com recurso à utilização de grandes quantidades de fertilizantes, assim como de fontes urbanas que englobam as zonas industriais e comerciais, impactes de emissões de tráfego. As chuvas ácidas podem ser consideradas fontes difusas, na medida em que as cargas residuais atmosféricas que são produtos químicos e partículas são rejeitadas pela precipitação e atingem as massas de água (PGRH, 2012; SEPA, 2014).

A agricultura é uma importante fonte de poluição difusa, em consequência da origem da grande quantidade de nutrientes provenientes deste setor que, por percolação ou erosão, atingem o sistema aquático. Num estudo, apresentado no PGRH (2012) estimou-se a quantidade de azoto e fósforo provenientes da agricultura por concelho, para o ano de 2010 (**Tabela 7**), onde os concelhos de Leiria e Pombal são os maiores emissores destas cargas poluentes.

Tabela 7 - Carga de nutrientes provenientes da agricultura

Concelho	Azoto (kg/ano)	Fósforo (kg/ano)
Batalha	5 263	979
Leiria	96 773	8 941
Marinha Grande	1 772	135
Pombal	75 095	10 201

Adaptado de PGRH, 2012

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Introdução

A utilização intensiva dos recursos hídricos para satisfação das necessidades humanas, e as suas conseqüentes alterações têm levado à introdução de metodologias que visam a sua gestão e conservação.

É neste contexto que é fundamental obter resultados válidos para avaliação e monitorização da qualidade da água, exigida pela legislação nacional e comunitária. Os parâmetros de qualidade abrangem parâmetros físicos, químicos e microbiológicos.

No entanto, tendo em vista as evidências reais de contaminação das águas do rio Lis nas últimas décadas, é essencial diagnosticar os efeitos tóxicos reais no ecossistema, o que não se consegue apenas com a monitorização dos parâmetros mencionados. Como tal, o estudo da ecotoxicidade é um meio bastante útil na identificação de tais efeitos.

3.2. Ecotoxicologia Aquática

A ecotoxicologia aquática é o ramo da ciência que estuda a toxicologia causada por poluentes naturais, ou sintéticos nos constituintes do ecossistema animal, vegetal e microbiano, num contexto integrado (Newman & Hunger, 2003).

A definição de toxicologia geralmente implica compreender o tipo de efeitos causados, pelos agentes químicos e bioquímicos assim como as fontes responsáveis por esses efeitos, a sensibilidade dos diferentes tipos de organismos para certos riscos químicos e a toxicidade relativa dos diferentes produtos químicos e classes químicas (Chapman, 2002).

As atividades humanas associadas a práticas agrícolas inadequadas, à industrialização e outros comportamentos com consequências negativas para o ambiente, levantaram questões preocupantes relacionadas com a competição, predação, perturbação, resiliência e com a riqueza das espécies. Estas transformações devem-se aos efeitos adversos de agentes químicos e outros xenobióticos, que têm impacto nos organismos aquáticos - toxicidade aquática (Chapman, 2002) e impulsionaram o estudo da ecologia aquática.

A temática em questão tem merecido particular importância devido à degradação severa a que tem sido alvo o ambiente aquático resultante do lançamento nas linhas de água de poluentes de caráter tóxico. Uma vez lançado para o sistema hídrico, os compostos tóxicos podem depositar-se nos sedimentos e, conseqüentemente, associarem-se a certas partículas que podem ser remobilizadas para a água provocando impactes nos organismos e nas populações (Hawng *et al.*, 2009). Uma vez que os sedimentos têm a particularidade de acumular compostos orgânicos e inorgânicos, é também importante analisar a toxicidade dos sedimentos para além da toxicidade da água.

A ecotoxicologia, caracterizado como um campo multidisciplinar, pretende identificar e prever os efeitos adversos dos contaminantes no ambiente, e elaborar os meios mais eficientes e eficazes, de modo prevenir ou corrigir quaisquer efeitos nocivos verificados. Assim, a ecotoxicologia é um instrumento de sustentabilidade dos ecossistemas, que inviabiliza a degradação do sistema biótico e restabelece-o para um estado mais saudável (Hellou, 2011).

3.2.1. Estudos Ecotoxicológicos: Bioensaios

Os sistemas aquáticos contêm contaminantes que podem degradar-se por processos abióticos ou bióticos que ocorrem na natureza, e assim alterar a sua composição química ou física bem como o seu comportamento e destino. Contudo, estes processos podem não ocorrer devido à resistência das substâncias, que ao permanecerem longos períodos de tempo nos lençóis de água acumulam-se e tornam o ambiente aquático tóxico (Tallini, 2010).

A realização de testes físico-químicos e ecotoxicológicos são os mais utilizados para a avaliação da contaminação dos recursos hídricos. As análises físico-químicas permitem identificar e quantificar as concentrações das substâncias tóxicas. Contudo, a determinação deste fator não é suficiente para avaliar o risco ambiental dos contaminantes. Os testes ecotoxicológicos avaliam o efeito das substâncias tóxicas no sistema biológico dos organismos aquáticos e as interações entre as substâncias e o meio ambiente. Assim, o mais apropriado é a complementação dos testes físico-químicos com os testes toxicológicos, para a obtenção de resultados mais fiáveis e eficientes (Magalhães & Filho, 2008).

A toxicidade pode ser avaliada por intermédio da realização de testes em laboratório, realizados sob condições experimentais controladas, que avaliam a resposta de alterações específicas, dos organismos-teste num determinado período de tempo. Essas alterações denominadas *endpoints* podem incluir mortalidade, comportamento, estado reprodutivo, operações fisiológicas e bioquímicas. (Hoffman *et. al.*, 2003; Costa *et al.*, 2008).

Os organismos comumente utilizados para a deteção do grau da toxicidade são os peixes, crustáceos, algas e também alguns decompositores como as bactérias.

Em cada teste realizado são medidas as características dos *endpoints* tendo como exemplo, o número de ovos, tamanho e peso, e alterações ao nível enzimático. A alteração que ocorre num *endpoint* representa o efeito de uma substância no sistema.

O objetivo geral de um bioensaio é criar uma curva dose-resposta (**Figura 8**), que fundamenta todas as condições necessárias para uma avaliação de risco. O eixo do x representa a dose (concentração da substância) e o eixo do y corresponde à resposta (*endpoint*) (Salgueiro, 2012).

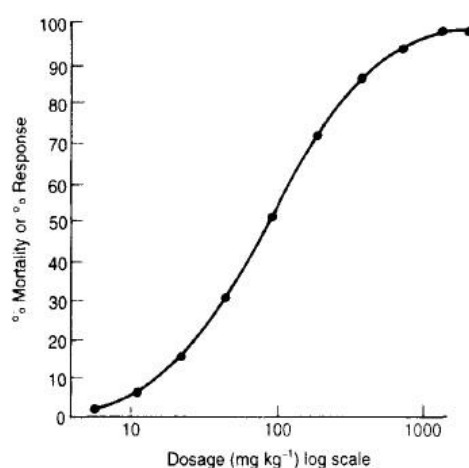


Figura 8 - Exemplo de uma curva dose- resposta de um efluente ou amostra

(Fonte: Salgueiro, 2012)

É fundamental que os testes sejam aplicados de acordo com os critérios específicos da qualidade da água e tipo de contaminação química. Os testes de toxicidade têm a aplicabilidade de determinar as concentrações seguras de agentes químicos utilizados no tratamento de efluentes, antes destes serem lançados no sistema hídrico, de modo a preservar a vida aquática. Os bioensaios permitem classificar a toxicidade de acordo com o tempo de resposta. Estes podem ser classificados como testes de toxicidade aguda ou testes de toxicidade crónica.

3.2.1.1. Toxicidade Aguda

Os testes de toxicidade aguda avaliam a sensibilidade relativa dos organismos aquáticos para determinado agente tóxico, tendo em conta o seu tempo de exposição num intervalo de 0 a 96 horas. Para os invertebrados, o tempo de exposição adequado é de 48 horas e para os peixes de 96 horas (EPA, 2012). Como resultado da exposição podem ser observados efeitos na alteração das características dos organismos que impulsionam a imobilidade ou a letalidade (Rubinger, 2009).

A adoção de testes de toxicidade aguda, por serem de curta duração, suportam menores custos e apresentam maior simplicidade. Porém, não permitem identificar os efeitos subletais, que comprometem as condições normais das funções dos organismos no ecossistema. Estes, apenas são detetáveis em exposições prolongadas, o que não é estipulável para os testes de toxicidade aguda. (Magalhães & Filho, 2008).

3.2.1.2. Toxicidade Crónica

A toxicidade crónica está associada aos efeitos adversos de uma amostra resultantes da exposição dos organismos por longos períodos de tempo, podendo ser semanas, meses ou toda a vida do organismo, a concentrações subletais (Ferreira, 2003).

Com base na realização de testes de toxicidade crónica é possível determinar estatisticamente níveis de concentração máxima do agente tóxico para os quais não são observados efeitos adversos (CENO- Concentração de Efeito Não Observado), ou seja, para maior concentração do poluente tóxico não é observado um efeito deletério estatisticamente significativo, na sobrevivência e reprodução dos organismos teste, durante pelo menos sete dias de exposição. Contudo também se pode determinar os níveis de concentração mínima para os quais se observam efeitos adversos (CEO- Concentração de Efeito Observado) (Bianchi *et al.*, 2010; Salgueiro, 2012).

Para a realização de bioensaios de toxicidade crónica deve ter-se em consideração os objetivos do teste, a necessidade dos organismos-teste, as propriedades físico-químicas do composto a testar e os fatores económicos (Salgueiro, 2012).

3.2.1.3. Organismos Teste

Quando se procede à seleção e utilização das espécies nos testes ecotoxicológicos, devem ter-se em conta alguns critérios importantes, nomeadamente: a sua sensibilidade, a distribuição e abundância geográfica, e o custo de execução do ensaio. As espécies devem ser representativas da zona de ocorrência do impacto, ser de fácil cultivo e manuseamento em laboratório, ter necessidades abióticas próximas das condições normalmente encontradas no local de estudo e ter uma importância e relevância ecológica para o estudo em questão. É fundamental ter um conhecimento detalhado da fisiologia, genética e comportamento da

espécie, para auxiliar na interpretação dos resultados dos testes (Market *et al.*, 2003; Eaton *et al.*, 2005).

Recomenda-se que as espécies a utilizar nos testes devam ser representativas e de diferentes níveis tróficos (**Tabela 8**), com diferentes sensibilidades, pois têm influência no resultado final, na medida em que permitem compreender a nocividade do agente químico, como e onde se manifesta no ecossistema, tornando a avaliação mais eficaz. Desta forma, é importante ter também o conhecimento destes fatores para a escolha do organismo-teste (Market *et al.*, 2003; Magalhães & Filho, 2008).

Os critérios acima mencionados estão englobados num conjunto de condições rigorosamente reguladas que foram desenvolvidas por várias entidades (ISO “*International Organization for Standardization*”, EPA “*Environmental Protection Agency*”) com o intuito de padronizar as diretrizes/regulamentos dos testes ecotoxicológicos e os métodos de avaliação em laboratório.

Tabela 8 - Exemplo das principais espécies representativas de determinados níveis tróficos utilizados em testes toxicológicos

Nível Trófico	Espécies
Consumidores Secundários	Peixes, ex: <i>Danio rerio</i> , <i>Pimephales promelas</i> , <i>Brachydanio rerio</i>
Consumidores Primários	Crustáceos e microcrustáceos ex: <i>Daphnia magna</i> , <i>Daphnia similis</i> , <i>Cerodaphnia dubia</i>
Produtores Primários	Algas, ex: <i>Scenedesmus obliquus</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>
Decompositores	Bactérias, ex: <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Salmonella thypimurium</i>

Adaptado de Market *et al.*, 2003

- Consumidores Secundários

Os peixes, considerados consumidores secundários, uma vez que se alimentam de espécies consideradas consumidoras primárias, são organismos muito utilizados em testes toxicológicos. A sua facilidade de cultivo em laboratório promove uma fácil observação nas alterações das características conferidas a estas espécies, o que permite evidenciar a contaminação decorrente no meio aquático. Este tipo de espécies é um bom indicador biológico (Jamil, 2001; Rubinger, 2009), pelo facto de ser um dos alimentos ingeridos pelo ser humano e uma possível contaminação pode tornar-se perigosa à saúde humana. O peixe zebra *Danio rerio* é amplamente utilizado em testes de toxicidade, especialmente os embriões.

No rio Huangpu na China foram realizados testes de toxicidade da água superficial e verificou-se o aumento da taxa de letalidade e anomalias fisiológicas dos embriões do peixe zebra (Arndt *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2015) estudaram a toxicidade aguda de três complexos de manganés Mn (III) em peixes *Danio rerio* adultos, e observaram danificações nos tecidos cerebrais.

- Consumidores Primários

Fazem parte deste conjunto de consumidores os crustáceos, que são a fonte de alimentação dos peixes e podem existir em meios aquáticos de água doce ou salgada. Estes têm a particularidade de produzirem organismos geneticamente idênticos através da reprodução assexuada por partenogênese, garantindo organismos-teste com sensibilidade constante. Para além disso, apresentam facilidade de cultivo em laboratório e um ciclo de vida curto, que permite que a realização do teste seja mais rápida uma vez que a resposta será dada num período de tempo curto (Rubinger, 2009). O microcrustáceo *Daphnia magna* é um organismo amplamente utilizado em testes de toxicidade aguda e crónica no estudo do efeito de nanopartículas metálicas no sistema aquático, em virtude das aplicações da substância em navios e plataformas de petróleo offshore, como é o caso das nanopartículas de óxido de cobre (CuONPs) (Rossetto *et al.*, 2014).

- Produtores Primários

As algas são a base do ciclo de vida de um ambiente aquático. A alteração no desempenho e funcionamento da sua comunidade leva à perturbação dos restantes níveis tróficos, logo estas são um bioindicador relevante para os testes toxicológicos. A fácil observação do seu desenvolvimento é um dos indicadores biológicos observados nos testes (Rubinger, 2009). Foram realizados testes de toxicidade com a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* para determinar, a diferentes concentrações, o efeito tóxico de nanopartículas de prata (AgNPs) e do nitrato de prata (AgNO₃) na biota aquática. Ribeiro *et al.* (2014) conclui que para concentrações diferentes, o efeito tóxico das substâncias varia de acordo com a taxa de inibição de crescimento do organismo.

- Decompositores

A infiltração e implantação de bactérias em diferentes tecidos e órgãos de peixes podem dar informação da poluição exercida sobre os ambientes aquáticos, em termos de condições bacteriológicas da água. A utilização de bactérias como organismo-teste tem vindo a aumentar, pelo facto de serem uma parte integral do ecossistema e os ensaios realizados serem relativamente rápidos e simples. Os testes toxicológicos com bactérias compreendem a observação do crescimento populacional, respiração, consumo de substrato, e ensaios de luminescência do ATP (adenosina trifosfato) e de inibição da bioluminescência. A bactéria marinha gram-negativa *Vibrio fischeri* formalmente conhecida como *Photobacterium phosphoreum* é dos organismos-teste amplamente utilizados nos ensaios de inibição de bioluminescência nos testes de toxicidade aguda (Guzmán *et al.*, 2004; Parvez *et al.*, 2006), devido ao reconhecimento a nível internacional que abrange a Convenção de Proteção do Noroeste Atlântico de Oslo e Paris, a agência de proteção ambiental italiana e à padronização pela norma ISO 11348:2007 (Libralato *et al.*, 2010).

Este tipo de bactérias pode desenvolver-se num órgão especial dos peixes ou viverem como saprófitas - obtém os nutrientes a partir de tecidos mortos, em peixes mortos (Madigan *et al.*, 2004).

O mecanismo bioquímico de luminescência na bactéria *Vibrio fischeri* tem como princípio base a catálise e oxidação de um composto orgânico, luciferina, por intermédio da enzima luciferase (equação 1).



Onde ocorre a oxidação do mononucleótido de flavina reduzida (FMNH₂) e do aldeído alifático de cadeia longa (RCHO) na presença de oxigénio (O₂) e da enzima luciferase, resultando como produtos o ácido carboxílico (RCOOH), o mononucleótido de flavina oxidado (FMN), água (H₂O) e emissão de luz visível de comprimento de onda de 490 nm (Hurst *et al.*, 2002).

O processo de bioluminescência nos organismos tem outras particularidades, tais como mecanismos de defesa dos predadores, ataque ou comunicação entre espécies, tendo um significado ecológico fundamental (Nunes & Duran, 2003).

O ensaio com a bactéria *Vibrio fischeri* é realizado num equipamento, denominado de Microtox® que analisa a taxa de inibição de luminescência da bactéria marinha liofilizada, num intervalo máximo de 30 minutos de exposição. Este sistema é bastante utilizado em testes de toxicidade aguda, pelo facto dos materiais e métodos estarem sob condições padronizadas, para além da sua utilização conferir características de resposta rápida, acessibilidade na execução e baixos custos (Hurst *et al.*, 2002; Costa *et al.*, 2008).

A poluição da água do rio Lis reflete-se maioritariamente em contaminação de matéria orgânica e nutrientes. A intensa atividade agropecuária que se desenvolve um pouco por toda a bacia contribui para a ampla degradação ao longo do rio Lis com poluentes desta natureza. A dissolução de matéria orgânica e nutrientes promove a alteração da composição do fitoplâncton e favorece a ocorrência crónica de algas prejudiciais e tóxicas, entre outras espécies, no meio aquático.

Silva (2012) realizou estudos ecotoxicológicos num curso de água com características semelhantes à bacia do rio Lis em termos de poluentes orgânicos e inorgânicos e detetou toxicidade aguda com a bactéria *Vibrio Fischeri*, para teores de azoto amoniacal na gama dos 1-29 mg/L, no período de junho de 2011 a março de 2012, sendo o valor mais elevado registado no mês de junho. Os nitratos, nitritos e ortofosfatos também apresentaram valores elevados no mês de junho e mais baixos no mês de março. Apesar da quantidade excessiva de nutrientes ter sido identificada no período seco, a bactéria apresentou maior sensibilidade para amostras de águas superficiais provenientes do período húmido, tal também foi verificado por Palma *et al.*(2008) no rio Guadiana, no Alentejo. A ocorrência de alteração de sensibilidade da bactéria pode estar associada à distribuição preferencial do organismo, em águas de climas temperados e sub-tropicais (Gomes, *et al* 2006).

3.3. Evolução da Qualidade da Água do Rio Lis

Entre 2003 e 2006, Vieira (2007) realizou um estudo da qualidade da água em vários pontos do rio Lis e seus afluentes. O presente estudo concluiu que a bacia hidrográfica do Lis apresentava problemas graves de contaminação em termos de matéria orgânica: Carência Química de Oxigénio (CQO) na gama 2,5-82 mg/L e Carência Bioquímicas de Oxigénio (CBO₅) na gama 5,5-51 mg/L. Foram também identificados problemas em termos de nutrientes e contaminação fecal, com os coliformes fecais a assumirem valores muito acima do admissível. Os estreptococos fecais chegaram a atingir valores na gama dos $1,3 \times 10^1$ - $3,5 \times 10^5$ ufc/100mL.

Dados mais recentes de qualidade dos recursos hídricos foram obtidos por consulta do SNIRH, na estação de Monte Real, a qual abrange a área de estudo, publica periodicamente dados de qualidade dos recursos hídricos. No período de 2011 e 2012 registaram-se valores de qualidade má ao nível de CQO e muito má para Fósforo na bacia hidrográfica do rio Lis (**Tabela 9**). No ano de 2013, em termos de resultados de matéria microbiológica registou-se um nível de qualidade razoável da água: Coliformes Totais (CT) e Coliformes Fecais (CF) com valores máximos na ordem dos $1,1 \times 10^4$ ufc/100mL e $7,9 \times 10^3$, respetivamente. Relativamente à CBO₅ no ano de 2013, em que se registou a análise do parâmetro, a água do rio apresentou um estado de qualidade muito má.

A **Tabela 9** apresenta os valores máximos e mínimos anuais, obtidos pela análise dos resultados, no período de 2011-2013, disponibilizados pelo SNIRH na bacia do rio Lis em determinadas estações seleccionadas – Amor, Batalha, Liz-Foz, Colmeias, Ponte da Bajanca, Ponte de Arrabalde, Fontes, Ponte da Carreira, Entrada do Estuário, Monte Real, Milagres, Casal Mil-homens, Porto de Mós, Caniço e Ponte da Chãs.

Tabela 9 - Resultados e respetivos parâmetros analisados referentes à bacia hidrográfica do rio Lis no período de 2011-2013.

Parâmetros	Objetivo Ambiental fixado no DL 238/96	2011		2012		2013	
		Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Azoto total de Kjeldahl (mgN/L)	2	0,5	4,9	0,5	14	-	-
CBO₅ (mgO ₂ /L)	5	-	-	-	-	3	24
CQO (mgO ₂ /L)	-	10	270	10	280	10	81
CT (ufc/100mL)	-	-	-	-	-	100	11 000
CF (ufc/100mL)	-	-	-	-	-	0	7 900
Fósforo (mgP/L)	1	0,2	3,1	0,1	2,6	0,1	1,7

Adaptado SNIRH, 2015

A poluição da bacia hidrográfica do rio Lis é um tema bem conhecido e exposto pela comunicação social, a nível regional e nacional. A degradação do rio Lis tem impactes que condicionam o desenvolvimento adequado da fauna e da flora ribeirinha bem como a qualidade de vida da população que usufrui das águas do rio.

Os casos de poluição remontam à década de 70 quando no XII Concurso Internacional de Pesca Desportiva de Leiria, foi manifestado o desagrado pela facto do rio se encontrar poluído. Posteriormente na década de 80, mais precisamente em junho de 1986, a organização viu-se obrigada a cancelar o concurso de pesca desportiva por se verificar o agravamento da poluição entre a zona de Leiria e Monte Real, que foi tal, que levou à morte de milhares de peixes (Ferreira, 2012).

Apesar dos alertas, a degradação da qualidade da água na bacia veio a agravar-se com o desenvolvimento do setor suinícola, com particular incidência na Ribeira dos Milagres, cujo efeito se fazia notar na privação de atividades de lazer, recreio e pesca, bem como no uso da água para a agricultura.

Em 2002 a negligência e a incapacidade do poder político para a resolução da poluição do rio foi notória, quando a cidade de Leiria ficou sem água na rede, devido a uma elevada concentração de matéria orgânica na nascente do Lis.

A poluição e degradação da qualidade da água no rio Lis suscitou interesse por parte de várias entidades, sendo a OIKOS (Associação de Defesa do Ambiente e do Património da Região de Leiria) uma das entidades mais ativas no intuito de resolver questões de proteção ambiental. A OIKOS foi criada em 1990 com um projeto de monitorização da qualidade da água da bacia hidrográfica do Lis, identificando nessa altura “níveis de contaminação fecal bastante acima dos limites legais” nas ribeiras do Sirol, Milagres e no rio Lis, na ponte de Arrabalde (Silva, 2009).

Todo o trabalho realizado em prol desta temática permitiu concluir que “muito do que estava mal está efetivamente melhor”, sendo que ainda é necessário percorrer um longo caminho para a completa despoluição dos afluentes da bacia (Amaro, 2012). Ainda recentemente, em 2013, o rio Lis sofreu um derrame da substância ECR2 usada no fabrico de alcatrão, que deixou a margem do rio, junto aos estaleiros de São Romão, com uma cor esteticamente desagradável (Pinto, 2013).

Embora as instituições venham procurando soluções para pôr fim à poluição, é necessário conscientizar a população para a necessidade de preservação do rio Lis, bem como disponibilizar informação sobre a sua recorrente degradação através de campanhas de sensibilização.

São notórias as melhorias verificadas, apesar de ainda ser possível constatar debilidades a diversos níveis que devem ser corrigidas por forma a tornar a qualidade da água da Bacia Hidrográfica do Rio Lis adequada para os diversos fins e utilizações, e em conformidade com os padrões de exigência para um bom estado ecológico (DQA, Decreto-Lei n.º 77/2006, de 30 de março).

4. Material e Métodos

4.1. Área de Estudo

A área escolhida para realizar a avaliação da qualidade da água do rio Lis foi o troço localizado na freguesia de Monte Real. Esta freguesia pertence ao concelho de Leiria, está compreendida por uma área de 12,23 km², possui 2 936 habitantes e densidade populacional de 240,1 hab/km² (INE, 2011). Localizada no centro do país, 17 km a Noroeste da sede do concelho e do distrito, Monte Real é envolvida por uma vasta área de pinheiros e eucaliptos.

As atividades económicas inserem-se no âmbito da hotelaria termal, do comércio, da Base Aérea n.º 5, da agricultura, dos serviços e do turismo. Relativamente ao setor industrial são abrangidas as áreas de madeiras, mobiliário e construção. Entre os locais de interesse turístico citam-se as conhecidas termas de Monte Real, bem como a própria natureza, nomeadamente o pinhal de Leiria, que tão bem caracteriza a região (Alves, 1955; Silva & Gomes, 2004; Guerra, 2014). O local escolhido situa-se ainda num troço habitualmente usado para pesca desportiva.

O aproveitamento da água do rio Lis é um fator em desenvolvimento para Monte Real, portanto a sua análise é fundamental, no que diz respeito à garantia da qualidade do sistema aquático para suas diversas utilidades.

A recolha de amostra foi efetuada na ponte Metálica, por se considerar um local representativo no estudo das alterações significativas e, principalmente por se encontrar nas proximidades da confluência de algumas linhas de água que se encontram referenciadas como as principais causadoras da má qualidade da água. Ainda assim, o local é caracterizado por uma ampla diversidade de espécies das quais se destacam: Perdiz-Vermelho, Galinha da água,

Garça Real, Carpa Comum. Garça Branca-Pequena, Lontra, Perca-Sol, Tainhas Lampreia, Pombo-Torcaz, Esturninho Malhado e Preto.

4.2. Métodos Analíticos

As campanhas de amostragem foram realizadas no rio Lis, na estação Ponte Metálica em Monte Real, coordenadas 39°51'09 de latitude e 8°51'09 de longitude. Foram efetuadas três campanhas no ano de 2014, com a seguinte cronologia: 11 de junho, 14 de julho e 3 de setembro, com a colheita das amostras efetuadas sempre no período da manhã (10h-10h20). A **Figura 9** ilustra o local onde foram realizadas as colheitas.



Figura 9 - Local da recolha das amostras

A amostra foi colhida recorrendo a um balde de plástico atado a uma corda de *nylon*, e posteriormente transferida para frascos e garrações devidamente enxaguados com a própria amostra. Para os parâmetros microbiológicos, a recolha foi efetuada diretamente a partir da margem do rio com um frasco devidamente esterilizado. Os recipientes foram adequadamente armazenados (mala térmica) e transportados para o laboratório. No laboratório, as amostras foram preservadas e os parâmetros físico-químicos analisados de acordo com as metodologias descritas no *Standard Methods* (1998) para os diferentes parâmetros.

No local foram medidos determinados parâmetros da qualidade da água recorrendo à sonda multiparamétrica e aparelho portátil Hanna HI 9 828, devidamente calibrado: pH, temperatura (T, em °C), condutividade (C, em $\mu\text{s}/\text{cm}$), oxigénio dissolvido (OD, em mgO_2/L) e potencial de oxidação-redução (ORP, em mV).

No laboratório, foram determinados: Sólidos Suspensos Totais (SST, mg/L), Carência Bioquímica de Oxigênio (CBO₅, mgO₂/L), Carência Química de Oxigênio (CQO, mgO₂/L), fósforo total (P-total, mgP/L), fósforo solúvel (P-solúvel, mgP/L), oxidabilidade ao permanganato (Ox-MnO₄, mgO₂/L), Coliformes Totais (CT, ufc/100mL), Coliformes Fecais (CF, ufc/100mL), metais totais (mg/L), como zinco (Zn), ferro (Fe), cobre (Cu), cádmio (Cd), chumbo (Pb), níquel (Ni), crômio (Cr) e arsênio (Ar). A análise das amostras foi efetuada em duplicado para os parâmetros SST, CQO, CBO₅, Oxidabilidade, P_{total}, CF, CT e metais. Todo o material utilizado nas análises foi sujeito a um pré-tratamento de acordo com o descrito no respectivo método analítico. Foram ainda realizados ensaios de ecotoxicidade aguda, para a amostra recolhida na campanha de 3 de setembro, usando como organismo-teste a bactéria *Vibrio fischeri*.

A concentração de SST foi determinada por gravimetria após filtração (filtro *Reeve Angel, grade 403*, devidamente preparado), e secagem na estufa a 103-105°C, durante 2 horas – método 2540B (Standards Methods, 1998).

A CBO₅ foi determinada através da quantificação de consumo de oxigênio dissolvido durante 5 dias de incubação, a 20°C e ao abrigo da luz – método 5210B (Standards Methods, 1998).

A CQO foi determinada por oxidação com solução de dicromato de potássio 0,25 N, em meio ácido, a 1510°C durante 2 horas, em refluxo aberto, seguida de titulação do dicromato residual com uma solução padrão de FAS (sulfato ferroso amoniacal) – Método de digestão com dicromato em refluxo aberto - 5220B (Standards Methods, 1998).

O teor fósforo total foi determinado por digestão ácida com ácido nítrico (14,4 M) e ácido sulfúrico (185,4 M) e, conseqüente medição de ortofosfato pelo método colorimétrico do ácido ascórbico - Método 4500-P E (Standards Methods, 1998). O fósforo solúvel foi também determinado pelo método colorimétrico, após filtração da amostra (filtro *Reeve Angel, grade 403*).

A determinação da oxidabilidade ao permanganato foi efetuada por meio de uma digestão em meio ácido seguida de titulação do permanganato residual com uma solução de ácido oxálico - método NP 731:1961.

O teor dos metais, zinco, ferro, cobre e crómio foi obtido por espectrometria de absorção atômica com chama, após digestão com ácido nítrico (14,4 M) e ácido sulfúrico (185,4 M) – método 3030 E (Standard Methods, 1998) e subsequente filtração (membrana de acetato de celulose, porosidade 0,45µm).

Na determinação de cádmio, chumbo, níquel e arsénio foi seguida a mesma metodologia, mas a determinação foi realizada por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (câmara de grafite) (**Figura 10**).



Figura 10 - Câmara de Absorção Atômica com atomização eletrométrica

No **Anexo I** são apresentadas as curvas de calibração referentes aos metais determinados.

A deteção e quantificação dos parâmetros microbiológicos (CT e CF) foi obtida pelo método de filtração por membrana, baseado na utilização de uma membrana filtrante de nitrato de celulose com porosidade de 0,45 µm e a respetiva incubação em meios específicos de cultura. No método de fermentação (teste presuntivo), utilizou-se como meio de cultura placa *Chapman* TTC a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ durante $24 \pm 1\text{h}$ para deteção de coliformes totais. Para o teste de confirmação e quantificação de coliformes fecais e *E.Coli* recorreu-se a placas de agar de *Levine* EMB a 35°C durante 24 horas e tubos com meio EC e incubação a $44,5^\circ\text{C}$ durante

24 horas. O procedimento foi modificado com base nos métodos, 9221E e 9221B com as adaptações do *Standard Methods* (Standards Methods, 1998).

Relativamente aos testes de ecotoxicidade com a *Vibrio Fischeri*, estes foram realizados no equipamento Microtox® (**Figura 11**). As bactérias utilizadas apresentavam-se liofilizadas e foram reidratadas com água ultrapura (reconstituição). Utilizaram-se soluções salinas de NaCl a 22% (m/m) para ajuste osmótico e NaCl a 2% como solução diluente. Não foi necessário ajustar o pH da amostra, pois este encontrava-se entre 6 e 8 (Azur, 1998). Os testes decorreram a temperatura controlada, a 15°C. Foi utilizado um *Basic Test*, que avalia a percentagem de inibição das bactérias perante diferentes concentrações de amostra. Inicialmente testaram-se concentrações compreendidas entre 5 e 45% e tempos de contacto de 5 e 15 minutos. Posteriormente testaram-se concentrações de amostra mais elevadas (1-81%) e o efeito inibitório foi avaliado em tempos de contacto de 5, 15 e 30 minutos.



Figura 11 – Equipamento Microtox®, utilizado para a medição da luminescência da bactéria *Vibrio fischeri*

Na **Tabela 10** estão identificados os parâmetros determinados em laboratório, o equipamento utilizado e o respetivo método analítico.

Tabela 10 - Parâmetros analíticos de qualidade da água determinados em laboratório

Parâmetros	Equipamentos	Método Analítico
SST	Estufa Heraeus modelo D-6450 Hanau; Balança analítica, Mettler Toledo AB204-S	Método da Secagem a 103-105°C e Pesagem
CBO ₅	Medidor de oxigénio Dissolved oxygen Meter modelo 5000; Estufa Digit Heat, P select	Método das diluições, 5 dias

Tabela 10 - Parâmetros analíticos de qualidade da água determinados em laboratório

Parâmetros	Equipamentos	Método Analítico
CQO	Bureta de 25 mL ($\pm 0,03$) Digestor: Bloc digest J.P selecta	Método de Digestão com Dicromato de Potássio em refluxo aberto
P-Total	Espectrofotómetro Varian-Cary 50 conc UV-visible;	Espectrometria de absorção Atômica Molecular
P-solúvel	Espectrofotómetro VARIAN-Cary 50 conc UV-visible.	Filtração e Método Colorimétrico e Espectrometria de absorção Atômica Molecular
Ox-MnO ₄	Bureta de 25 mL ($\pm 0,03$) e placa de aquecimento P-selecta Agimetic-N	Oxidação com KMnO ₄ e Volumetria
Zn, Fe, Cr, Pb e Cu	Espectrómetro de absorção atômica VARIAN- spectrAA 55B	Digestão e Espectrometria de absorção Atômica com chama
Cd, Pb, Ni e As	Espectrómetro de absorção atômica câmara de grafite GBC SensAA Dual modelo PAL 3000	Digestão e Espectrometria de absorção Atômica com chama- Câmara de Grafite
Coliformes (CT e CF)	Estufa incubadora Memmert IPP400 e Binder IP20	Filtração em membrana e incubação em meio seletivo
Toxicidade Aguda	Analisador de toxicidade Microtox®	Teste da bactéria luminescente <i>Vibrio fischeri</i> luminescente

5. Apresentação e Discussão de Resultados

A **Tabela 11** apresenta os resultados dos parâmetros físico-químicos medidos no local de amostragem, nas três campanhas de monitorização. Os valores obtidos de pH não evidenciam distúrbios ao nível da qualidade da água para os diversos fins estabelecidos pelo Decreto-Lei n.º236/98, de 1 de agosto, com valores próximos da neutralidade (7,74-8,23). A condutividade é a capacidade da água de conduzir corrente elétrica através de compostos iónicos presentes na água, podendo ser influenciada pela quantidade de iões dissolvidos e temperatura. Os valores de condutividade obtidos variam entre 432 e 831 $\mu\text{s}/\text{cm}$, sendo que os valores mais elevados registaram-se nas duas últimas campanhas (707 e 831 $\mu\text{s}/\text{cm}$), no verão acentuado, num período seco, o valor obtido na última campanha pode estar relacionado com a falta de precipitação, com evidente diminuição de caudal, que provoca um menor efeito de diluição e conseqüentemente aumento da concentração de sais na água. Contudo, o valor registado na 1ª campanha viabiliza a utilização da água em terrenos agrícolas (Boaventura, 2000).

No que diz respeito ao OD, na 1ª campanha registaram-se valores muito baixos (inferiores a 1,6 mg O₂/L), o que representa menos de 20% de saturação. Estes níveis reduzidos de arejamento da água podem refletir ocorrência de elevada matéria orgânica na água, considerando a influência do afluente, da Ribeira dos Milagres, na introdução destes poluentes a montante, que conduz ao consumo excessivo de oxigénio. Determinados fatores têm influência nociva sobre as espécies aquáticas quando há decaimento de OD, por este motivo é difícil estabelecer uma concentração mínima de OD para o qual a vida piscícola não é afetada. Todavia, valores superiores a 7 mg/L e 5 mg/L, respetivamente para águas de salmonídeos e ciprinídeos. Valores inferiores a 5 mg/L inviabilizam ainda a vida piscícola no rio. Na 2ª e 3ª campanha, de acordo com a Diretiva Quadro da Água (DQA), os valores asseguram que o local de amostragem apresenta um Bom Estado Ecológico (≥ 5 mg O₂/L) e uma boa oxigenação. Em relação ao potencial de oxidação-redução, os valores obtidos

indicam que o meio hídrico é oxidante. Os resultados apresentam pouca variabilidade na 1ª e 2ª campanha, no entanto, na 3ª campanha, os valores foram mais reduzidos.

Os valores de temperatura não apresentam variações significativas, com valores máximos registados na 3ª campanha (período seco). Na 1ª campanha o registo dos valores de temperatura foi impossibilitado por limitações técnicas do equipamento.

Uma boa mistura e variabilidade de massa de água são fatores importantes para a avaliação da qualidade da água, razão pela qual os valores medidos no local de amostragem serem referentes ao leito do rio e não à margem onde se verifica pouca profundidade e maior retenção de sedimentos e vegetação.

Tabela 11 - Resultados de parâmetros medidos no local de amostragem.

Parâmetros	Campanhas		
	1 (junho)	2 (julho)	3 (setembro)
pH	8,23	7,95	7,74
Condutividade (µs/cm)	432	707	831
OD (mgO₂/L)	1,56	5,10	5,45
ORP	177,5	138,6	67,8
T (°C)	-	20,71	21,90

Os parâmetros analisados em laboratório para as campanhas realizadas são apresentados na **Tabela 12**.

Tabela 12 - Resultados dos parâmetros analisados em laboratório (± desvio absoluto, em relação a média).

Parâmetros	Campanhas		
	1 (junho)	2 (julho)	3 (setembro)
SST (mg/L)	*	15±6	13±3
CBO₅ (mgO₂/L)	<2,0	<2,0	2,5±0,2
CQO (mgO₂/L)	13,2±0,05	*	*
Oxi-KMnO₄ (mgO₂/L)	*	3,4 ±0,2	3,9±0,01
P-total (mgP/L)	0,414±0,004	0,528±0,003	0,35±0,06
P-solúvel (mgP/L)	0,155±0,003	0,099±0,004	0,095±0,001

Tabela 12 - Resultados de parâmetros analisados em laboratório (\pm desvio absoluto, em relação a média).

Parâmetros	Campanhas		
	1 (junho)	2 (julho)	3 (setembro)
CT (ufc/100mL)	*	$1,3 (\pm 0,03) \times 10^4$	$4,5 (\pm 9,8) \times 10^4$
CF (ufc/100mL)	*	$3,0 (\pm 1,0) \times 10^3$	$4,3 (\pm 2,9) \times 10^2$
Cu (mgCu/L)	<0,2	<0,2	<0,2
Zn (mgZn/L)	<0,2	<0,2	<0,2
Fe (mgFe/L)	<0,2	<0,2	$0,39 \pm 0,02$
Cr (mgCr/L)	<0,05	<0,05	<0,05
Pb (μ gPb/L)	<10	12 ± 3	12 ± 7
Cd (μ gCd/L)	<3	<3	<3
As (μ gAs/L)	<6	<6	<6
Ni (μ gNi/L)	<20	<20	<20

* Por limitações técnicas não foi possível obter o resultado.

Os valores de SST foram determinados na 2ª e 3ª campanha, e são relativamente próximos, sendo que a concentração mais elevada de material em suspensão verificou-se na 2ª campanha (15,0 mg/L). Nos momentos da colheita das amostras observou-se efetivamente uma água turva e a presença de partículas em suspensão na água do rio (**Figura 9**).

Atendendo ao histórico da poluição hídrica do local determinou-se a CQO, com valor obtido de 13,2mg/L na 1ª campanha. Para as restantes campanhas, os valores não foram quantificáveis, tal facto é justificado pela baixa poluição da água em matéria orgânica. No entanto, procedeu-se à determinação da oxibilidade e CBO5.

As concentrações de Oxi-KMnO₄ apresentam uma variação mínima, da 2ª para a 3ª campanha (3,6-3,8 mg O₂/L), dentro dos limites consideráveis que determinam uma classificação de rio de “Boa” qualidade (entre 3-5 mg/l), em conformidade com o SNIRH (2015).

Relativamente à CBO₅, a concentração mais elevada regista-se na 3ª campanha, sendo que está na gama dos valores aceitáveis na classificação de águas de rio em Bom Estado Ecológico (CBO₅ ≤ 6 mg O₂/L). A análise histórica das concentrações medidas deste poluente na estação de Monte Real, por Vieira (2007) revela resultados superiores (4,3-12,3 mg/L) no

período de 2007, o que sugere uma melhoria considerável na qualidade da água no ponto de amostragem.

Dados disponibilizados pelo SNIRH para a estação de Monte Real no ano de 2013 revelam valores de CQO na gama dos 10-29 mg/L, que viabilizam a irrigação e existência de determinadas espécies de peixes e demais utilizações. Analisando o valor de CQO obtido (13,2 mg/L), através da classificação dos cursos de água superficiais do SNIRH (2015), o parâmetro apresenta uma “Boa” qualidade da água (classe B). Verificou-se uma melhoria significativa a nível de contaminação orgânica desde 2011 (em 2010, 45 mg/L; 2011, 80 mg/L).

O fósforo é essencial no crescimento e reprodução celular. Porém, quando se apresenta em excesso no sistema aquático limita a produtividade biológica contribuindo para o processo de eutrofização (Aurora, 2007). Considerando o Decreto-Lei n.º236/98 de 1 de agosto, os valores de fósforo total determinados (0,35-0,53 mgP/L) encontram-se na gama admissível de qualidade mínima para as águas superficiais. Contudo, dados do SNIRH consideram que valores superiores a 0,25 mg/L classificam a água em razoável (classe C). O ortofostato é a única forma de fósforo assimilada pelos seres autotróficos. Elevados níveis de consumo de ortofostato implicam elevado consumo de oxigénio que induz o sistema a condições de anaerobiose (Correll, 1998). O resultado obtido para o fósforo solúvel é pouco variável nas três campanhas, sendo que na 1ª campanha obteve-se o resultado mais elevado (0,16 mgP/L), o que demonstra uma possível existência de condições redutoras de oxigénio no ecossistema, tal pode ser constatado pelo valor de OD medido no local (1,56mg/L).

A avaliação microbiológica da qualidade da água foi baseada na determinação dos coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF). Os resultados obtidos revelaram contaminação microbiológica, de acordo com a legislação vigente (DL 236/98), para bactérias do grupo de CF ($4,5 \times 10^3$ - $4,33 \times 10^2$ ufc/100mL) acima do valor máximo recomendável, no que diz respeito à qualidade da água para fins balneares (100 ufc/100mL) e fins destinados à rega (100 ufc/100mL). No entanto, verifica-se um decréscimo acentuado de CT e CF comparativamente aos resultados máximos obtidos, $1,3 \times 10^6$ e $1,4 \times 10^5$ respetivamente, na análise da água na ponte metálica efetuada por Vieira (2007).

A contaminação das linhas de água por metais pesados é uma situação preocupante, na medida em que o efeito de biodisponibilidade e bioacumulação que os metais têm sobre os organismos tem impacto sobre toda a cadeia alimentar, e consequentemente na saúde pública. O teor de Chumbo obtido nas duas últimas campanhas é pouco significativo (12 µgPb/L), uma vez que o limite de tolerância para o chumbo é de 0,05 mg/L, tanto para a qualidade das águas doces destinadas ao consumo humano como para a qualidade mínima das águas superficiais. A concentração do Ferro, detetada apenas na 3ª campanha, com o valor de 0,4 mgFe/L, não revela preocupações na qualidade da água destinada à rega, em que o valor máximo recomendado é de 0,5 mgFe/L. Nas restantes campanhas os teores de Ferro e Chumbo apresentaram valores abaixo do limite de deteção.

Também foram efetuadas determinações dos teores de Cobre, Zinco, Crómio, Cádmio, Arsénio e Níquel, em que os resultados obtidos foram inferiores ao limite de deteção em todas as amostras. Deste modo, em termos de contaminação metálica a água não apresenta perturbações preocupantes.

5.1. Resultados dos testes de toxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri*

A relação concentração-efeito permite avaliar o risco gerado pelas substâncias químicas presentes numa amostra, e quantificar a toxicidade aguda dessas substâncias, através da exposição de organismos. Para a determinação da ecotoxicidade aguda da amostra colhida em setembro de 2014 foram realizados testes recorrendo ao sistema Microtox®.

Durante a execução dos ensaios realizou-se um teste controlo (branco) de forma a avaliar a intensidade de luminescência antes (I_0) e após (I_k) contacto com o diluente. Os valores obtidos para a razão I_k/I_0 encontram-se no intervalo 0,70 e 1,02, dentro do intervalo de aceitação 0,6-1,3 (Azur,1998).

De acordo com Azur (1998), quando é testada uma determinada gama de concentrações e não se obtém resultados, a amostra não apresenta toxicidade e, a sua concentração deve ser

aumentada e testada novamente. Se a concentração da amostra testada se encontrar na gama dos 81,9% a 100%, esta não apresenta toxicidade.

Começou-se por realizar um teste de ecotoxicidade com a amostra do rio Lis em concentrações de 5, 11, 22, 45%. Para 5 e 15 minutos de contacto houve adaptação da bactéria e não se observou efeito inibitório para as três concentrações mais baixas. O efeito inibitório mais elevado foi obtido para 15 minutos de contacto, para a concentração de 45% e ficou limitado a redução de luminescência de 5%. Foi então decidido recorrer a uma gama de concentrações mais elevada.

No novo teste a percentagem de inibição é baixa e variou pouco, entre 0 e 12%, sendo máxima para a concentração de 81% para um tempo de contacto de 5 minutos (**Anexo II**). Para cada concentração utilizada foi calculado o parâmetro gama (Γ), razão entre a luminescência perdida e a luminescência remanescente (equação 2). H representa a percentagem de efeito inibitório.

$$\Gamma = H/(100-H) \quad (2)$$

A Figura 12 ilustra a resposta obtida (em termos de $\log \Gamma$) em função da concentração (em termos de $\log C$), após uma exposição de 5 minutos. Efetuou-se um ajuste linear a estes resultados, tendo conduzido à expressão que relaciona o $\log \Gamma$ com $\log C$ (equação 3).

$$\log \Gamma = 0,15 (\log C) - 1,2 \quad (3)$$

O ajuste obtido apresentou um coeficiente de correlação R^2 de 0,97, aceitável neste tipo de estudos. O valor do declive obtido foi $0,15 \pm 0,08$ e o valor da ordenada na origem foi de $-1,2 \pm 0,1$ (valores \pm intervalo de confiança 95%).

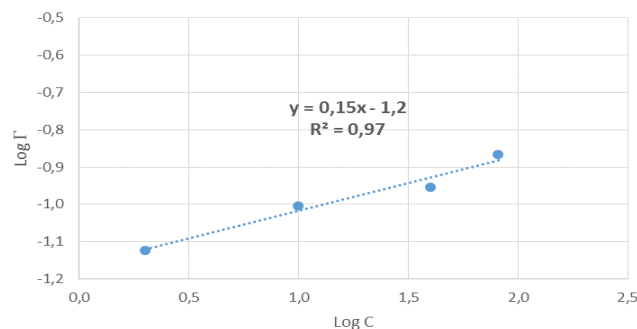


Figura 12 – Relação efeito-concentração

Com base nos resultados obtidos, estimou-se a concentração letal 10% (CE_{10}), ou seja a concentração de amostra que induz a uma perda de luminescência de 10% ($\Gamma = 0,11$). O valor obtido foi de 26%. Se fosse desprezado o ponto relativo à concentração de 10% (ponto que nitidamente se afasta da tendência), o valor de CE_{10} calculado seria relativamente próximo (22%). Salienta-se no entanto que os dados obtidos devem ser encarados com reserva, atendendo ao erro significativo associado aos parâmetros do ajuste. Para além disso, estes resultados foram obtidos com a bactéria *Vibrio fischeri*, podendo diferir para outro tipo de organismos teste.

A partir desta análise verifica-se que a amostra não apresenta grau de toxicidade preocupante, uma vez que os resultados indicam que só ocorre um efeito inibitório de 10% quando a água se encontra a 26%. Extrapolando o ajuste realizado, o efeito inibitório previsto perante a água do rio, no local amostrado (concentração 100%), será de 12%.

Para tempos de contacto de 15 e 30 minutos não se verificou a redução de luminescência, verificando-se até adaptação e estímulo da bactéria (fenómeno conhecido por *Hormesis*). Este fenómeno foi observado para concentrações de 20% e inferiores, para um tempo de exposição de 15 minutos e, para todas as concentrações testadas para um tempo de contacto de 30 minutos. Para 15 minutos de exposição o efeito inibitório máximo foi de 4% e para uma concentração de 81% (**Anexo III**). Gomes (2007) avaliou a ecotoxicidade aguda da água do rio Leça, no qual se registaram valores de toxicidade para diferentes ensaios. O valor CE_{20} mais elevado foi de 82,2% ao fim de 5 minutos de exposição, o que sugere que valores de toxicidade seriam relevantes para uma percentagem de concentração mais baixa. Para períodos de 15 minutos a percentagem de efeito observada na inibição de 20% da luminescência das bactérias, foi de 4,3%.

Nada se pode inferir sobre o efeito climático na qualidade da água e na ecotoxicidade. Contudo, estudos realizados por Silva (2012), no rio Brejo do Cagarrão, e Palma *et al.* (2008), no rio Guadiana, referem maior sensibilidade da bactéria *Vibrio fischeri* em períodos húmidos.

A utilização de testes de toxicidade, no controlo da poluição das linhas de água e tratamento de efluentes, permite identificar possíveis efeitos adversos sobre o ecossistema

aquático de forma prática, económica e eficiente. Desta forma, o estabelecimento de diretrizes, regras e programas padronizados e adaptados à realidade dos recursos hídricos portugueses, seria um instrumento importante em termos de informação e conhecimento da qualidade da água das bacias hídricas nacionais, para suporte na concretização de estudos o âmbito de testes ecotoxicológicos.

6. Conclusões e Sugestões

A análise da qualidade da água no troço do rio Lis estudado permitiu identificar, que ao nível dos parâmetros físico-químicos Sólidos Suspensos Totais (SST), Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO₅), Carência Química de Oxigénio (CQO), Oxidabilidade, Fósforo solúvel e Fósforo Total, a água não apresenta valores de contaminação considerados preocupantes, mediante a avaliação dos limites estabelecidos pelo Decreto-Lei n.º236/98, de 1 de agosto. A qualidade microbiológica da água revelou resultados que permitem classificar a água como inadequada para fins recreativos e rega. Considerando a má qualidade para estes fins, é importante que as entidades responsáveis tomem medidas adequadas por forma a salvaguardar a saúde pública.

Em termos a avaliação da toxicidade aguda recorrendo ao organismo-teste bactéria *Vibrio fischeri*, os resultados obtidos não revelam resposta significativa, o que está de acordo com os baixos valores da concentração dos metais determinados (zinco, ferro, cobre, cádmio, chumbo, níquel, crómio e arsénio). Contudo, a monitorização periódica utilizando a ferramenta ecotoxicológica é essencial, o que permite o controlo de descargas prejudiciais ao ecossistema e contribui para o cumprimento de objetivos de qualidade ecológica das massas de água.

Sugere-se para estudos futuros a realização de uma base de dados com os resultados das análises realizadas no troço do rio Lis correspondente à área abrangida pelo vale do Lis, que possibilite um enquadramento global da evolução temporal deste meio aquático, tendo em conta a dinâmica da fauna e da flora envolvente, do ecossistema aquático, assim como as atividades e campeonatos de pesca desportiva realizados, constituindo um instrumento importante para o desenvolvimento económico, social e ambiental da região de Monte Real.

Seria ainda fundamental a sensibilização da população da própria zona e zonas circundantes, para a valorização deste recurso bem como para o cuidado e controlo do lançamento contínuo de efluentes contaminantes.

A realização deste estudo revela-se importante na medida em que pode servir de incentivo à realização de trabalhos futuros no âmbito da ecotoxicidade nas linhas de água da bacia do rio Lis, uma vez que estão inseridas em zonas de forte atividade agrícola, pecuária e industrial.

7. Referências Bibliográficas

- Alves, O. D. (1955). *Monte Real No Passado E No Presente*. Junta de Turismo de Monte Real (Folheto Informativo).
- Amaro, H. (2012). "Muito do que estava mal" na Bacia Hidrográfica do Lis "está muito melhor". *Diário de Leiria*, 3 de dezembro de 2012.
- Arndt, A., Borella, M. I., & Espósito, B. P. (2013). Toxicity of manganese metalldrugs toward *Danio rerio*. *Chemosphere*, **96**, pp. 46-50.
- Aurora, S. P. (2007). *BIORREMEDIAÇÃO EM ÁGUAS RESIDUAIS: remoção de fosfatos utilizando microalgas *Chlorella vulgaris* imobilizadas em meio de alginato de sódio*, Dissertação de Mestrado, Departamento de Zoologia e Antropologia, Universidade do Porto.
- Azur. (1998). Microtox Acute Toxicity Test. *Azur Environmental*, 1-23.
- Bernet, N., & Béline, F. (2009). Challenges and innovations on biological treatment of livestock effluents. *Biosource Technology*, **100**, pp. 5431–5436.
- Bertoncini, E. I. (2008). Tratamento de Efluentes e reuso da Água no Meio Agrícola. *Revista Tecnologia & inovação Agropecuária*, **1**, 152-169.
- Bianchi, M., Correia, M., Campello, A., & Carneiro, E. (2010). *Importância de Estudos Ecotoxicológicos com Invertebrados do Solo*. Embrapa Agrobiologia - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Consultado a 08.10.2014 em <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/50057/1/DOC266-10.pdf>)
- Boaventura, R. A. (2000). *Indicadores da Qualidade da Água*. Departamento de Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- Chapman, P. M. (2002). Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology. *Marine Pollution Bulletin*, **44**, pp. 7-15.
- Correll, D. L. (1998). The Role of Phosphorus in the Eutrophication of Receiving Waters: A Review, **27**, pp. 261-266.
- Costa, C., Marques, S., & Maurício, S. (2007). *Avaliação da Qualidade microbiológica da água do rio Lis*, Relatório de Projeto, Departamento de Ambiente, Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Leiria.

Curinha, J. V. (2008). *Adição de Produtos Químicos e Ensaio De Electro-Coagulação e Electro-Oxidação para o Pré-tratamento Das Águas Residuais Provenientes Dos Lagares De Produção De Azeite*. Lisboa, Dissertação de Mestrado, Departamento Ciências e Engenharia do Ambiente, Universidade de Lisboa.

D'Arcy, B., & Frost, A. (2001). The role of best management practices in alleviating water quality problems associated with diffuse pollution. *The Science of the Total Environment*, **265**, pp. 359-367.

Deng, L., Li, Y., Chen, Z., Liu, G., & Yang, H. (2014). Separation of swine slurry into different concentration fractions and its influence on biogas fermentation. *Applied Energy*, **114**, pp. 504-511.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 235/97, de 3 de setembro, 1997.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de agosto, 1998.

Diário da República Portuguesa. Despacho Conjunto n.º 626/2000, de 6 de junho, II série, n.º 131 de junho de 2000.

Diário da República Portuguesa. Lei n.º 58/2005, de 29 de dezembro de 2005.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de agosto, 1998.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 77/2006, de 30 de março, 2006.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto, 2007.

Diário da República Portuguesa. Portaria n.º 267/2010, de 16 de abril, 2010.

Eaton, A. D., Clesceri, L. D., Rice, E. W., & Greenberg, A. E. (2005). *Standard Methods For the Examination of water & wastewater*. American Water Works Association. Washington D.C.

EPA. (2012). *Environmental Impact and Benefit Assessment for the Final Effluent Limitation Guidelines and Standards for the Airport Deicing Category*. Washington, DC: U.S Environmental Protection Agency.

Fangueiro, D., Surgy, S., Napier, V., Menaia, J., Vasconcelos, E., & Coutinho, J. (2014). Impact of slurry management strategies on potential leaching of nutrients and pathogens in a sandy soil amended with cattle slurry. *Journal of Environmental Management*, **146**, pp. 198–205.

Ferreira, C. M. (2003). *Testes de Toxicidade Aquática para Monitoramento Ambiental*. São Paulo: Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Peixes Ornamentais- Instituto de Pesca.

Ferreira, J. G. (2012). «“Façam o Milagre!” . Poluição, Media e Protesto Ambiental na Bacia do Lis». *VII Congresso Português de Sociologia*, (p. 7). Universidade do Porto- Faculdade de Letras.

Gomes, A. (2007). *Avaliação da Ecotoxicidade de águas superficiais: Aplicação à Bacia Hidrográfica do Rio Leça*, Dissertação de Mestrado, Universidade do Porto.

Gomez, F., Llyoyd, D., & Scheerer, S. (2006). Bioluminescence of *Vibrio fischeri* in continuous culture: Optimal conditions for stability and intensity of photoemission. *Journal of Microbiological Methods*, **67**, pp. 321-329.

Guerra, F. (2014). Obtido de União de Freguesias de Monte Real & Carvide (consultado em <http://ufmonterrealcarvide.pt/> a 07.01.2015)

Guzmán, M. C., Bistoni, M. d., Tamagnini, L. M., & González, R. D. (2004). Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenysia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. *Water Research*, **38**, pp. 2368-2374.

Hawng, H., Alegre, G. F., Borrelly, S. I., & Flynn, M. N. (2009). Avaliação de Toxicidade em Sedimentos do Rio Juqueri (SP) com *Vibrio Fischeri* e *Hyaella Azteca*. *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, **2**, pp. 18-28.

Hellou, J. (2011). Behavioural ecotoxicology, an "early warning" signal to assess review. *Journal of Environmental Management*, **18**, pp. 1-11.

Hoffman, D., Barnett, A., Rattner, G., Burton, A., & Carirns, J. (2003). *Handbook of Ecotoxicology*. Editions Lewis publisher.

Hranova, R. (2006). *Diffuse Pollution of Water Resources: Principles and case of studies in the Southern African region*. London, UK: Taylor & Francis Group.

Hurst, C. J., Crawford, R. L., Knudsen, G. R., McInerney, M. J., & Stetzenbach, L. D. (2002). *Manual of Environmental Microbiology 3rd Edition*.

INE. (2011). *Censos 2011- Recenseamento geral da população, resultados definitivos Centro*. Instituto Nacional de Estatística.

Jamil, K. (2001). *Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution and Risk Assessment*. Science Publishers Inc.

Jesus, C., & Carvalho, N. (1997). *Bacia Hidrográfica do Rio Lis*. Instituto de Promoção Ambiental.

Lahav, O., Schwartz, Y., Nativ, P., & Gendel, Y. (2013). Sustainable removal of ammonia from anaerobic-lagoon swine waste effluents using an electrochemically-regenerated ion exchange process. *Chemical Engineering Journal*, **218**, pp. 214–222.

Lis, A. d. (2013). Elementos estatísticos da campanha de rega. *Folheto Informativo*.

LNEG. (2014). *LNEG: Investigação para a Sustentabilidade*. Obtido de LNEG: <http://www.lneg.pt> (consultado a 12.11.2014)

Lopes, C. (2014). Estação de efluentes suínícolas em Leiria aguarda aprovação do Proder. *Público*, 17 de setembro 2014, de 1-1.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Jack, P. (2004). *Brock Biología de los Microorganismos 10 Edición*. Pearson.

Magalhães, D., & Filho, A. (2008). A Ecotoxicologia como Ferramenta no Biomonitoramento de Ecossistemas Aquáticos. *Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental*, **3**, 355-381.

- MAM. (2014). *Ministério da Agricultura e do Mar*. Obtido de web site de Governo de Portugal: <http://www.portugal.gov.pt/pt/os-ministerios/ministerio-da-agricultura-e-do-mar/mantenha-se-atualizado/20141203-mam-etar-leiria.aspx> (consultado a 27.09.2014)
- Market, B., Breure, A., & Zechmeister, H. (2003). *Bioindicators and Biomonitors: Principles, concepts and applications*. London: Elsevier.
- Neves, D. (2013). Seminário: "A suinicultura e o Ambiente"- Caso de Estudo. Em *Suinicultura* (pp. 19-21). Federação Portuguesa de associações de suinicultores (Folheto Informativo).
- Newman, M. C., & Hunger, M. A. (2003). *Fundamentals of Ecotoxicology*. Florida: Lewis.
- Nunes, V. d., & Duran, N. L. (2003). Bioluminescent Bacteria: Lux Genes as Environmental Biosensors. *Brazilian Journal of Microbiology*.
- Palma, P., Palma, V., Soares, A., Barbosa, I. R., Matos, C., & Fernandes, R. M. (2008). Acute Toxicity of Atrazine, Endosulfan Sulphate and Chlorpyrifos to *Vibrio fischeri*, *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna*, Relative to their Concentrations in Surface Waters from the Alentejo Region of Portugal. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **81**, pp. 485-489.
- Parvez, Shahid, Venkataraman, C., & Mukherji. (2006). A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. *Environmental International*, **32**, pp. 265-268.
- PDML. (2010). *Caracterização Biofísica Volume 1*. Plano Diretor Municipal de Leiria.
- PGRH. (2012). *Plano de Gestão das Bacias Hidrográficas dos rios Vouga, Mondego e Lis Integradas na Região Hidrográfica 4*. Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território.
- Pinto, M. (2013). Derrame de substância usada no fabrico de alcatrão poluiu Rio Lis. *Diário de Leiria*, 22 de julho de 2013.
- Rossetto, A. L., Melegari, S. P., Ouriques, L., & Matias, W. G. (2014). Comparative evaluation of acute and chronic toxicities of CuO nanoparticles and bulk using *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. *Science of the Total Environment*, **490**, pp. 807-814.
- Rubinger, C. F. (2009). *Seleção de Métodos Biológicos para a Avaliação Toxicológica de Efluentes Industriais*. Belo Horizonte: Dissertação de Mestrado, Departamento do Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Salgueiro, S. (2012). *Estudo da Ecotoxicologia de Afluentes e Efluentes do Sistema de Tratamento Biológico da ETAR de Frielas*. Dissertação de Mestrado. Departamento de Ambiente, Escola Superior de Tecnologia de Setúbal.
- SEPA. (2014). *Empresa: Scottish Environment Protection Agency*. Obtido de Web site de Scottish Environment Protection Agency: <http://www.sepa.org.uk> (consultado a 09.12.2014)
- Silva, A. M. (2009). Problema do Rio lis não está só nos Milagres. *Jornal de Leiria*, 4-5, 12 de outubro de 2010.

Silva, C. S. (2012). *Utilização de Ensaio Ecotoxicológicos na Avaliação de Risco Ambiental Promovido por Pesticidas: caso-estudo Brejo do Cagarrão*. Tese de Mestrado, Departamento de Ambiente, Escola Superior Agrária de Beja.

Silva, V. J., & Gomes, S. A. (2004). *Na rota do Património*. Ferraz & Azevedo, Lda.

SMAS. (2014). Obtido de <http://servicosmunicipalizadosdeaguaesaneamentodeleiria.pai.pt> (consultado a 16 de novembro de 2014).

SNIRH (2015). *Dados Sintetizados da Bacia Hidrográfica do rio Lis*. Obtido em http://snirh.apambiente.pt/index.php?idMain=1&idItem=1.5&idSubtem=ANUARIO_BACIA&bacCOD=278

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1998), APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) e WEF (Water Environment Federation), 20 th ed., eds Greenberg, A.H., Clesceri, L.S. e Eaton, A.D., APHA; Washington, DC.

Tallini, K. (2010). *Metodologia de Avaliação de Risco Ecológico em Ambiente Aquático a partir de Evidências Químicas, Biológicas e Ecotoxicológicas*. Tese de Doutoramento em Ecologia, do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Vieira, J. d. (2007). *Transformações Biogeoquímicas na Bacia Hidrográfica do Rio Lis*. Porto, Dissertação de Doutoramento, Departamento de Engenharia Química, Universidade do Porto.

Vieira, R. M. (2009). *Contribuição para o estudo do tratamento de efluentes da indústria vinícola*. Lisboa: Dissertação de Mestrado, Departamento de Ambiente, Universidade Nova de Lisboa.

Vivan, M., Kunz, A., Stolberg, J., Perdomo, C., & Techio, V. H.(2010). Eficiência da interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, **14**, pp. 320–325.

Zhang, L., Li, q., Chen, L., Zhang, A., He, J., Wen, Z., & Wu, L. (2015). Toxicity of surface water from Huangpu River to luminous bacteria (*Vibrio qinghaiensis* SP.Q67) and zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **112**, pp. 137-143.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Anexos

Anexo I

Curvas de Calibração dos metais determinados61

Anexo II

Resultados obtidos no teste de ecotoxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri* no equipamento Microtox®, para o tempo de contacto de 5 minutos63

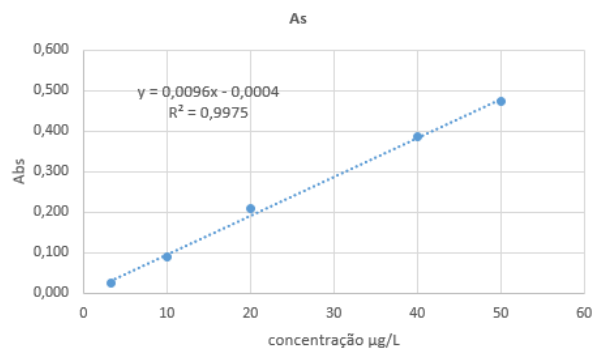
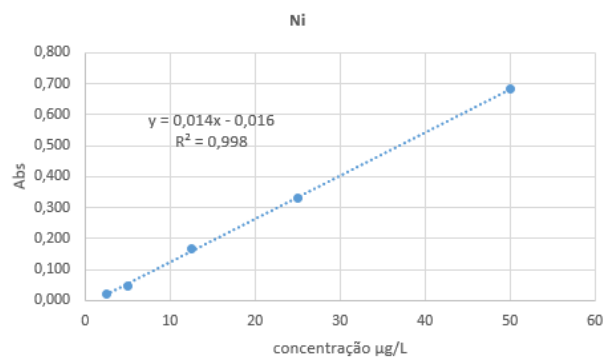
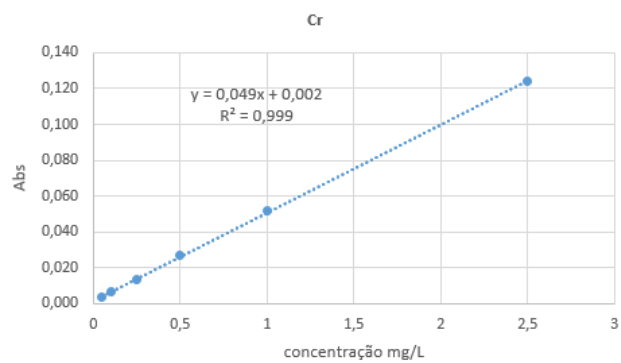
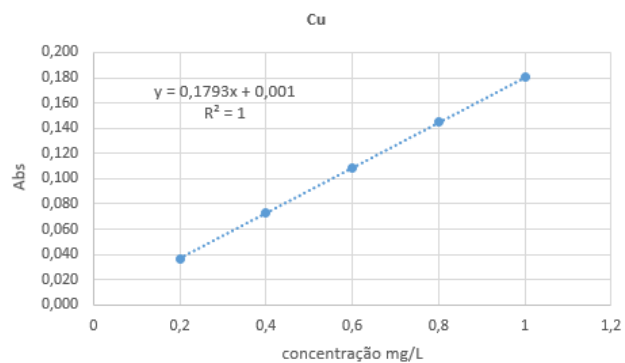
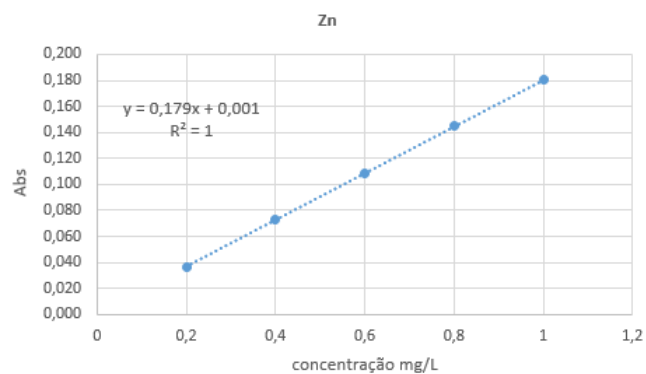
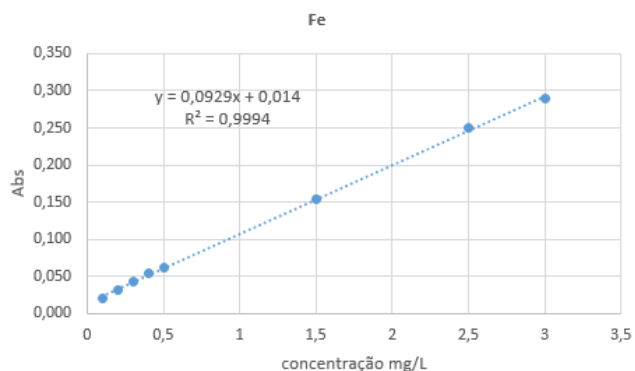
Anexo III

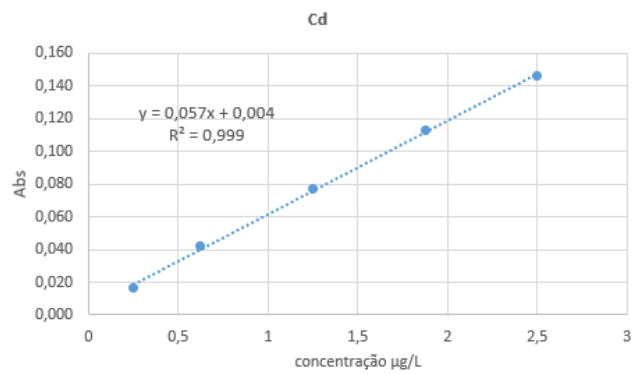
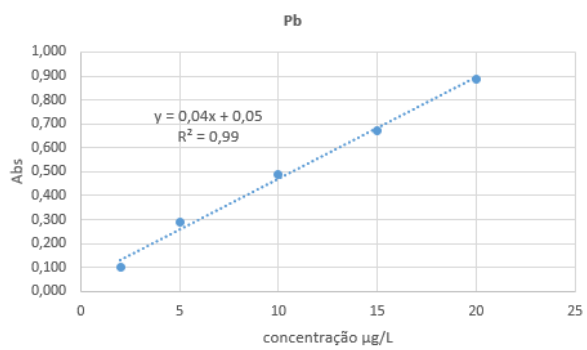
Resultados obtidos no teste de ecotoxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri* no equipamento Microtox®, para os tempos de contacto de 15 e 30 minutos.....65

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Anexo I

Curvas de Calibração dos metais determinados





Anexo II

Resultados obtidos no teste de ecotoxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri* no equipamento Microtox®, para o tempo de contacto de 5 minutos.

Tempo de contacto 5 Minutos			
Concentração (%)	I ₀	I _k	% Efeito
1	26,59	28,64	-14%
2	26,53	23,26	7
10	27,08	23,09	9
40	26,32	23,43	10
81	24,06	23,42	12

I₀- intensidade de luminescência inicial; I_k- intensidade de luminescência final.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Anexo III

Resultados obtidos no teste de ecotoxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri* no equipamento Microtox®, para os tempos de contacto de 15 e 30 minutos.

Tempo de contacto após 15 Minutos			Tempo de contacto após 30 Minutos		
Concentração (%)	I ₀	I _k	% Efeito	I _k	% Efeito
0,0	27,18	27,32	-23	24,50	-28
0,0	25,16	22,56	-9	19,97	-12
1,0	26,59	27,21	-25	25,28	-35
2,0	26,53	22,13	-2	20,32	-8
5,0	26,57	24,83	-14	22,93	-22
10,0	27,08	22,56	-2	20,50	-7
20,0	25,30	22,27	-7	20,21	-13
40,0	26,32	20,91	2	19,24	-3
81,0	24,60	19,20	4	18,11	-4

I₀- intensidade de luminescência inicial; I_k- intensidade de luminescência final.