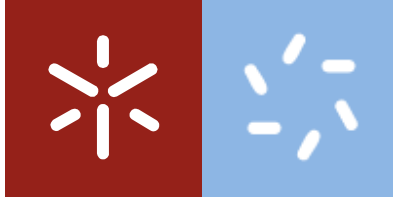




Universidade do Minho
Escola de Ciências

Diogo Manuel Ferreira Barbosa

Estrutura e funcionalidade de um rio urbanizado e avaliação da recuperação pós-intervenção de reabilitação fluvial



Universidade do Minho

Escola de Ciências

Diogo Manuel Ferreira Barbosa

**Estrutura e funcionalidade de um rio
urbanizado e avaliação da recuperação
pós-intervenção de reabilitação fluvial**

Tese de mestrado

Mestrado em Ecologia

Trabalho efetuado sob a orientação de

Professora Doutora Fernanda Maria Fraga

Mimoso Gouveia Cássio

e

Doutor Giorgio Pace

Agradecimentos

Tudo na vida tem um começo, meio e fim e este é o final de uma etapa que leva a novos começos. Foi um desafio difícil, mas que foi facilitado e superado graças à ajuda e suporte de várias pessoas. E a essas deixo a minha gratidão.

Gostaria de começar por agradecer ao Doutor Giorgio Pace e à Professora Doutora Fernanda Cássio pela orientação dada ao longo deste trabalho, pela forma como me receberam, pelos conhecimentos transmitidos, pela disponibilidade na resolução das dúvidas que tinha, por todo o incentivo e paciência que tiveram comigo. Obrigado por todos os ensinamentos!

A toda a minha família porque são a base de tudo. Se cheguei até aqui muito se deve a vocês. Obrigado pelos valores que me transmitiram e pelas palavras de incentivo e força para continuar o meu caminho. Ao meu avô que partiu no decorrer desta etapa e que sempre quis que o seu neto a terminasse, fosse feliz e tivesse sucesso. Foste muito importante para mim e sei que onde estiveres estás orgulhoso!

À minha namorada, Vanessa, por todo o amor e companheirismo, nos bons e nos maus momentos e pelo incentivo que nunca me fez desistir. Todas as palavras são poucas para te agradecer!

Aos “Maiores” e ao Mário pela amizade e pelos momentos de diversão. Obrigado malta!

À Ana por toda a ajuda no laboratório, nas saídas de campo e na resolução de dúvidas.

A todos os elementos do Departamento de Biologia, especialmente ao grupo da Biodiversidade, que me acolheram e que, direta ou indiretamente, me ajudaram a conseguir alcançar os objetivos.

Resumo

A alteração dos ecossistemas de água doce devido à ação humana é um tema que preocupa a comunidade científica atualmente. Esta alteração põe em risco a integridade ecológica além de ameaçar a própria vida humana pelo esgotamento dos bens e serviços providenciados pelos ecossistemas.

A biomonitorização dos rios surge da necessidade de avaliar o estado dos ecossistemas de água doce além de estimar a intensidade dos efeitos provocados pelas pressões antrópicas na integridade ecológica. A integridade ecológica é avaliada com base nos elementos biológicos, hidromorfológicos e nos parâmetros físico-químicos da água.

Com a introdução da Diretiva Quadro da Água (2000/60/CE) na Europa a importância da biomonitorização e da utilização de diversos organismos como bioindicadores da qualidade ecológica da água dos rios aumentou. No entanto, a mesma Diretiva, foca-se demasiado nas avaliações estruturais existindo uma escassez do uso de métricas funcionais na avaliação do estado ecológico dos rios.

O rio Este, em Braga, foi o alvo deste estudo sendo que é um rio urbanizado com partes canalizadas que tem vindo a sofrer ao longo dos anos de impactos gerados pela atividade humana. A qualidade ecológica do rio Este foi avaliada utilizando as métricas tradicionais e estruturais, recorrendo ao uso dos bioindicadores mais utilizados, os macroinvertebrados, em duas campanhas: no Outono de 2016 e na Primavera de 2017. A hidromorfologia foi avaliada recorrendo aos índices QBR, IHF e IFF e os parâmetros físico-químicos como os nutrientes, o pH, a temperatura, o oxigénio dissolvido e a condutividade foram medidos *in situ* e no laboratório. Além disso, foi avaliado um local do rio onde foram feitas obras de reabilitação fluvial na tentativa de verificar o efeito da reabilitação fluvial no ecossistema.

Numa segunda parte do estudo, utilizaram-se as métricas funcionais para termo de comparação com as estruturais. Foi analisada a dinâmica de colonização e de decomposição das folhas de amieiro por fungos aquáticos e pelos macroinvertebrados permitindo entender os efeitos que a canalização do rio urbanizado pode provocar na funcionalidade de um ecossistema de água doce.

Os resultados obtidos em ambas as análises sugeriram que a zona junto à nascente do rio Este é o local menos poluído e com uma melhor qualidade ecológica em relação aos restantes locais estudados. O local que sofreu reabilitação fluvial obteve alguns efeitos positivos, no entanto, como a intervenção é recente, é necessário mais tempo para se retirarem conclusões mais claras sobre o sucesso da intervenção. Para além disso, este trabalho enfatiza o uso de métricas funcionais para além das estruturais nos programas de biomonitorização dos rios.

Abstract

The alteration of freshwater ecosystems due to human action is a matter of concern to the scientific community today. This endangers the ecological integrity and threat human life by depleting goods and services provided by the ecosystems.

The biomonitoring of the rivers arises from the need to evaluate the state of freshwater ecosystems and to estimate the intensity of the negative effects caused by anthropic pressures on the ecological integrity by the evaluation of biological elements, hydromorphological characteristics and the evaluation of the physical-chemical parameters.

With the introduction of the Water Framework Directive (2000/60/EC) in Europe, the importance of biomonitoring and the use of various organisms as bioindicators of the ecological quality of rivers has increased. However, the same Directive focuses mainly on structural metrics and there is a lack of use of functional metrics in assessment of ecological quality of rivers.

The Este River in Braga was the target of this study. It is an urbanized and channelized river that has been suffering over the years from impacts generated by human activity. Firstly, the ecological quality of the Este River was evaluated by traditional and structural metrics, using the historically most used bioindicators, the macroinvertebrates, in a sampling that took place in two campaigns: in the autumn of 2016 and in the spring of 2017. Hydromorphology was evaluated using the QBR, IHF and IFF indexes and physico-chemical parameters such as nutrients, pH, temperature, dissolved oxygen and conductivity were measured *in situ* and in the laboratory. In addition, a site where river rehabilitation measures were implemented was evaluated in an attempt to find potential beneficial effects that the river rehabilitation can produce.

Secondly, the functional metrics for the comparison were used. The dynamics of colonization and decomposition of alder leaves by aquatic fungi and macroinvertebrates were analyzed, allowing an understanding of the effects of a channelized and urbanized river on the functionality of a freshwater ecosystem.

The results obtained from both analyzes suggested that the area near the spring of the Este River is the less polluted with a better ecological quality in relation to the other sites. The site that was subjected to river rehabilitation had some positive effects, however, as the intervention was recent, it takes more time to draw more conclusions about the success of the intervention.

This work emphasizes the use of functional metrics in addition to the structural metrics in the biomonitoring programs of the rivers and serves as a first approach for future studies at the rehabilitated site.

Índice

Estrutura e funcionalidade de um rio urbanizado e avaliação da recuperação pós-intervenção de reabilitação fluvial

Capítulo I	1
1. Introdução	1
1.1. Biomonitorização: definição e <i>background</i>	1
1.2. Bioindicadores utilizados na avaliação da qualidade dos rios.....	1
1.2.1. Diatomáceas	2
1.2.2. Peixes	2
1.2.3. Macroinvertebrados bentónicos	3
1.2.4. Macrófitas.....	7
1.3. Sistemas biológicos e índices utilizados na biomonitorização dos ecossistemas de água doce.....	7
1.3.1. Índices Bióticos	8
1.3.2. Índices de diversidade	8
1.3.3. Índices multimétricos	9
1.3.4. Modelos preditivos.....	9
1.4. Directiva-Quadro da Água	10
1.5. Hidromorfologia e zona ripária	13
1.6. A aplicação de métricas funcionais.....	15
1.6.1. Decomposição das folhas	16
1.6.1.1. Etapas da decomposição	16
1.6.1.2. Hifomicetos aquáticos na decomposição das folhas	18
1.6.1.3. Papel dos macroinvertebrados na decomposição das folhas	18
1.6.1.4. Fatores que influenciam a decomposição das folhas.....	19
1.7. Biomonitorização em Portugal.....	22
2. Estrutura e objetivos da tese.....	23
Capítulo II	25
3. Avaliação da qualidade ecológica do rio Este.....	25
3.1. Introdução	25
3.2. Materiais e métodos	27
3.2.1. Enquadramento da área em estudo	27
3.2.2. Locais de amostragem.....	30
3.2.3. Medição dos parâmetros físico-químicos.....	33
3.2.4. Caracterização hidromorfológica	34

3.2.4.1.	Índice de Habitat Fluvial (IHF).....	34
3.2.4.2.	Índice de Qualidade do Bosque Ripário (QBR).....	34
3.2.4.3.	Índice de Funcionalidade Fluvial (IFF).....	34
3.2.5.	Amostragem, triagem e identificação de macroinvertebrados bentônicos	35
3.2.6.	Índices bióticos, de diversidade e multivariados.....	37
3.3.	Resultados	40
3.3.1.	Caracterização dos parâmetros físico-químicos	40
3.3.2.	Caracterização hidromorfológica	42
3.3.3.	Macroinvertebrados bentônicos	43
3.3.4.	Influência das variáveis ambientais na comunidade de macroinvertebrados ..	47
3.4.	Discussão.....	50
3.4.1.	Qualidade ecológica do rio Este.....	50
3.4.2.	Intervenção de reabilitação fluvial	53
Capítulo III	55
4.	Decomposição de folhas de amieiro no rio Este: efeitos nos fungos aquáticos e nos macroinvertebrados	55
4.1.	Introdução	55
4.2.	Materiais e Métodos	55
4.2.1.	Desenho experimental	55
4.2.2.	Macroinvertebrados associados às folhas.....	56
4.2.3.	Contagem de esporos de fungos.....	57
4.2.4.	Biomassa de fungos.....	57
4.2.5.	Perda de massa da folha	57
4.2.6.	Análise estatística	58
4.3.	Resultados	59
4.3.1.	Perda de massa da folhada.....	59
4.3.2.	Biomassa de fungos.....	60
4.3.3.	Esporulação	62
4.3.4.	Macroinvertebrados associados às folhas.....	63
4.3.5.	Análise multivariada	66
4.4.	Discussão.....	67
Capítulo IV	69
5.	Conclusões e perspectivas futuras.....	69
Referências bibliográficas	71
ANEXOS	72

Índice de Figuras

Figura 1 - Descrição em esquema das assembleias de diatomáceas (Lobo et al., 1995).....	2
Figura 2 - As redes são utilizadas no processo de amostragem para avaliar a saúde biológica dos rios.....	5
Figura 3 - Posição da rede de mão para realizar a amostragem (Freshwater Biological Association: http://www.fba.org.uk/sites/default/files/CourseInvertSamplingProtocol.pdf).	5
Figura 4 - "Multiplate sampler" para amostragem dos macroinvertebrados aquáticos em rios profundos (Hester & Dendy, 1962).....	6
Figura 5 - "Basket sampler" para amostragem dos macroinvertebrados aquáticos em rios profundos (Clapcott et al., 2012).....	6
Figura 6 – Processo de classificação das massas de água segundo a Diretiva-Quadro da Água (Adaptado: INAG ,2009; Acreman & Ferguson, 2010).....	12
Figura 7 - Sete atributos para avaliação da qualidade ecológica da zona ripária. A) Atributos físicos; B) Atributos ecológicos e hidrológicos (Tánago & Jalón, 2006).	14
Figura 8 - As três etapas da decomposição das folhas (Gessner et al., 1999).....	17
Figura 9 - Taxas de decomposição de algumas famílias de plantas lenhosas (Woody) e de plantas não lenhosas (Non-Woody) (Webster & Benfield, 1986).....	20
Figura 10 - Sistema de classificação do estado das massas de água (INAG, 2009).....	22
Figura 11 - Publicações que incluem o termo "rios urbanos" até ao ano de 2011 (Francis, 2012).	26
Figura 12 - Rede hidrográfica do Ave com representação do rio Este (adaptado: SNIR - apambiente).....	29

Figura 13 - Locais de amostragem do rio Este. A) Nascente, B) Este (São Pedro), C) Opel, D) Hotel Meliã, E) INL, F) Rodovia, G) Rua Engenheiro Afonso José da Fonseca, H) Bosch, I) Vimieiro.	32
Figura 14 - Medição dos parâmetros físico-químicos no laboratório.....	33
Figura 15 - Um exemplar dum macroinvertebrado identificado da família Tabanidae recorrendo à lupa Leica S8 APO.	36
Figura 16 - Pontuações dos índices QBR, IHF e IFF ao longo dos locais de amostragem.	42
Figura 17 - Índices biológicos ao longo dos locais de amostragem (códigos: u=upstream, d=downstream,r=riffle, p=pool). A) Abundância, B)Riqueza, C) Índice de Shannon, D) EPT. ...	44
Figura 18 - IPTI _N no Outono de 2016.....	45
Figura 19 - IPTI _N na Primavera de 2017.	46
Figura 20 - CCA da abundância de macroinvertebrados com os parâmetros físico-químicos (códigos: 1 = E4SP, 2 = E5SP _{Pr} , 3 = E5SP _p , 4 = E6SP, 5 = E1SP _u , 6 = E1SP _d , 7 = E7SP _p , 8 = E7SP _{Pr} , 9 = E2SP, 10 = E3SP, 11 = E5SP, 12 = E8SP, 13 = E9SP, 14 = E2AU, 15 = E3AU, 16 = E5AU, 17 = E8AU, 18 = E9AU).	48
Figura 21 - CCA dos grupos funcionais alimentares (códigos: shre=tritadores, pred=predadores, scrap=raspadores, filt=filtradores, coll-gath=coletores, 1 = E4SP, 2 = E5SP _{Pr} , 3 = E5SP _p , 4 = E6SP, 5 = E1SP _u , 6 = E1SP _d , 7 = E7SP _p , 8 = E7SP _{Pr} , 9 = E2SP, 10 = E3SP, 11 = E5SP, 12 = E8SP, 13 = E9SP, 14 = E2AU, 15 = E3AU, 16 = E5AU, 17 = E8AU, 18 = E9AU).	49
Figura 22 - Sacos contendo folhas de Amieiro mergulhadas num local do rio Este aos 7 dias. .	56
Figura 23 - Perda de massa da folha ao longo dos 4 tempos. As barras de erro indicam o desvio padrão (n=3).	59
Figura 24 – Taxa de decomposição ao longo dos tempos.	60

Figura 25 - Biomassa produzida pelos fungos avaliada pela concentração de ergosterol ao longo dos tempos. As barras de erro indicam o desvio padrão (n=3).	61
Figura 26 – Biomassa de fungos em relação aos 4 tempos.	61
Figura 27 – Taxa de esporulação dos fungos ao longo do tempo. As barras de erro indicam o desvio padrão (n=3).....	62
Figura 28 - Taxa de esporulação ao longo dos tempos.	63
Figura 29 - Índice de diversidade de Shannon ao longo do tempo. As barras de erro indicam o desvio padrão (n=3).....	64
Figura 30 - Índice de Shannon ao longo dos tempos.	65
Figura 31 - Análise de componentes principais (PCA) para os 5 locais em estudo ao longo dos 4 tempos (T1 = 7 dias, T2 = 14 dias, T3 = 21 dias, T4 = 28 dias).	66

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Doze critérios para definir uma ferramenta ideal de biomonitorização utilizando macroinvertebrados aquáticos (Adaptado: Bonada et al., 2006).....	4
Tabela 2 – Latitude e longitude dos locais de amostragem.....	31
Tabela 3 - Classes de qualidade do QBR (adaptado: Munné et al., 1998).....	34
Tabela 4 - Níveis de funcionalidade divididos em diferentes categorias (Adaptado: Siligardi et al, 2007).	35
Tabela 5 - Mediana dos valores de referência e fronteiras para os rios do Norte de Média-Grande Dimensão (adaptado de: INAG, 2009).....	38
Tabela 6 - Classes de qualidade do IBMWP (Alba-Tercedor et al., 2002).....	39
Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos medidos “in situ” e no laboratório no Outono de 2016 (AU) e na Primavera de 2017 (SP) e os seus limites máximos para o estabelecimento do bom estado ecológico do rio.....	40
Tabela 8 - Variação das métricas biológicas no A) Outono e na B) Primavera (u=upstream, d=downstream, r=riffle, p=pool).....	45
Tabela 9 - Taxa de decomposição das folhas de amieiro no rio Este.....	60
Tabela 10 - Declives da taxa de biomassa de fungos.....	62
Tabela 11 - Two-way ANOVA da taxa de esporulação dos fungos em relação aos locais de amostragem e aos tempos.....	63
Tabela 12 - Two-way ANOVA do índice de Shannon em relação às estações de amostragem e tempo de amostragem.	65
Tabela 13 - Two-way ANOSIM da análise de componentes principais.	66

Capítulo I

1. Introdução

1.1. Biomonitorização: definição e *background*

Os ecossistemas de água doce têm uma extrema importância como condutores de água e de nutrientes suportando diversas comunidades. A água do rio também tem um papel na vida humana uma vez que é um recurso utilizado por nós. Por este motivo, existe a preocupação dos ecólogos com o seu estado e a sua condição. Para avaliar a “saúde” do rio são frequentemente feitas biomonitorizações (Bailey et al., 2004).

A biomonitorização é definida como o ato de observar e avaliar o estado e as alterações que ocorrem nos ecossistemas e na biodiversidade (Bondaruk et al., 2015) através da quantificação de parâmetros nos organismos vivos relacionados com essas alterações.

As medições físicas, químicas e bacteriológicas são tradicionalmente a base da monitorização dos rios pois fornecem informações importantes sobre o seu estado. No entanto, devido à natureza das águas correntes (onde ocorrem mudanças na sua hidrologia) não integram diferentes fatores ambientais. Por isso, a biomonitorização provou ser necessária para complementar as técnicas tradicionais de monitorização dos rios (Li et al., 2010; Karr & Dudley, 1981).

1.2. Bioindicadores utilizados na avaliação da qualidade dos rios

Os bioindicadores são indicadores biológicos da qualidade de um ambiente e de mudanças sofridas por ele ao longo do tempo, sejam elas antropogénicas ou naturais. As vantagens do uso de bioindicadores incluem: determinação de impactos biológicos, monitorização dos efeitos sinérgicos e antagónicos dos poluentes nos organismos, baixo custo comparado com outras métricas (Parmar et al., 2016).

Organismos aquáticos tais como as diatomáceas, macroinvertebrados bentónicos, peixes e plantas aquáticas tais como as macrófitas podem servir de bioindicadores para avaliar a integridade ecológica dos ecossistemas de água doce (Springe et al., 2006; Hering et al., 2006).

1.2.1. Diatomáceas

As diatomáceas são organismos unicelulares, pertencentes a um grupo de algas fotossintéticas que podem ser utilizadas como bioindicadores. São encontradas em zonas de grande luminosidade solar. Têm características úteis tais como: disponibilidade e ocorrência fáceis; alta sensibilidade à matéria orgânica, pH, salinidade e nutrientes; bioindicador de baixo custo económico; são complementares aos métodos tradicionais; as suas frústulas (parede celular ou camada externa das diatomáceas composta por sílica e pectina) são preservadas após a morte. Assim permite detetar mudanças na qualidade da água dos rios. (Hattikudur et al., 2014).

As diatomáceas podem ser descritas em termos da composição de espécies e em termos de diversidade de espécies (Fig. 1). A composição de espécies pode ser analisada pelos índices bióticos e pela análise multivariada e a diversidade de espécies pode ser analisada pelos índices de diversidade e pelos modelos de relação espécie-abundância (Lobo et. al, 2016).

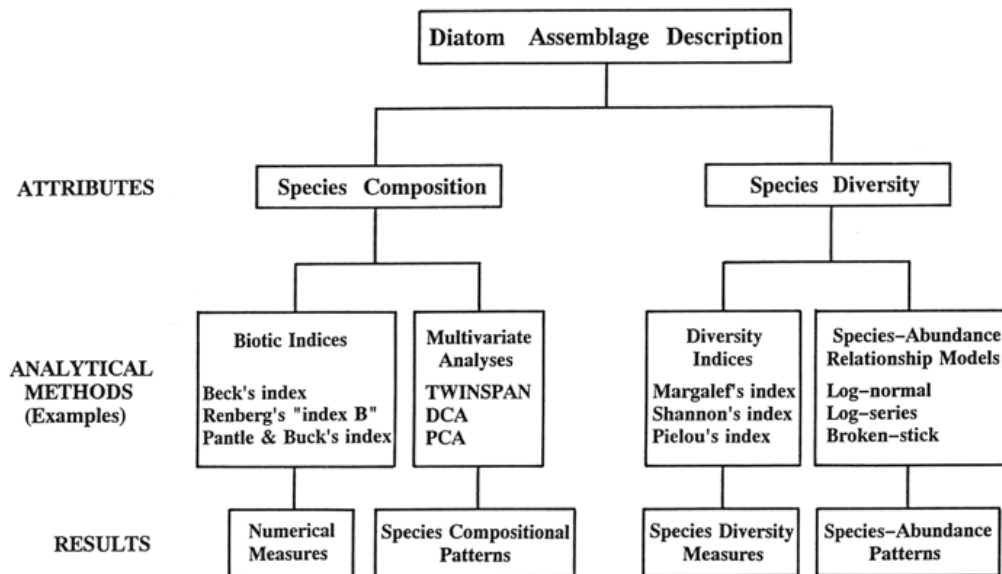


Figura 1 - Descrição em esquema das assembleias de diatomáceas (Lobo et al., 1995).

1.2.2. Peixes

As comunidades de peixes, como grandes e valiosos componentes dos ecossistemas de água doce, podem ser largamente utilizados para monitorizar a saúde dos rios (Li et al., 2010).

As mudanças espaciais das comunidades de peixes ao longo dos sistemas fluviais e o uso de padrões de zonação são algumas das abordagens de bioindicação mais tradicionais (Chovanec et al., 2003).

As vantagens do uso de peixes como bioindicadores nos programas de biomonitorização incluem: história de vida dos peixes extensa e, portanto, bons indicadores a longo termo; variedade de níveis tróficos (omnívoros, herbívoros, piscívoros, insetívoros); posição de topo nas teias alimentares aquáticas; facilidade identificação de espécies; encontram-se em vários tipos de rios mesmo os poluídos; podem ser feitos exames sobre toxicidade e examinar os efeitos de stresse nos peixes (Karr, 1981).

A amostragem de peixes pode ser feita através do recurso à pesca elétrica ou pesca por arte de cerco sendo que a primeira é a mais utilizada devido à sua maior aplicabilidade e eficiência (Barbour, 1998).

Os índices bióticos baseados nos peixes e os índices multimétricos (por exemplo, o índice de integridade biótica) são utilizados para avaliar a integridade e a qualidade ecológica dos rios (Li et al., 2010).

1.2.3. Macroinvertebrados bentônicos

Os macroinvertebrados bentônicos são organismos muito utilizados na biomonitorização dos ecossistemas aquáticos por possuírem um papel importante em vários processos ecológicos nas águas de transição, nos rios e nos lagos. Eles integram as mudanças ambientais nas características físicas, químicas e ecológicas do seu habitat ao longo do tempo (Basset et al., 2004). São os biomonitores historicamente mais utilizados (Resh, 2008).

Bonada et al. (2006) abordam num artigo as vantagens de utilização de macroinvertebrados como bioindicadores. As suas características vantajosas são: a ocorrência ubíqua, a enorme riqueza de espécies que envolve um largo espectro de respostas ambientais, a natureza sedentária facilitando a análise espacial dos efeitos da poluição, a tendência de certas espécies se introduzirem na coluna de água, desviando-se do seu habitat e indica a presença de um poluente, compatibilidade com métodos de amostragem com baixo custo, taxonomia bem descrita, adequação de espécies para estudos experimentais de efeitos de poluição. Os autores descreveram 12 critérios que uma ferramenta ideal de biomonitorização com macroinvertebrados deve ter (Tabela 1).

Tabela 1 - Doze critérios para definir uma ferramenta ideal de biomonitorização utilizando macroinvertebrados aquáticos (Adaptado: Bonada et al., 2006).

Racionalidade	
1.	Derivado de conceitos teóricos sólidos em Ecologia
2.	Preditivo
3.	Potencial para avaliar funções biológicas
4.	Potencial para discriminar o impacto humano global
5.	Potencial para distinguir diferentes tipos de impacto humano
Implementação	
6.	Baixo custo de amostragem e triagem
7.	Protocolos de amostragem simples
8.	Baixo custo para a identificação dos taxa (não são necessários especialistas em taxonomia)
Desempenho	
9.	Aplicabilidade em larga escala
10.	Indicação confiável das mudanças nos impactos humanos gerais
11.	Indicação confiável de mudanças em diferentes tipos de impacto humano
12.	Indicação de impacto humano em escala linear

No entanto o uso de macroinvertebrados na biomonitorização dos rios também tem as suas limitações. A sua amostragem quantitativa é difícil devido à sua vasta distribuição no rio, devido ao seu ciclo de vida diversos macroinvertebrados não são encontrados em algumas épocas do ano, não respondem a baixas concentrações de poluentes nem a alguns tipos de alterações ambientais, alguns macroinvertebrados são difíceis de identificar (como os Chironomidae, Tricoptera e Oligochaeta) e a identificação dos macroinvertebrados é morosa (Mesquita, 2003; Ziglio et al., 2008).

O processo de biomonitorização com macroinvertebrados consiste em duas partes: a amostragem e a identificação.

O método de amostragem depende das características físicas do ambiente aquático estudado (profundidade, velocidade do caudal, tipo de sedimento) e do objetivo da biomonitorização.

Um método de amostragem muito utilizado em rios pouco profundos é a técnica de “kick sampling” com uma rede de mão (Fig. 2).



Figura 2 - As redes são utilizadas no processo de amostragem para avaliar a saúde biológica dos rios.

Neste método de amostragem, durante três minutos deve-se amostrar o local com recurso ao pé para retirar amostras que possam estar presas nos substratos e rochas numa posição com a rede contrária à direção do fluxo de água (Fig. 3).



Figura 3 - Posição da rede de mão para realizar a amostragem (Freshwater Biological Association: <http://www.fba.org.uk/sites/default/files/CourseInvertSamplingProtocol.pdf>).

Deve-se movimentar no local durante esse período para amostrar os diferentes habitats no rio, como águas rápidas, águas lentas, ervas daninhas e raízes de árvores. Assim garante que o existe uma maior representatividade dos macroinvertebrados do local. Durante este tempo deve-

se também pegar em pedras grandes no local e esfrega-las na água para que os macroinvertebrados sejam transportados pelo rio até à rede.

Para rios mais profundos são utilizados substratos artificiais que padronizam as características do ambiente aquático no qual é introduzido. É introduzido um substrato artificial no rio que depois é removido e são contados os insetos e os macroinvertebrados (Hilsenhoff, 1969). Existem dois tipos de substratos que são comumente utilizados: o “multiplate sampler” e o “basket sampler”. O primeiro consiste em placas duras temperadas de cerâmica no qual existe a colonização de organismos aquáticos com uma área de superfície conhecida (Fig. 4) e o segundo consiste numa cesta cilíndrica a qual é preenchida com rochas de diâmetro entre 2,5 cm a 7,5 cm e a sua área disponível para colonização depende do substrato utilizado no cesto (Fig. 5) (Gibbons et al., 1993).

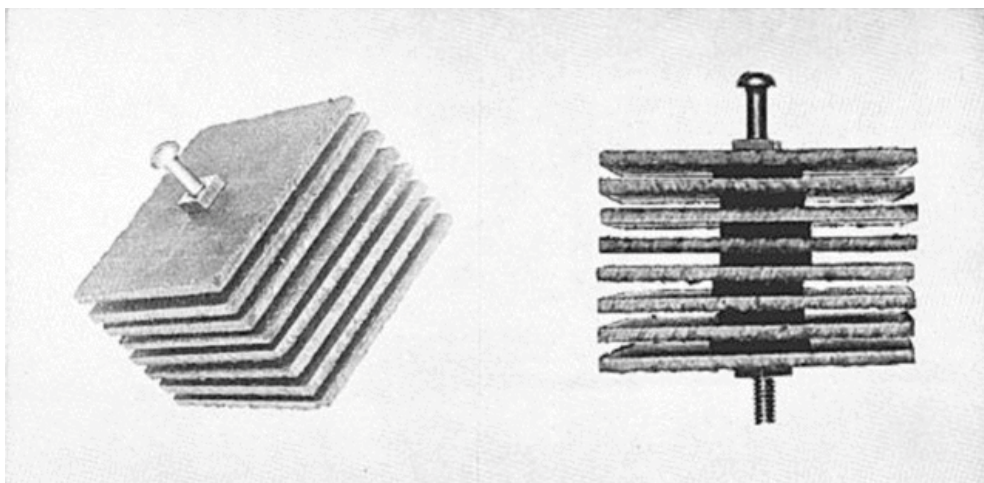


Figura 4 - "Multiplate sampler" para amostragem dos macroinvertebrados aquáticos em rios profundos (Hester & Dendy, 1962).



Figura 5 - "Basket sampler" para amostragem dos macroinvertebrados aquáticos em rios profundos (Clapcott et al., 2012).

O nível taxonómico de identificação dos macroinvertebrados depende dos recursos financeiros, dos instrumentais disponíveis e do objetivo da biomonitorização (Ziglio et al., 2008).

A identificação é feita utilizando uma lupa e recorrendo a chaves de identificação baseadas nas características morfológicas dos macroinvertebrados.

1.2.4. Macrófitas

As macrófitas são plantas aquáticas relevantes na avaliação da qualidade das águas dos rios. Estas alteram o seu crescimento e distribuição em resposta a condições ambientais modificadas. Como a urbanização e a agricultura causam mineralização e eutrofização nos rios existe uma modificação da vegetação aquática, sendo que a utilização das macrófitas como bioindicador é importante (Steffen et al., 2004).

No entanto, não são indicadoras precoces de alterações na qualidade dos rios devido aos seus ciclos de vida longos e tolerância em relação a alterações ambientais de curto prazo (Jenačković et al., 2016).

A composição e distribuição de espécies de macrófitas são essencialmente influenciadas pela hidromorfologia, hidrologia e características físico-químicas dos rios (Ceschin et al., 2010).

Ao contrário das diatomáceas, as macrófitas que estão submersas absorvem nutrientes da água existente nos poros dos sedimentos e da água sobrejacente.

Schneider & Melzer (2003) desenvolveram o índice trófico de macrófitas (em inglês, *Trophic Index of Macrophytes – TIM –*). Este índice indica o estado trófico das águas correntes através das macrófitas refletindo as concentrações de fósforo existentes na água e também nos poros dos sedimentos.

1.3. Sistemas biológicos e índices utilizados na biomonitorização dos ecossistemas de água doce

O conceito de determinação biológica da qualidade da água dos rios foi originado pelo trabalho de Kolkwitz & Marsson (1909) em que se desenvolveu o sistema saprobiótico (grau de poluição) aplicado aos rios. Este sistema media o grau de contaminação pela matéria orgânica e consequente redução do oxigénio dissolvido e realçava que a abundância de certos organismos em áreas poluídas acontecia devido a características fisiológicas e comportamentais que lhes permitia tolerar essas condições. Assim, os lugares onde ocorria uma grande abundância desses organismos eram classificados como poluídos. Este estudo serviu como base para estudos posteriores baseados na presença ou ausência dos grupos de organismos sensíveis à poluição (Cairns & Pratt, 1993).

Este tipo de metodologia de biomonitorização deu origem a vários trabalhos que tiveram em conta o sistema saprobiótico de Kolkwitz & Marsson (1909) (Brinkhurst, 1974; Guhl, 1987; Foissner, 1988).

A partir daí, surgiram algumas metodologias como: os índices bióticos, os índices de diversidade, índices multimétricos e os modelos preditivos.

1.3.1. Índices Bióticos

Os índices bióticos começaram por ser a metodologia mais utilizada no final da época de 1960. Existem numerosos índices utilizados para os macroinvertebrados bentónicos tais como o TBI (*Trent Biotic Index*), EBI (*Extended Biotic Index*), ASPT (*Average Score per Taxon*), HBI (*Hilsenhoff's Biotic Index*), etc (Li et al., 2010).

O índice BMWP (*Biological Monitoring Working Party Score*) foi originado em 1978 depois duma série de reuniões e relatórios do Departamento do Ambiente do Reino Unido e consiste em atribuir uma pontuação para cada organismo tendo como base a sua tolerância aos impactos. Este considera os organismos até ao nível taxonómico da família aos quais se dá uma pontuação de 1 a 10 com base na sensibilidade aos poluentes orgânicos. Os organismos com pontuação mais alta são mais sensíveis e os organismos com pontuações mais baixas são mais tolerantes (Metcalf, 1989; Hawkes, 1997). Este índice atualmente é menos usado sendo preferido o ASPT (Wheater et al., 2011).

O ASPT é um índice originado a partir do BMWP por Armitage et al. (1983) tornando mais realista e eficiente e sem influência do tamanho do rio e consiste na divisão da pontuação do BMWP com o número de famílias encontradas. A sua escala de valores encontra-se de 0 a 10, sendo que os valores mais próximos de 10 indicam uma boa qualidade da água.

1.3.2. Índices de diversidade

Os índices de diversidade são tradicionalmente utilizados na biomonitorização e consistem em expressões matemáticas utilizadas para descrever a resposta das comunidades quanto à qualidade do habitat. É analisada a riqueza, a abundância e a equitatividade de espécies (por exemplo, pelos índices de Shannon-Wiener, Simpson, Pielou) (Li et al., 2010).

1.3.3. Índices multimétricos

O uso de índices multimétricos para avaliar a qualidade dos rios em programas de biomonitorização está a ganhar atenção nos últimos 20 anos (Ferreira et al., 2011).

Os índices multimétricos classificam os locais de referência baseando-se nos atributos geográficos e físicos. Estes integram um conjunto de variáveis ou métricas (por exemplo, riqueza, abundância, grupos funcionais de alimentação, densidade) e fornecem informações sobre as respostas de uma comunidade ao stresse natural e antropogénico (Karr & Chu, 1997).

Karr (1981) propôs o índice de integridade biótica (IBI) como um índice multimétrico para entender a relação entre o distúrbio antrópico e os seus efeitos nos ecossistemas aquáticos.

Estes índices multimétricos têm sido os índices mais utilizados na biomonitorização dos rios do EUA e recentemente tem-se utilizado noutras partes do mundo (Li et al., 2010).

1.3.4. Modelos preditivos

Os modelos preditivos quantificam a qualidade do rio como o grau em que um local suporta a fauna e flora que seria esperado que ocorresse se houvesse ausência de seres humanos. As medidas são feitas por comparação da biota em locais de referência e em locais de teste com características físico-químicas semelhantes (Norris & Hawkins, 2000).

O RIVPACS (*River Invertebrate Prediction And Classification System*), AusRivAS (*Australian Rivers Assessment System*), BEAST (*Benthic Assessment Sediment*), ANNA (*Assessment by Nearest Neighbor Analysis*) são exemplos de modelos preditivos usados na biomonitorização (Feio & Poquet, 2011).

A introdução de modelos preditivos foi iniciada pelo RIVPACS em 1980 baseada no índice BMWP em obter modelos com associação entre comunidades e variáveis ambientais (Whright et al., 2000). Este modelo foi desenvolvido inicialmente para os rios da Grã-Bretanha mas estendeu-se para todo o Reino Unido.

O AusRivAS é um modelo que foi desenvolvido para os rios da Austrália utilizando macroinvertebrados e baseado no RIVPACS mas com diferenças no protocolo de amostragem, análises estatísticas e habitats amostrados (Simpson & Norris, 2000).

O BEAST foi um modelo originado por Reynoldson et al. (1995) para a avaliação da integridade biológica dos Grandes Lagos da América do Norte. Tal como acontece no RIVPACS, os modelos BEAST definem os locais de referência baseados num conjunto de características ambientais, classificando as comunidades de referência em grupos e prevendo a possibilidade de um novo sítio pertencer a cada grupo com base em variáveis ambientais.

O modelo preditivo ANNA foi desenvolvido por Linke et al. (2005) e é um modelo semelhante ao RIVPACS. Contudo, existe a ausência da etapa inicial do agrupamento biológico (análise de Clusters).

1.4. Directiva-Quadro da Água

Com a introdução da Diretiva Quadro da Água (DQA), a importância da utilização de organismos (como os organismos já referidos tais como peixes, macrófitas, diatomáceas e macroinvertebrados) como bioindicadores do estado ecológico da qualidade da água aumentou (EC, 2000) na Europa.

A DQA (2000/60/CE) surgiu pela necessidade de desenvolver um quadro de avaliação e proteção das águas de superfície, das águas de transição, das águas costeiras e das águas subterrâneas na União Europeia.

Em 1994, a Comissão Europeia apresentou uma Proposta de Diretiva à qualidade ecológica das águas. Apesar dessa legislação de proteção aplicada, a poluição das águas continuava a aumentar e a sua qualidade ia diminuindo. Na sequência da insuficiência desta legislação aplicada, a Comissão Europeia apresentou em 1997 a Proposta da Diretiva Quadro da Água que, para além das disposições da primeira diretiva, “estabelece a necessidade de uma maior integração dos aspetos qualitativos e quantitativos para uma gestão sustentável dos ecossistemas aquáticos” (EC, 2000). A proposta foi então aprovada e adotada pelo Parlamento Europeu e Conselho em 2000 e publicado no “Jornal Oficial das Comunidades Europeias” em 2001. Assim, cada Estado-Membro vai monitorizar e avaliar a qualidade ecológica das águas de superfície do seu território, seguindo as metodologias previstas no DQA e os resultados são apresentados à Comissão Europeia de acordo com uma escala de classificação comum a toda a comunidade europeia.

A DQA tem como objetivos “estabelecer um enquadramento para a proteção das águas de superfície interiores, das águas de transição, das águas costeiras e das águas subterrâneas” (EC, 2000) e os seus princípios-chave são: evitar a degradação, proteger e melhorar o estado dos ecossistemas aquáticos e também os ecossistemas terrestres e zonas húmidas que estão dependentes dos ecossistemas aquáticos; conseguir o consumo de água sustentável; incluir medidas específicas para a redução gradual das descargas, emissões e substâncias perigosas; assegurar uma redução gradual da poluição das águas subterrâneas e mitigar os efeitos das inundações e das secas, contribuindo para: a boa qualidade da água superficial e subterrânea; a redução da poluição das águas subterrâneas; a proteção das águas marinhas e territoriais, cumprindo os acordos internacionais para a eliminação da poluição e das descargas, emissões e substâncias perigosas para as águas (Pio & Henriques, 2000).

A classificação das águas de superfície podem ser avaliadas como excelente, bom, razoável, medíocre e mau tendo em conta a caracterização físico-química, hidromorfológica e biológica. Este estado é originado através do menor resultado obtido nos estados ecológicos e químicos e avaliado através da extensão do desvio em relação às condições de referência (Acreman & Ferguson, 2010) (Fig. 6).

Mas a DQA tem tido alguns problemas na sua implementação. Friberg et al. (2011) abordam os pontos críticos dos sistemas de biomonitorização segundo a DQA criticando o facto de se usarem diferentes metodologias de biomonitorização em vez de se usar uma única metodologia padrão levando a diferentes interpretações quanto ao bom estado ecológico das águas e deixa o desafio de se abandonarem abordagens ineficazes e substituí-los por métodos novos e com maior eficácia mas que estes sejam executados em paralelo para fazer-se comparações das suas forças e fraquezas relativas e, também, para intercalibrar os resultados. Os autores também abordam o facto de ser necessário que a biomonitorização seja abordada de forma científica em vez de ser abordada por questões de cumprimento da lei. Embora as abordagens funcionais se tenham desenvolvido nos últimos anos, as interações entre as espécies têm sido ignoradas. Estas são úteis para se saberem como os ecossistemas ou as propriedades da comunidade podem responder a “stressors”. Os autores referem que na biomonitorização preferível organismos que participam em ciclos biogeoquímicos como as bactérias mas o conhecimento da composição da sua comunidade e da sua diversidade funcional é pouco representando um problema para a melhoria da biomonitorização e, por isso, estes organismos são negligenciados na DQA como elementos de qualidade biológica preferindo organismos maiores como os peixes e os macroinvertebrados. Os autores concluem que é necessário, então, haver maior sensibilização para a biomonitorização para entrar numa nova era de mudança.

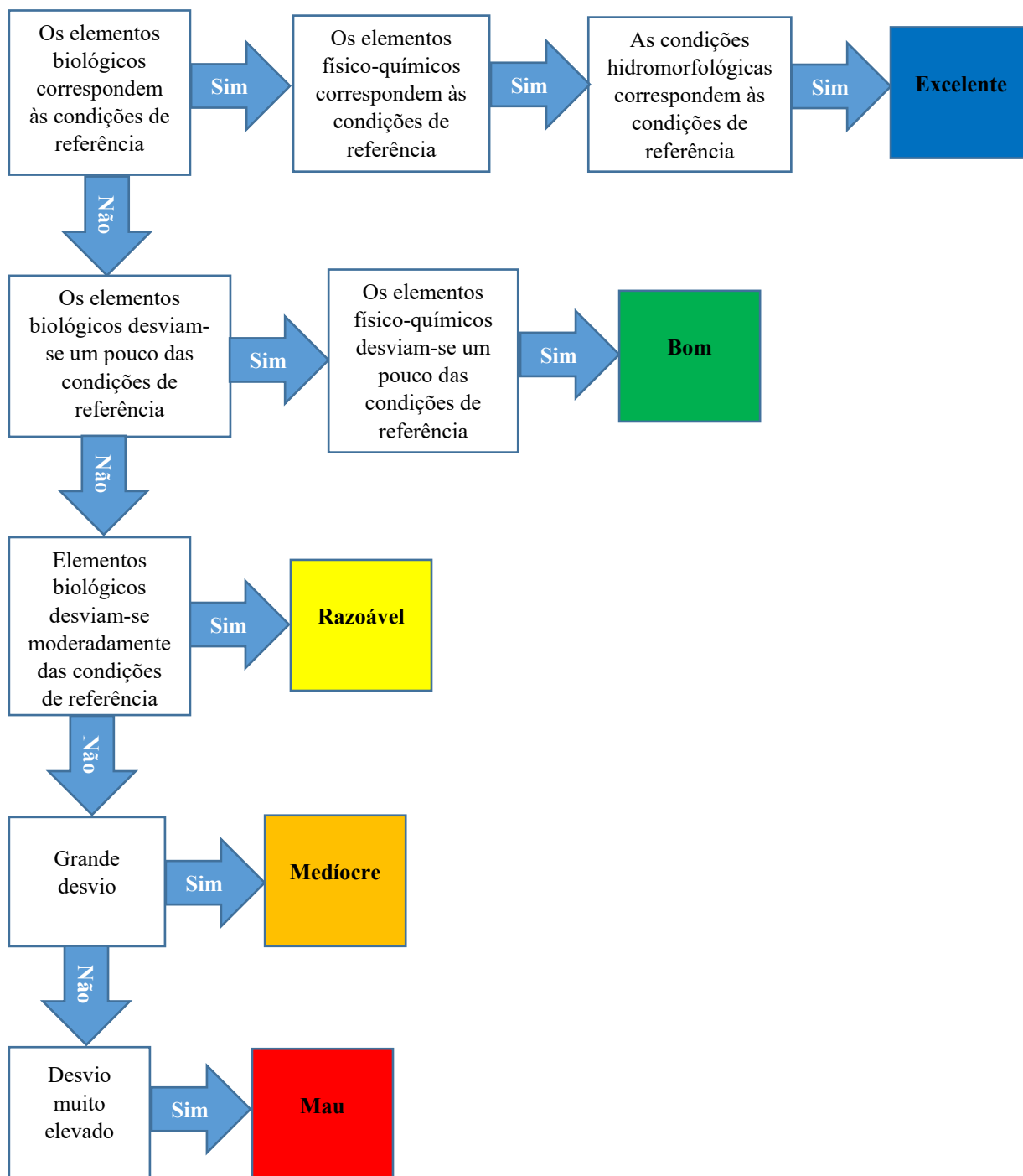


Figura 6 – Processo de classificação das massas de água segundo a Diretiva-Quadro da Água (Adaptado: INAG ,2009; Acreman & Ferguson, 2010).

1.5. Hidromorfologia e zona ripária

Com a introdução da Diretiva Quadro da Água, a avaliação da hidromorfologia dos rios e da zona ripária tornaram-se elementos importantes na avaliação da qualidade ecológica dos rios.

A hidromorfologia de um rio define-se como as características e processos físicos dos rios que determinam a condição do ecossistema fluvial.

A hidromorfologia de um rio altera-se da nascente (a altas altitudes) até à foz (a baixas altitudes).

Em altas altitudes a forma dos rios é mais profunda e observam-se formas de vale em “U” e em “V” afetando a velocidade da água do rio que nesta altitude é elevada. A velocidade da corrente do rio é dependente das combinações de “pool” e “riffle”. Rios a alta altitude geralmente são bordeados por floresta devido ao facto de a altas altitudes não existir praticamente efeitos do uso da terra. Assim, detritos lenhosos e raízes de árvores podem ser vistos no canal e existe um grande sombreamento.

A baixas altitudes a velocidade do rio é mais baixa e há a existência de processos erosivos e deposicionais. Aqui a urbanização, a atividade agrícola e industrial é grande afetando as características hidromorfológicas dos rios (Azlak et al., 2017).

A hidrologia, a continuidade dos rios e as condições morfológicas são os três elementos principais que se devem de ter em conta na avaliação da qualidade hidromorfológica do rio segundo a Diretiva Quadro da Água (Hajdukiewicz et al., 2017). Além disso, a avaliação hidromorfológica também compreende as margens dos rios e a zona ripária.

As zonas ripárias definem-se como a transição entre os ecossistemas terrestres e os ecossistemas aquáticos. Estas zonas são importantes na filtração da água que entra no rio (Svejcar, 1997).

De acordo com Tánago & Jalón (2006) existem sete atributos das zonas ripárias a serem considerados na avaliação da qualidade ecológica da zona ripária: a continuidade longitudinal da vegetação natural ripária (espécies lenhosas), as dimensões laterais (largura) da planície de inundação com vegetação ribeirinha (espécies lenhosas e macrófitas), a composição e estrutura da vegetação ripária, a regeneração natural de espécies lenhosas, as condições das margens dos rios, a conectividade lateral e a permeabilidade dos solos ripários (Fig. 7A e B).

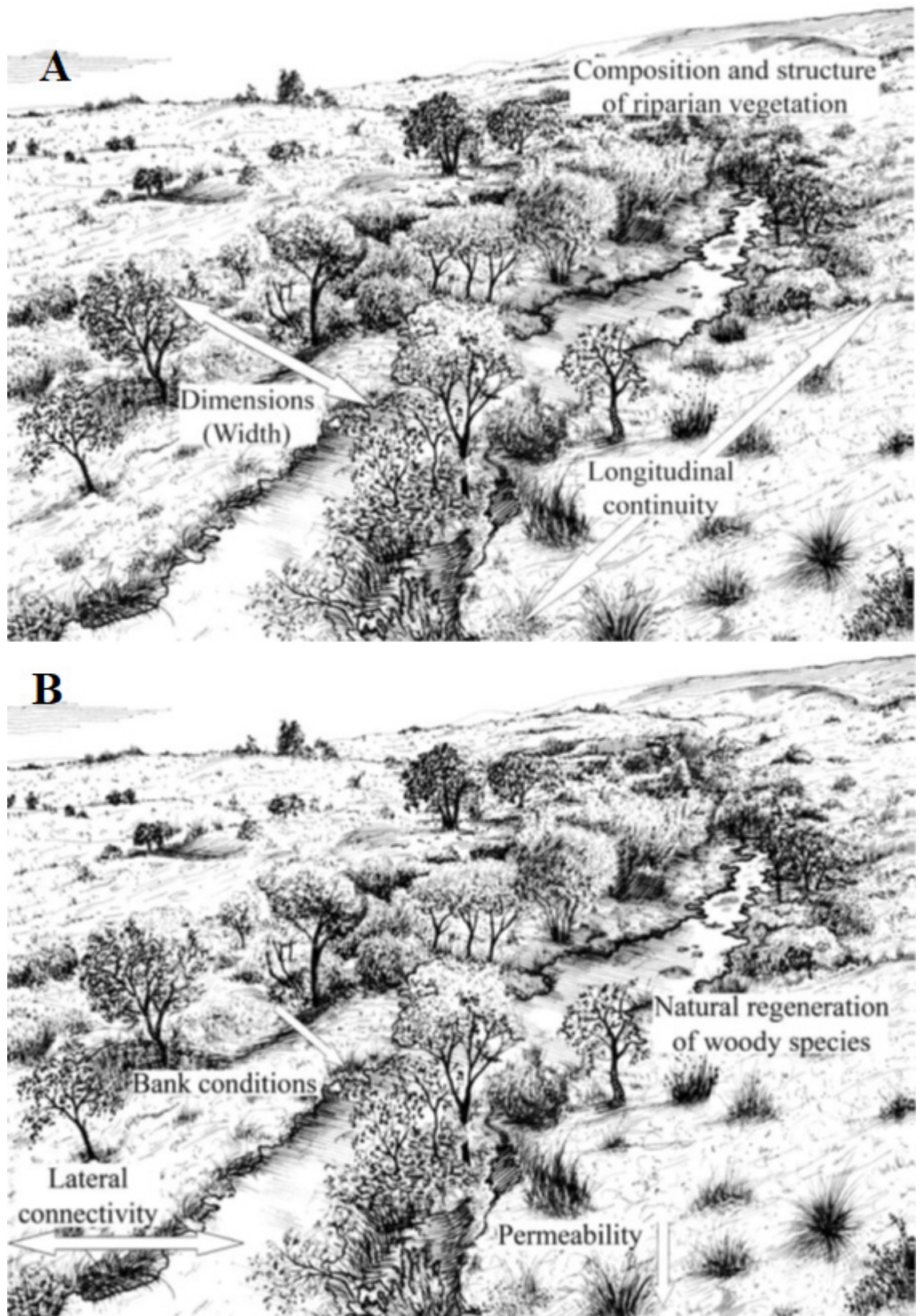


Figura 7 - Sete atributos para avaliação da qualidade ecológica da zona ripária. A) Atributos físicos; B) Atributos ecológicos e hidrológicos (Tánago & Jalón, 2006).

Para avaliar a qualidade hidromorfológica dos rios podem ser utilizados diversos índices tais como o Índice de Habitat Fluvial (IHF), o Índice de Qualidade do Bosque Ripário (QBR) ou o Índice de Funcionalidade Fluvial (IFF). Estes índices estão descritos mais pormenorizadamente no Capítulo II – Materiais e Métodos.

1.6. A aplicação de métricas funcionais

Existe uma escassez do uso de métricas funcionais nos esquemas de biomonitorização principalmente devido ao facto das legislações tal como a DQA se centrar em métricas estruturais. É importante ressaltar que as métricas estruturais e as métricas funcionais se complementam e fornecem uma maior informação sobre o estado ecológico dos rios (Friberg et al., 2011).

No entanto, nos últimos anos tem havido uma tentativa da integração de medidas funcionais nos programas de biomonitorização juntamente com as medidas estruturais (Woodward et al., 2013).

As métricas funcionais poderão ser a luminescência das bactérias (Schwedt et al., 1997), assimetria flutuante (Hardersen, 2000), fotossíntese (Hill et al., 1997), atividade locomotora (Gerhardt et al., 1998), estrutura das comunidades (Spurgeon & Hopkin, 1999) ou taxas de decomposição de folhas (Gessner & Chauvet, 2002).

A inclusão de medidas funcionais na biomonitorização dos rios pode resultar em vários benefícios originando um quadro mais amplo na avaliação da saúde do ecossistema de água doce. De acordo com Matthews et al. (1982) um ecossistema pode responder de três maneiras diferentes a um “stressor” induzido pelo homem: alteração da estrutura do ecossistema sem alteração nos parâmetros funcionais (por exemplo, a estrutura da comunidade de macroinvertebrados a jusante duma fonte de poluição pode ser diferente da estrutura da comunidade de macroinvertebrados a montante enquanto que não há diferenças na taxa de decomposição das folhas quer numa comunidade quer noutra); alterações no funcionamento dos ecossistemas sem haver alterações estruturais; alterações nos componentes estruturais e funcionais.

Outras vantagens do uso de métricas funcionais incluem: flexibilidade no tipo de habitat a avaliar; podem ser feitas comparações entre regiões com diferentes biogeografias uma vez que não há dependência de um conjunto específico de espécies para medir processos do ecossistema; mais económicos, maior sensibilidade e menos morosos do que certas métricas estruturais (Young et al., 2004).

1.6.1. Decomposição das folhas

A decomposição das folhas pode ser uma medida ideal visto que liga as características da vegetação ribeirinha com a atividade microbiana e dos macroinvertebrados (Young et al., 2004).

Os estudos de decomposição das folhas permitem aos ecólogos medirem as taxas de decomposição em diferentes ambientes. Por isso, as relações “decomposição das folhas-detrítivos” têm sido bastante estudadas pelos limnólogos para melhor compreendermos o papel dos microrganismos nesse processo e a sua ecologia (Graça, 2001).

A matéria orgânica alóctone é considerada uma fonte de energia importante para as teias alimentares existentes nos ribeiros. A decomposição das folhas permite a reciclagem dos nutrientes que voltam às suas formas orgânicas e as porções recalcitrantes podem ser armazenadas por longos períodos (Boyero et al., 2016).

As bactérias e os fungos (especialmente os hifomicetos aquáticos) são importantes nos fluxos de energias em ecossistemas lóticos (Gulis & Suberkropp, 2003). Estes microrganismos aquáticos heterotróficos têm um papel importante na mineralização da matéria orgânica e torna-la mais palatável e reduz a tenacidade das folhas facilitando a alimentação dos macroinvertebrados trituradores promovendo, assim, a decomposição das folhas (Iñiguez-Armijos et al., 2016).

Portanto, a decomposição resulta da mineralização e transformação física (lixiviação, abrasão e fragmentação) e biológica, originando CO₂ entre outros compostos inorgânicos, dissolvidos (DOM) e matéria orgânica particulada fina (FPOM) (Peterson & Cummins, 1974).

1.6.1.1. Etapas da decomposição

O processo de decomposição das folhas pode ser descrito em três fases que ocorrem ao mesmo tempo: a lixiviação, o condicionamento e a fragmentação por ação física e biológica (Momolli et al, 2013; Mesquita, 2003) (Fig. 8).

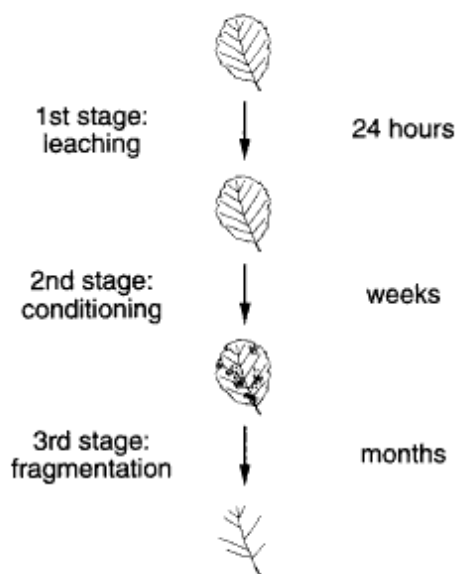


Figura 8 - As três etapas da decomposição das folhas (Gessner et al., 1999).

A lixiviação dos nutrientes dissolvidos das folhas pode ocorrer tanto nas primeiras 24 horas como pode durar até 15 dias. As substâncias lixiviadas podem ser compostos orgânicos tais como os açúcares, ácidos orgânicos, proteínas, compostos fenólicos como inorgânicos (como Ca, K, Mg) (Gimenes et al., 2010). As proteínas, os ácidos orgânicos e os açúcares são os últimos componentes a serem lixiviados. Estes são os compostos energéticos necessários para que os microrganismos decomponham compostos recalcitrantes como a lenhina e a celulose. (Ibrahima et al., 1995). A lixiviação depende essencialmente da espécie vegetal, do clima e da morfologia do rio (Gessner et. al, 1999).

O condicionamento é a etapa onde ocorre a colonização das folhas pelos microrganismos. Esses microrganismos incluem os fungos e as bactérias sendo que os fungos são mais importantes do que as bactérias nas fases iniciais deste processo em termos da biomassa e na sua atividade (Gimenes et al., 2010). As enzimas dos fungos quebram os polímeros estruturais das células vegetais e os fungos assimilam e convertem a matéria orgânica em CO₂ e biomassa enquanto que as bactérias têm um papel mais importante em fases mais tardias da decomposição uma vez que preferem matéria orgânica particulada fina (FPOM). De acordo com Gessner et al., (1999) esta fase é a “preparação” da folha para o consumo pelos macroinvertebrados.

A fase fragmentação pode ocorrer de duas formas: a fragmentação biótica e a fragmentação física. A primeira resulta da degradação enzimática dos detritos vegetais pelos microrganismos e da alimentação dos macroinvertebrados trituradores e a segunda pode ocorrer devido à abrasão resultante da corrente do rio dependendo da velocidade da corrente, da turbulência e da resistência da folha (Mesquita, 2003; Gimenes et al., 2010).

1.6.1.2. Hifomicetos aquáticos na decomposição das folhas

A maioria dos hifomicetos aquáticos são fungos anamorfos que podem apresentar conídias hidrodinâmicas, sigmóides ou tetra radiados com capacidade de flutuação e de fixação a novos substratos (Ingold, 1975). Os hifomicetos aquáticos são os principais decompositores microbianos das folhas nos rios. Estes podem afetar os autotróficos (pela libertação de nutrientes inorgânicos), microrganismos heterotróficos e macroinvertebrados (pelo aumento da palatabilidade das folhas para os trituradores (Duarte et al., 2006).

A colonização dos detritos vegetais pelos hifomicetos aquáticos pode ocorrer de 3 formas: 1) contacto direto com o detrito, 2) fragmentos de hifas que são transportadas pela água e se fixam num substrato, 3) os esporos fixam-se na superfície dos detritos, no caso das folhas. A biomassa de fungos estabiliza ou decresce ligeiramente após atingir o seu valor máximo. Também são indicadores de impactos ambientais pelo facto da sua biomassa e da esporulação serem afetadas pelas condições ambientais (Pascoal et al., 2005).

1.6.1.3. Papel dos macroinvertebrados na decomposição das folhas

Os macroinvertebrados existentes nos rios podem-se classificar por grupos funcionais, segundo a sua forma de alimentação (Wallace & Webster, 1996; Lewis, 2014):

- i) Predadores: são espécies que se alimentam de outras espécies de macroinvertebrados no rio. A sua presença revela que há recursos suficientes para suportar uma teia alimentar;
- ii) Raspadores: alimentam-se das algas da superfície das rochas e vegetação ripária dependendo da produção autóctone;
- iii) Coletores: alimentam-se de partículas finas em depositadas em superfícies de substrato. Normalmente são os macroinvertebrados mais abundantes nos rios;
- iv) Filtradores: alimentam-se de matéria particulada fina (FPOM) em suspensão na coluna de água;
- v) Trituradores: alimentam-se de pedaços de matéria orgânica como as folhas previamente colonizadas por fungos e bactérias transformando a matéria orgânica particulada grossa (CPOM) em matéria orgânica particulada fina (FPOM). Alimentam-se, então, de material alóctone.

Graça (2001) aborda num artigo o papel dos macroinvertebrados na decomposição.

Os trituradores são dos organismos mais importantes na decomposição das folhas. Os trituradores incorporam alguns nutrientes na produção secundária e aceleram a fragmentação das folhas acelerando a taxa de decomposição.

Os autores referem que à exceção dos predadores todos os outros grupos funcionais podem funcionar como detritívoros da matéria orgânica resultante da decomposição. Macroinvertebrados tais como os pertencentes à ordem Amphipoda, Plecoptera, Trichoptera e à família Gammaridae, Tipulidae são trituradores típicos. O pico da densidade destes organismos corresponde aos picos de acumulação de matéria orgânica, independentemente da estação do ano. A seletividade dos macroinvertebrados pelo tipo de folhas depende da sua tenacidade, teor de nutrientes e a presença de componentes secundários das plantas. Estes também preferem folhas condicionadas pelos organismos microbianos.

Qualquer alteração dos recursos orgânicos no rio leva a problemas no desenvolvimento e crescimento destes macroinvertebrados. Quanto maior quantidade for a vegetação ripária mais detritos o rio terá disponível para estes macroinvertebrados (Mesquita, 2003).

1.6.1.4. Fatores que influenciam a decomposição das folhas

A decomposição das folhas é afetada por fatores externos e por fatores internos à própria folha.

Os fatores internos podem ser o conteúdo em lenhina da folha, quantidade de compostos fenólicos e a espécie de folhas (Mesquita, 2003; Mora-Goméz, 2014; Webster & Benfield, 1986). Alguns aspetos relevantes são:

- Conteúdo em lenhina da folha: normalmente um alto nível de lenhina diminui a taxa de decomposição devido ao facto de existir resistência da degradação enzimática dificultando o acesso dos microrganismos à celulose da folha
- Compostos fenólicos: estes compostos reagem com proteínas vegetais formando um complexo resistente à decomposição ou podem inibir a ação de enzimas degradativas.
- Espécies de folhas: diferentes plantas têm diferentes taxas de decomposição uma vez que têm diferentes constituintes nas folhas (Fig. 9)

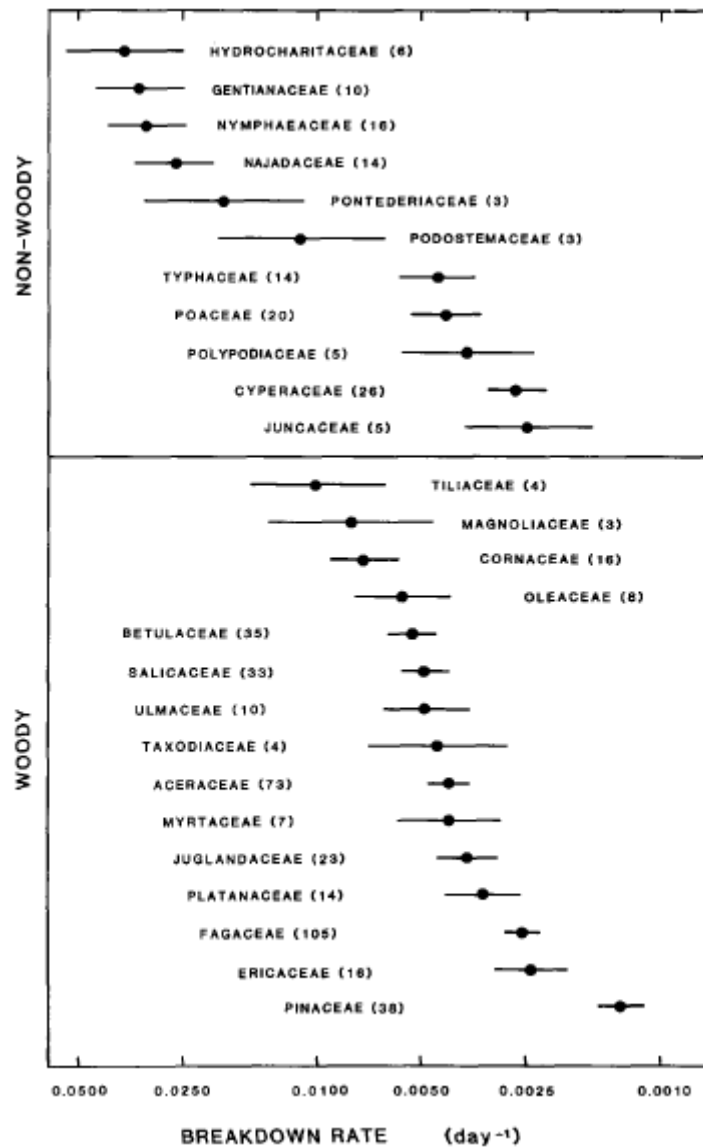


Figura 9 - Taxas de decomposição de algumas famílias de plantas lenhosas (Woody) e de plantas não lenhosas (Non-Woody) (Webster & Benfield, 1986).

Os fatores externos incluem o pH, a temperatura da água, a velocidade da corrente, oxigênio dissolvido, o local onde decorre a decomposição e concentração de nutrientes (Mesquita, 2003; Mora-Goméz, 2014; Webster & Benfield, 1986):

- pH: se um rio tiver águas com baixo valor pH pode retardar ou mesmo inibir a decomposição das folhas inibindo os organismos microbianos e os macroinvertebrados na decomposição. No entanto, valores de pH próximos da neutralidade ou ligeiramente alcalinos favorecem a atividade dos hifomicetos aquáticos e estimulam a decomposição.

- Temperatura: altas temperaturas da água favorecem a decomposição das folhas pelo incremento da atividade microbiana. No entanto, a abundância de fungos nas folhas varia sazonalmente.
- Concentração de nutrientes: uma alta concentração de nutrientes (nomeadamente Azoto e Fósforo) favorece a decomposição das folhas pelo aumento da atividade dos fungos.
- Velocidade da corrente: a velocidade da corrente do rio acelera a decomposição da folhada pela abrasão gerada pela água nas folhas.
- Local: o local onde ocorre a decomposição também afeta a taxa de decomposição. Esta é maior nos ecossistemas de água doce comparativamente aos ecossistemas terrestres.
- Oxigénio dissolvido: A decomposição ocorre mais lentamente em condições anaeróbias do que em condições aeróbias,

1.7. Biomonitorização em Portugal

Em Portugal, existem cada vez mais ações de biomonitorização dos rios e a utilização de índices bióticos (Piairo, 2013). O projeto AQUARIPORT é um dos programas nacionais e serve como base ao Programa Nacional de Monitorização de Sistemas Aquáticos. Tem como objetivos: a recolha de informação de suporte ao ordenamento dos recursos piscícolas em Portugal e a implementação de índices bióticos que permitam a avaliação da qualidade ecológica de rios segundo a DQA (Teixeira et al., 2007). Em 2009, o Instituto da Água, I.P. (INAG) abordou no seu artigo os critérios para a classificação do estado das massas de água superficiais. Este leva em conta o estado ecológico dentro dos quais se avaliam os elementos de qualidade biológica (como a flora aquática, os macroinvertebrados e a fauna piscícola), os elementos de qualidade físico-químicos gerais e os elementos de qualidade hidromorfológica bem como o estado químico. Assim obtém-se uma classificação final do estado da massa de água (INAG, 2009) (Fig. 10).

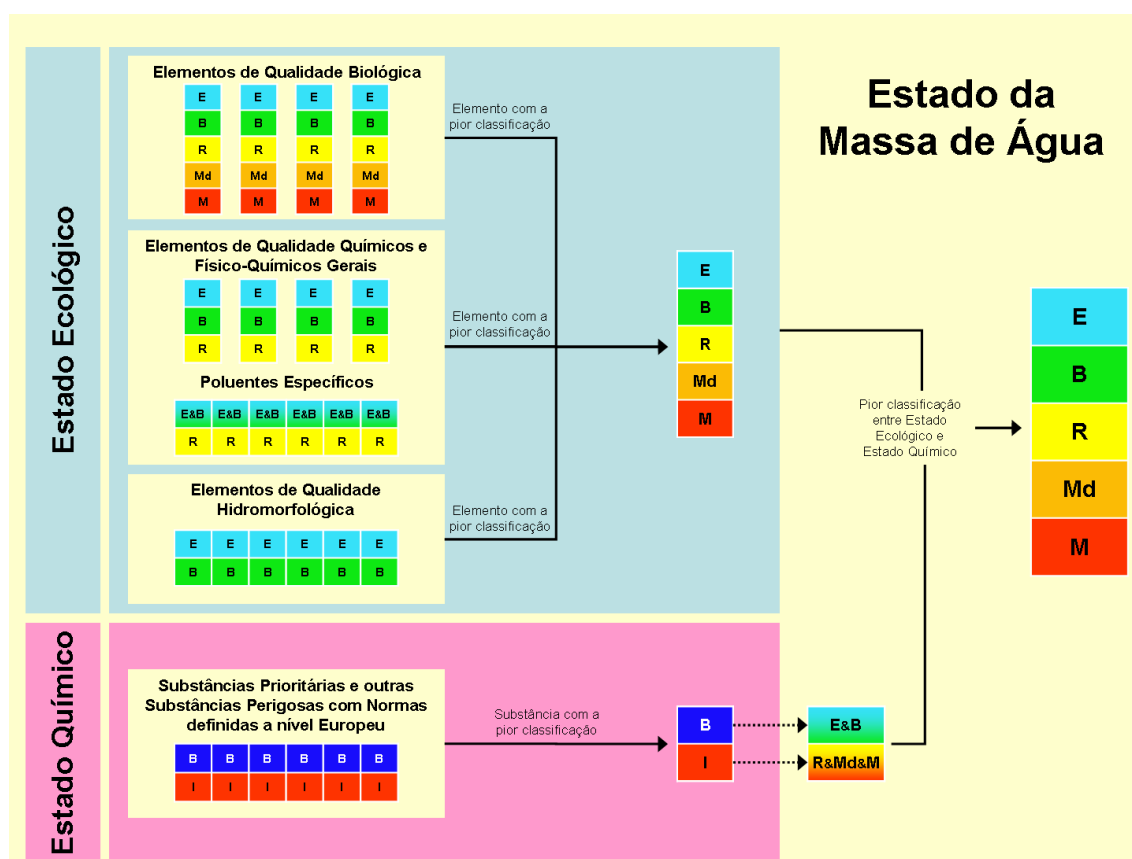


Figura 10 - Sistema de classificação do estado das massas de água (INAG, 2009).

2. Estrutura e objetivos da tese

Esta dissertação focou-se principalmente em três aspetos principais:

- i. Avaliação da qualidade ecológica do rio Este utilizando métricas tradicionais estruturais e funcionais num rio urbanizado e canalizado com problemas de poluição. Para isso foram recolhidas amostras em 9 locais em duas campanhas: no Outono de 2016 e na Primavera de 2017;
- ii. Vantagens e desvantagens das métricas estruturais e funcionais: comparação entre as duas e quais as informações que estas métricas nos dão;
- iii. Avaliar a intervenção de reabilitação fluvial.

Deste modo, espera-se que este trabalho sirva para que futuros trabalhos de biomonitorização sejam feitos de forma eficiente e com menor custo tendo em vista obter o máximo de informação e, por ser uma primeira abordagem quanto às melhorias (ou não) ocorridas no troço que sofreu uma reabilitação fluvial no rio Este, esta caracterização seja feita em futuros trabalhos para se determinar se a reabilitação surtiu algum efeito.

Este trabalho encontra-se dividido em quatro capítulos:

No primeiro capítulo – a Introdução, são apresentados os métodos, índices e bioindicadores utilizados da biomonitorização. São apresentados desde os métodos estruturais tradicionais aos métodos funcionais, a diretiva quadro da água e as perspetivas da biomonitorização para o futuro.

No segundo capítulo – Avaliação da qualidade ecológica do rio Este, onde são caracterizados os parâmetros físico-químicos, parâmetros hidromorfológicos e os parâmetros biológicos (dados pelos macroinvertebrados). Assim permite perceber quais os efeitos que um rio urbanizado e canalizado provoca num ecossistema aquático e a caracterização do grau de poluição do rio seguindo as métricas estruturais. É avaliada, também, a intervenção de reabilitação ocorrida num dos pontos.

No terceiro capítulo – Decomposição de folhas de Amieiro (*Alnus Glutinosa*) no rio Este: efeito dos fungos aquáticos e dos macroinvertebrados, onde é analisada a dinâmica de colonização e de decomposição das folhas de Amieiro por fungos aquáticos e pelos macroinvertebrados. Assim permite perceber quais os efeitos que um rio canalizado e poluído provoca na funcionalidade de um ecossistema aquático e perceber que tipos de informações as métricas funcionais nos dão.

No quarto capítulo – Perspetivas futuras e Conclusão, são analisadas algumas técnicas de biomonitorização que poderão ser utilizadas no futuro e é feita uma comparação sobre o uso das

métricas estruturais e funcionais, determinando as vantagens e desvantagens de cada uma e qual é que nos permite avaliar melhor a qualidade de um rio.

Capítulo II

3. Avaliação da qualidade ecológica do rio Este

3.1. Introdução

A urbanização crescente junto aos rios é uma ameaça aos ecossistemas. Os rios urbanos definem-se como rios em que uma parte da bacia hidrográfica consiste numa área de desenvolvimento onde a área combinada de estradas, superfícies pavimentadas e casas resulta numa área de superfície impermeável que caracteriza mais de 10% da bacia (Findlay & Taylor, 2016).

Os rios urbanos têm papéis ecológicos e sociais importantes dentro de sistemas urbanos mais amplos. A urbanização começou historicamente nos locais onde os principais recursos e serviços são encontrados como água, comida e transportes que permitiram o movimento de pessoas e bens. No entanto, esta urbanização provocou a degradação dos habitats ripários e declínio da qualidade ecológica dos rios bem como perdas de biodiversidade. Contudo, os rios urbanos continuam a ser importantes na identidade de várias cidades como por exemplo o rio Tamisa em Londres, o rio Sena em Paris, o rio Hudson em Nova Iorque e o rio Yarra em Melbourne (Francis, 2012).

A urbanização provoca, também, outras alterações nos rios ao nível da hidrologia, geomorfologia e temperatura e outros problemas tais como a presença de metais pesados e poluição orgânica que vão afetar a vida humana e dos seres vivos aí existentes (Paul & Meyer, 2001).

Tem havido cada vez maior preocupação com a urbanização dos rios por parte dos pesquisadores conforme ilustrado na figura 11.

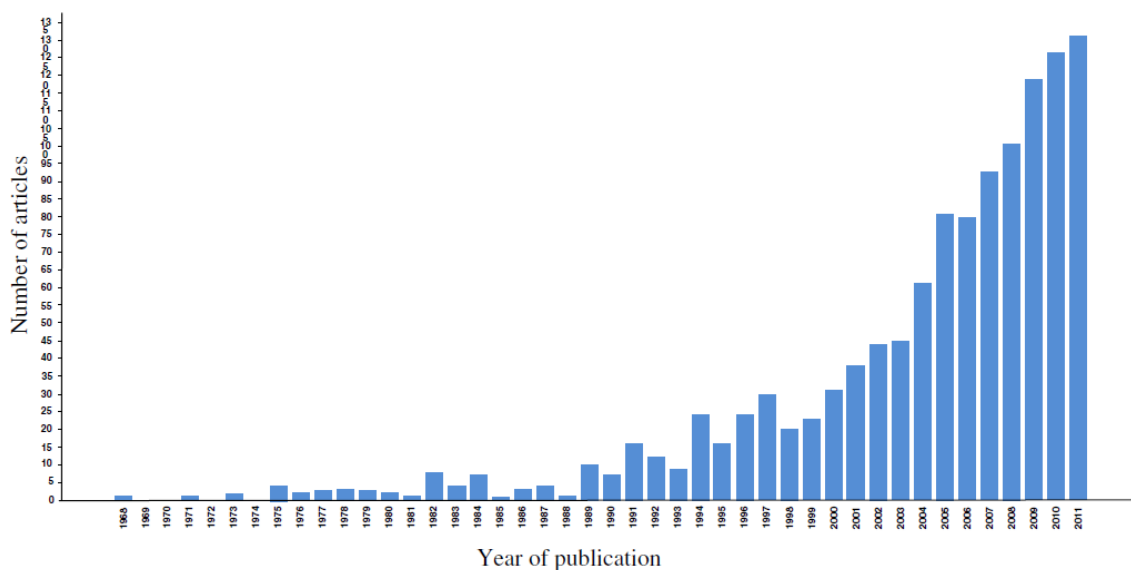


Figura 11 - Publicações que incluem o termo "rios urbanos" até ao ano de 2011 (Francis, 2012).

As obras fluviais de restauro, requalificação e reabilitação surgem, assim, como medidas necessárias devido à alteração dos ecossistemas fluviais e assim mitigar esses efeitos.

Teiga (2003) refere que existem diferenças entre o restauro, a requalificação e a reabilitação fluvial uma vez que no meio científico existe alguma confusão entre estes três conceitos. O restauro fluvial consiste em medidas que repõe a condição inicial do sistema retirando os elementos que danificam o sistema. A requalificação fluvial consiste na implementação de uma técnica num determinado local que não é integrada no contexto global do sistema. A reabilitação fluvial consiste em retomar ou aproximar os ecossistemas no sentido do estado inicial tendo em consideração os valores culturais e aplicada num processo ponderado e regrado num âmbito alargado seguindo objetivos definidos.

Teiga et al. (2009) desenvolveram uma metodologia de avaliação de projetos de reabilitação fluvial.

Estes desenvolveram uma série de indicadores que permitem caracterizar a qualidade do processo de reabilitação fluvial sugerindo uma metodologia que avalia o projeto quer na fase de licenciamento quer quanto ao seu enquadramento legal.

Basearam-se essencialmente em três tipologias de indicadores: Indicadores gerais de projeto (IGP), indicadores de caracterização técnica (ICT) e indicadores de avaliação das medidas propostas (IAMP). A cada um destes três indicadores atribui-se uma pontuação de 0 (se o indicador não for referido no projeto), 1 (se forem analisados menos de 50% dos parâmetros necessários ou se análise não é adequada), 2 (se forem analisados entre 50% a 90% dos parâmetros necessários ou análise é incompleta) e 3 (se forem analisados mais de 90% dos parâmetros necessários de uma forma correta e completa).

Os IGP são os indicadores mais gerais do projeto e que devem ser referidos no mesmo onde se encontram os objetivos do projeto, os problemas existentes, os seus custos e os seus destinos, a seleção adequada da equipa a trabalhar para cada área, a qualidade do documento do projeto e a caracterização da população envolvente.

Os ICT são os indicadores que analisam a caracterização feita do sistema ribeirinho e a obtenção do problema para se proceder à elaboração de medida. Esta caracterização pode ser de ordem ecológica, biológica, hidromorfológica, etc. e deve ser executada por equipas especializadas em cada área. Para esta investigação, foram construídos cinco grupos de tipologias de intervenção: a requalificação do canal e margens (RC/M), a melhoria do espaço de lazer e paisagem (MELP), a melhoria da qualidade da água (MQA), a melhoria da condição do habitat (MCH) e o controlo de cheias (CC). Para cada tipologia de intervenção são sugeridos vários indicadores.

Como normalmente num projeto de reabilitação fluvial se costuma elaborar e propor medidas para implementar no sistema ribeirinho e desta forma contribuir para a resolução dos problemas, desenvolveram-se os IAMP. Estes indicadores avaliam as técnicas propostas de forma conjunta e avaliam se as medidas correspondem ao objetivo, se se adequam à especificidade do sistema fluvial e individualidade do troço a reabilitar e se existem cálculos justificativos respeitando a especificidade do projeto (condicionantes e objetivos).

Um dos autores do artigo acima, Pedro Teiga, esteve por dentro das obras de requalificação dum troço do rio Este, em Braga, que ocorreram no ano de 2016 com uma duração de 9 meses onde foram utilizadas técnicas de engenharia natural.

Atualmente - e com o passar do anos - desde que a reabilitação fluvial foi feita torna-se importante avaliar se essas obras tiveram algum efeito positivo no ecossistema fluvial.

O objetivo do trabalho deste capítulo é avaliar a qualidade ecológica do rio Este (rio urbanizado) utilizando os métodos estruturais e tradicionais usando os macroinvertebrados, avaliar que tipo de informações estas métricas largamente utilizadas na biomonitorização nos fornecem e avaliar a intervenção de reabilitação fluvial ocorrida num dos pontos.

3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Enquadramento da área em estudo

O rio Este faz parte da bacia hidrográfica do Ave (Fig. 12) abrangendo os concelhos de Braga, Barcelos, Vila Nova de Famalicão, Póvoa de Varzim e Vila do Conde. Esta bacia localiza-se numa das zonas mais pluviosas do país com uma precipitação de cerca de 1800 mm (Vieira, 2000). Com uma extensão de cerca de aproximadamente 55,5 km e uma área de drenagem de

cerca de 247 km² (Veloso, 2014), o rio nasce a cerca de 460 m de altitude na Serra do Carvalho (freguesia de São Mamede de Este, em Braga) e desagua na margem direita do rio Ave, na freguesia de Touguinhó em Vila do Conde.

A zona da Serra da Cabreira (onde nasce o rio Este) possui alguns elementos de interesse nomeadamente alguns habitats, fauna e flora. Estes elementos possuem algumas ameaças/impactos devidamente catalogados. (Gomes et al., 2001).

A área do rio Este é predominantemente agrícola com uma alta densidade demográfica passando por zonas com indústrias têxteis, metalúrgica e metalomecânicas.

Por esta mesma razão, o rio Este vem sofrendo de poluição quer industrial quer doméstica.

Estudos analíticos sugerem que existe uma contaminação do rio por metais pesados, principalmente por zinco, cobre e cádmio (Duarte et al., 2004; Soares et al., 1999).

Os nitratos e nitritos existentes no rio Este contêm valores altos apresentando também uma alta taxa de condutividade (Gomes et al., 2001).

O rio Este também apresenta um foco de poluição proveniente da estação de tratamento de águas residuais (ETAR) de Celeirós que foi feita para o tratamento de efluentes industriais do parque industrial de Celeirós (Vieira, 2000).

Deste modo, os estudos feitos no rio Este relatam uma qualidade da água medíocre e contribuindo para o mau estado ecológico geral existente no rio Este (Vieira, 2000; Silva et al., 2012).



Figura 12 - Rede hidrográfica do Ave com representação do rio Este (adaptado: SNIR - apambiente).

3.2.2. Locais de amostragem

Para a realização da amostragem e caracterização dos parâmetros físico-químicos da água foram escolhidos 9 pontos ao longo do rio Este que foram divididos em duas campanhas: uma no Outono e a outra na Primavera.

Os nove locais escolhidos foram: 1) nascente do rio Este; 2) Este (São Pedro); 3) Opel; 4) Hotel Meliã; 5) INL; 6) Rodovia; 7) Rua Engenheiro Afonso José Fonseca; 8) Bosch; 9) Vimieiro (Fig. 13) (Tabela 2).

- E1, Nascente do rio Este: localizado na serra do Carvalho em S. Mamede de Este. A amostragem foi feita a alguns metros de distância da nascente. Foi feita uma amostragem a montante e outra amostragem a jusante. É composto maioritariamente por substratos líticos e contém detritos de madeira e CPOM.
- E2, Este (São Pedro): localiza-se a cerca de 2,5 km da nascente. Neste troço o rio apresenta-se com partes canalizadas e localiza-se entre terrenos agrícolas e casas. Possui uma grande quantidade de macrófitas aquáticas.
- E3, Opel: localiza-se a cerca de 5 km da nascente. Neste troço o rio está completamente canalizado e não possui quase vegetação nenhuma.
- E4, Hotel Meliã: localiza-se a 6 km da nascente. A amostragem foi feita dentro do hotel onde passa um pequeno troço do rio. Neste troço o rio foi alvo de restauro sob técnicas de engenharia hidráulica tradicional.
- E5, INL: localiza-se a cerca de 6,4 km da nascente. A amostragem efetuada em zonas de águas lentas (pool) e rápidas (riffles). Neste troço do rio foi feita uma restauração sob técnicas de engenharia natural. Na sua margem esquerda possui uma ciclovia e vegetação ainda em fase de crescimento.
- E6, Rodovia: localiza-se a cerca de 6,7 km da nascente. Este local insere-se no complexo desportivo da Rodovia sendo bastante frequentado pelas pessoas. Possui algumas macrófitas aquáticas.
- E7, Rua Engenheiro Afonso José Fonseca: localiza-se a cerca de 7,4 km da nascente. A amostragem efetuada em zonas de águas lentas (pool) e rápidas

(riffles). Neste troço do rio foi feita uma restauração sob técnicas de engenharia hidráulica tradicional. Na sua margem direita possui uma ciclovia.

- E8, Bosch: localiza-se a cerca de 10 km da nascente. O troço do rio amostrado localiza-se depois da Bosch. Possui uma grande degradação do canal e bastante poluição.
- E9, Vimieiro: localiza-se a cerca de 14 km da nascente. Situa-se após o parque industrial de Celeirós. Foi o local escolhido para dar uma ideia do grau de qualidade ecológica na saída da cidade. O canal não possui quase intervenção humana sendo rodeado por campos agrícolas e uma ponte.

Tabela 2 – Latitude e longitude dos locais de amostragem.

Locais	Latitude	Longitude
E1	41,5791	-8,3326
E2	41,5723	-8,3598
E3	41,5612	-8,3863
E4	41,5566	-8,3958
E5	41,5545	-8,3994
E6	41,5526	-8,4031
E7	41,5491	-8,4073
E8	41,5315	-8,4383
E9	41,5008	-8,4623



Figura 13 - Locais de amostragem do rio Este. A) Nascente, B) Este (São Pedro), C) Opel, D) Hotel Meliã, E) INL, F) Rodovia, G) Rua Engenheiro Afonso José da Fonseca, H) Bosch, I) Vimieiro.

3.2.3. Medição dos parâmetros físico-químicos

A temperatura, o pH, a condutividade e o oxigênio dissolvido foram medidos *in situ* (Multi 340i/SET, WTW) e foram coletadas amostras da água do rio em garrafas plásticas para a determinação dos nitratos (HACH kit, programa 353), nitritos (HACH kit, programa 371), amônia (HACH kit, programa 385) e fosfatos (HACH kit, programa 490) no laboratório (Fig. 14).

As medições *in situ* e no laboratório foram realizadas no Outono e na Primavera nos 9 locais.



Figura 14 - Medição dos parâmetros físico-químicos no laboratório.

3.2.4. Caracterização hidromorfológica

Nos locais E1, E2, E3, E5, E8 e E9 foi feita uma caracterização hidromorfológica do rio recorrendo ao Índice de Habitat Fluvial, Índice de Qualidade do Bosque Ripário e Índice de Funcionalidade Fluvial. Assim foi avaliado o estado dos habitats e das zonas ripárias.

3.2.4.1. Índice de Habitat Fluvial (IHF)

O Índice de Habitat Fluvial (IHF) avalia a capacidade de um habitat físico para obter uma determinada fauna (Sánchez Montoya, 2009) pelas suas características físicas tais como: as condições hidrológicas, a composição do substrato, sombras e vegetação aquática. A sua pontuação varia de 0 a 100 e existe maior qualidade dos valores perto de 100. As tabelas presentes em Jáimez-Cuellar et. al. (2002) demonstram os procedimentos práticos a ter em conta para a aplicação do IHF e a interpretação dos valores (Anexo I).

3.2.4.2. Índice de Qualidade do Bosque Ripário (QBR)

Este índice foi originado por (Munné et al., 1998) e avalia o grau de cobertura vegetal ripária, a estrutura vertical da vegetação, a qualidade e diversidade da cobertura vegetal ripária e o grau de naturalidade do canal de água. As características ecológicas e geomorfológicas são expressas quantitativamente, traduzindo uma classe de qualidade. Tal como o IHF, atribui-se uma pontuação de 0 a 100 (melhor qualidade) (Tabela 3).

Tabela 3 - Classes de qualidade do QBR (adaptado: Munné et al., 1998).

Nível QBR	QBR	Cor
Bosque ripário na sua condição natural	≥ 95	Azul
Algum distúrbio, boa qualidade	75-90	Verde
Distúrbio significativo, qualidade razoável	55-70	Amarelo
Muita alteração, má qualidade	30-50	Laranja
Degradação extrema, muito má qualidade	≤ 25	Vermelho

3.2.4.3. Índice de Funcionalidade Fluvial (IFF)

Também se usou o índice de funcionalidade fluvial (IFF) (Siligardi et al., 2007) para caracterizar os elementos de qualidade hidromorfológica de um rio. Este índice avalia o ecossistema do rio como um todo e identifica as suas características físico-morfológicas para

avaliar o estado do rio. É composto por 14 perguntas à qual existem 4 respostas com pontuações. É calculado para cada lado do curso de água e tem uma pontuação mínima de 14 e máxima de 300. Essa pontuação é transformada numa classificação de “I” (melhor qualidade) a “V” (pior qualidade) (Tabela 4).

Tabela 4 - Níveis de funcionalidade divididos em diferentes categorias (Adaptado: Siligardi et al, 2007).

Valor IFF	Nível de funcionalidade	Avaliação da funcionalidade
261-300	I	Alto
251-260	I-II	Alto-bom
201-250	II	Bom
181-200	II-III	Bom – moderado
121-180	III	Moderado
101-120	III-IV	Moderado – escasso
61-100	IV	Escasso
51-60	IV-V	Escasso – mau
14-50	V	Mau

3.2.5. Amostragem, triagem e identificação de macroinvertebrados bentônicos

A amostragem de macroinvertebrados bentônicos foi feita recorrendo ao uso de uma rede de mão. Foram feitos arrastos durante 1 minuto abrangendo uma boa representatividade do local com o uso dos pés para remover os sedimentos e assim levar os organismos para dentro da rede de mão.

O material foi colocado dentro de sacos plásticos e transportados até ao laboratório dentro duma geladeira.

No laboratório, foi feita uma lavagem do material num crivo com cerca de 500 µm de diâmetro retirando assim o material em excesso e colocado num tabuleiro com uma pequena quantidade de água para proceder à triagem.

Os macroinvertebrados triados foram colocados em tubos Falcon contendo álcool etílico com uma pureza absoluta de 99,8% e foram identificados e contados à lupa (Leica Zoom 2000 e Leica S8 APO) (Fig. 15).

Estes foram identificados até ao nível taxonómico da família segundo Tachet et al. (2000).



Figura 15 - Um exemplar dum macroinvertebrado identificado da família Tabanidade recorrendo à lupa Leica S8 APO.

3.2.6. Índices bióticos, de diversidade e multivariados

Na determinação do estado ecológico do rio Este, utilizaram-se as seguintes métricas e índices:

- **Índice Português de Invertebrados do Norte (IPt_N):** indicador utilizado para a classificação da qualidade ecológica da água utilizando macroinvertebrados bentónicos segundo a Directiva Quadro da Água para diferentes tipologias de rios do Norte de Portugal. (INAG, 2009; INAG, 2008).

$$\text{IPt}_N = \text{N}^\circ \text{ Taxa} \times 0,25 + \text{EPT} \times 0,15 + \text{Evenness} \times 0,1 + (\text{IASPT} - 2) \times 0,3 + \text{Log} (\text{Sel. ETD}+1) \times 0,2$$

Em que:

- EPT - N° de famílias pertencentes às ordens Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera;
- Evenness - Índice de Pielou ou Equitabilidade;
- IASPT - ASPT Ibérico, que corresponde ao IBMWP dividido pelo n° de famílias incluídas no cálculo do IBMWP;
- Log (Sel. ETD+1) - Log₁₀ de 1 + soma das abundâncias de indivíduos pertencentes às famílias Heptageniidae, Ephemeridae, Brachycentridae, Goeridae, Odontoceridae, Limnephilidae, Polycentropodidae, Athericidae, Dixidae, Dolichopodidae, Empididae, Stratiomyidae;
- Log (Sel. EPTCD) - Log₁₀ de 1 + soma das abundâncias de indivíduos pertencentes às famílias Chloroperlidae, Nemouridae, Leuctridae, Leptophlebiidae, Ephemerellidae, Philopotamidae, Limnephilidae, Psychomyiidae, Sericostomatidae, Elmidae, Dryopidae, Athericidae.

Neste cálculo são feitas duas fases de normalização: uma antes das métricas serem multiplicadas pelo fator de ponderação e depois do somatório das métricas ponderadas. Assim, o valor final do IPt_N é dado em Rácios de Qualidade Ecológica (RQE). As normalizações são originadas a partir do quociente entre o valor observado e o valor de referência para cada tipologia de rio (INAG, 2009).

O rio Este insere-se na tipologia de rios de média-grande dimensão (INAG, 2008).

Assim sendo, os valores de qualidade possíveis em RQE podem ser Excelente, Bom, Razoável, Mediocre e Mau (Tabela 5).

Tabela 5 - Mediana dos valores de referência e fronteiras para os rios do Norte de Média-Grande Dimensão (adaptado de: INAG, 2009).

Tipologia do rio	Valor de referência	Exc./Bom (RQE)	Bom/Raz. (RQE)	Raz./Med. (RQE)	Med./Mau (RQE)
Rios do Norte de Média-Grande Dimensão	1,00	0,88	0,66	0,44	0,22

- **EPT:** Percentagem do nº de famílias pertencentes às ordens Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera;
- **1-GOLD:** Abundância relativa de indivíduos pertencentes às famílias Gastropoda, Oligochaeta e Diptera subtraídas por 1;
- **LOG (EPTD + 1):** Log da abundância dos indivíduos pertencentes às famílias Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera e Diptera;
- **OCH:** Soma do número de indivíduos pertencentes às famílias Odonata, Coleoptera, Heteroptera;
- **Índice de Shannon (H')**: reflete a diversidade de um determinado *taxa* numa determinada comunidade.

$$H' = - \sum p_i \ln p_i$$

Em que:

- $p_i = n_i/N$ ou seja, o nº de indivíduos de cada *taxon i* (n_i) dividido pelo nº total de indivíduos (N)
- **Índice de equitabilidade (J') de Pielou:** reflete a uniformidade e homogeneidade dos indivíduos em diferentes famílias.

$$J' = H' / \ln S$$

Em que:

- H' é o valor do índice de Shannon;
- S é o número de *taxa* presentes.

- **Iberian Biological Monitoring Working Party Score (IBMWP):** Para se determinar a integridade ecológica e o estado ecológico em cada um dos pontos amostrados recorreu-se ao índice de qualidade IBMWP (Alba-Tercedor & Sánchez Ortega, 1988; Alba-Tercedor et al., 2002). Este índice avalia até ao grupo taxonómico da família e a cada uma delas é dada uma pontuação seguindo um gradiente de 10 (maior pontuação) a 1 (menor pontuação) (Anexo II). Os organismos que têm maior pontuação são mais sensíveis à poluição e os que têm menor pontuação são mais tolerantes à poluição. Recolhidas as pontuações, soma-se cada uma delas e enquadra-se os resultados obtidos em cinco classes de qualidade obtendo-se uma classificação da qualidade da água do local amostrado (Tabela 6).

Tabela 6 - Classes de qualidade do IBMWP (Alba-Tercedor et al., 2002)

Valores	Classe	Significado
>100	I	Água limpa
61-100	II	Água com alguma contaminação
36-60	III	Água contaminada
16-35	IV	Água muito contaminada
<15	V	Água fortemente contaminada

- **Riqueza (S):** Número de famílias;
- **Abundância (N):** Número total de indivíduos;
- **Grupos funcionais alimentares (FFG):** Classificação baseada nos mecanismos comportamentais de aquisição de comida em vez de serem classificados taxonomicamente.
Os macroinvertebrados podem ser trituradores (*shredders*), raspadores (*scrapers*), predadores (*predators*), filtradores (*filters*) e coletores (*collector-gatherers*).

Para a análise multivariada, utilizou-se análise de correlação canónica (CCA) para determinar a relação existente entre os macroinvertebrados, os grupos funcionais alimentares e os índices de diversidade em relação às variáveis físico-químicas em cada local. Para esta análise utilizou-se o software Past v3.16 (Hammer et al., 2001) e o software R v3.1.2 (R Core Team, 2014).

Os gráficos dos parâmetros hidromorfológicos, abundância, riqueza de macroinvertebrados, diversidade de Shannon e equitabilidade de Pielou foram feitos recorrendo ao software GraphPad Prism v.6 (GraphPad Software, 2012).

3.3. Resultados

3.3.1. Caracterização dos parâmetros físico-químicos

Na tabela 7, estão representados os parâmetros físico-químicos obtidos nas duas campanhas realizadas (Outono de 2016 e Primavera de 2017) bem como os valores de referência para alguns parâmetros.

Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos medidos *in situ* e no laboratório no Outono de 2016 (AU) e na Primavera de 2017 (SP) e os seus limites máximos para o estabelecimento do bom estado ecológico do rio.

Parâmetros F.Q.	OUTONO / PRIMAVERA									Limites máximos
	E1SP	E2AU / E2SP	E3AU / E3SP	E4SP	E5AU / E5SP	E6SP	E7SP	E8AU/E8SP	E9AU / E9SP	
Temperatura (°C)	14	17,6 / 15,4	17,8 / 15,5	16,9	19 / 18	17,8	19,4	19,9 / 18,2	17,9 / 16,8	
pH	6,96	6,79 / 6	7,2 / 6,03	7,22	7,12 / 6,5	7,12	7,12	7,8 / 6,25	7,7 / 6,2	6-9
Condutividade (µS/cm)	40	86 / 63	120 / 91	113	143 / 106	120	138	173 / 139	180 / 155	
Taxa de Saturação em O ₂ (%)	106	91 / 93,3	100,1 / 109,3	69,9	81,7 / 118,1	85,8	105,8	86,8 / 110,4	93,9 / 95,2	60%-120%
Oxigénio Dissolvido (mg/L)	10,76	7,5 / 9,2	9,4 / 10,5	6,71	8,4 / 11,7	8,07	9,61	7,53 / 10,31	9,4 / 9,2	
Azoto Amoniacal (mg/L NH ₃)	0	0 / 0,05	0,146 / 0,16	0,171	0,281 / 0,33	0,244	0,024	0,512 / 0,193	0,183 / 0,80	≤ 1 mg NH ₄ /L
Fósforo (mg/L P)	0,018	0,007 / 0,05	0,037 / 0,019	0,07	0,077 / 0,02	0,117	0,042	0,11 / 0,01	0,16 / 0,03	≤ 0,10 mg P/L
Nitratos (mg/L NO ₃)	0	9,24 / 17,4	10,56 / 32,9	12,32	10,56 / 34,9	11,44	6,002	14,08 / 48,4	11,44 / 56,1	≤ 25 mg NO ₃ /L

Verificou-se que há um aumento progressivo da temperatura de montante para jusante sendo que no último ponto (E9) onde a temperatura foi mais baixa quer no Outono quer na Primavera. No Outono, as temperaturas situam-se entre os 17,6 °C e os 19,9 °C e na Primavera situam-se entre os 14 °C e os 19,4 °C

O pH medido nos locais de amostragem estava dentro dos valores de referência à exceção do E2SP com um pH de 5,95 o que poderá ter sido um erro de medição.

A condutividade aumentou de montante para jusante. No Outono variou entre valores de 86 µS/cm no ponto E2AU e de 180 µS/cm no ponto E9AU. Na Primavera, o valor da condutividade foi aumentado desde o ponto E1SP até ao ponto E4SP baixando no ponto E5SP e aumentado novamente a partir do ponto E6SP até ao ponto E9SP.

Os valores da taxa de saturação em O₂ estão todos dentro dos valores de referência. O oxigénio dissolvido foi maior na Primavera do que no Outono na maioria dos pontos. No Outono o ponto com menor quantidade de oxigénio dissolvido foi o ponto E2AU e o ponto com maior quantidade de oxigénio dissolvido foram os pontos E3AU e E9AU com o mesmo valor (9,4 mg/L). Na Primavera o ponto com menor quantidade de oxigénio dissolvido foi E4SP e o ponto com maior quantidade de oxigénio dissolvido foi E5SP.

Os valores do azoto amoniacal estavam todos dentro dos valores de referência, nas duas estações do ano. Verificou-se que o ponto com maior quantidade de azoto amoniacal no Outono foi o ponto E8AU e na Primavera foi o ponto E9SP.

Os valores de fósforo estavam fora dos valores de referência nos pontos E8AU e E9AU no Outono e no ponto E6SP na Primavera.

Todos os valores de nitrato estavam dentro dos limites máximos no Outono. Na Primavera os valores máximos de nitrato foram excedidos nos pontos E3SP, E5SP, E8SP e E9SP.

3.3.2. Caracterização hidromorfológica

Da caracterização da qualidade hidromorfológica surgiram os gráficos apresentados na figura 16. Os três gráficos apresentam um padrão semelhante.

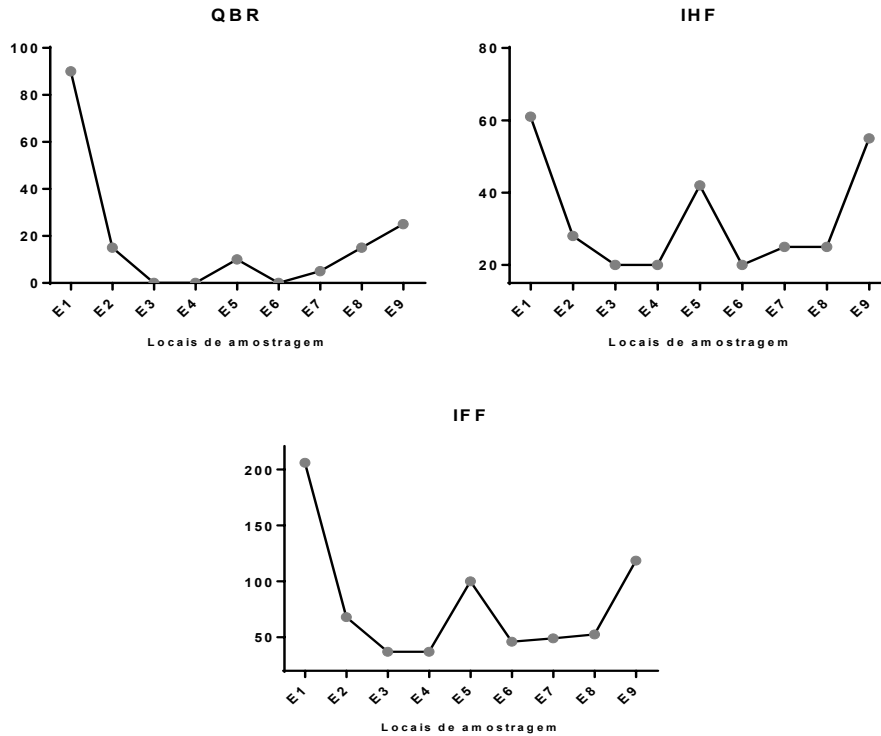


Figura 16 - Pontuações dos índices QBR, IHF e IFF ao longo dos locais de amostragem.

Os locais com mais baixa qualidade hidromorfológica foram os locais E3, E4, E6 e E7.

Tal como o gráfico do QBR demonstra, o local E1 foi o único que se apresenta com uma qualidade ripária na sua condição natural com uma grande cobertura vegetal contribuindo para a naturalidade do rio. Todos os outros locais apresentavam uma baixa cobertura e diversidade ripária.

Quanto ao IHF, das 5 classes de qualidade (natural, boa, razoável, medíocre e mau) nenhum dos locais obteve uma classificação natural. O habitat do local E1 obteve uma classificação boa, o local E9 obteve uma classificação razoável, o local E5 obteve uma classificação medíocre e os locais E2, E3, E4, E7, E8 obtiveram uma classificação má.

As pontuações do IFF foram altas para o local E1 apresentando uma boa funcionalidade do rio e uma melhor condição do habitat. Os outros locais que melhor apresentavam uma funcionalidade do habitat são os locais E5 e E9.

3.3.3. Macroinvertebrados bentônicos

No anexo III estão representadas as abundâncias dos macroinvertebrados coletados. Foram recolhidos 59 taxas diferentes na sua maioria pertencentes à ordem Diptera, Coleoptera e Trichoptera. Os macroinvertebrados mais abundantes foram os organismos pertencentes à família Chironomidae (3266 organismos). Tendo em conta os grupos funcionais, há uma maior abundância de coletores e de predadores e existem mais taxa predadores.

Existiu uma maior abundância de macroinvertebrados nos locais E3AU e E4SP e menor quantidade nos locais E1AUu, E1AUd, E3SP, E5AU e E8AU e E8SP. A abundância de indivíduos aumentou do Outono para a Primavera nos locais E5 e E8 e diminuiu nos locais E2, E3 e E9 (Fig. 17A).

Em relação à riqueza esta foi maior nos locais E1AUu, E1AUd e E2SP e menor nos locais E8AU e E8SP. Verificou-se uma descida da riqueza do Outono para a Primavera nos locais E2, E3 e E9 e uma subida no local E5. No local E8 a riqueza manteve-se do Outono para a Primavera (Fig. 17B).

A diversidade de macroinvertebrados, representada na figura 17C pelo índice de Shannon, diz-nos que existia uma maior diversidade nos locais E1SPu e E1SPd e uma menor diversidade nos locais E3AU e E9AU. A diversidade de macroinvertebrados aumentou do Outono para a Primavera nos locais E2, E3, E5, E8 e E9.

O EPT, representado na figura 17D, mostrou que existia uma maior quantidade de macroinvertebrados pertencentes à ordem Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera nos locais E1SPu e E1SPd, havendo uma diminuição progressiva nos locais E2 e E3 e uma subida nos locais E5.

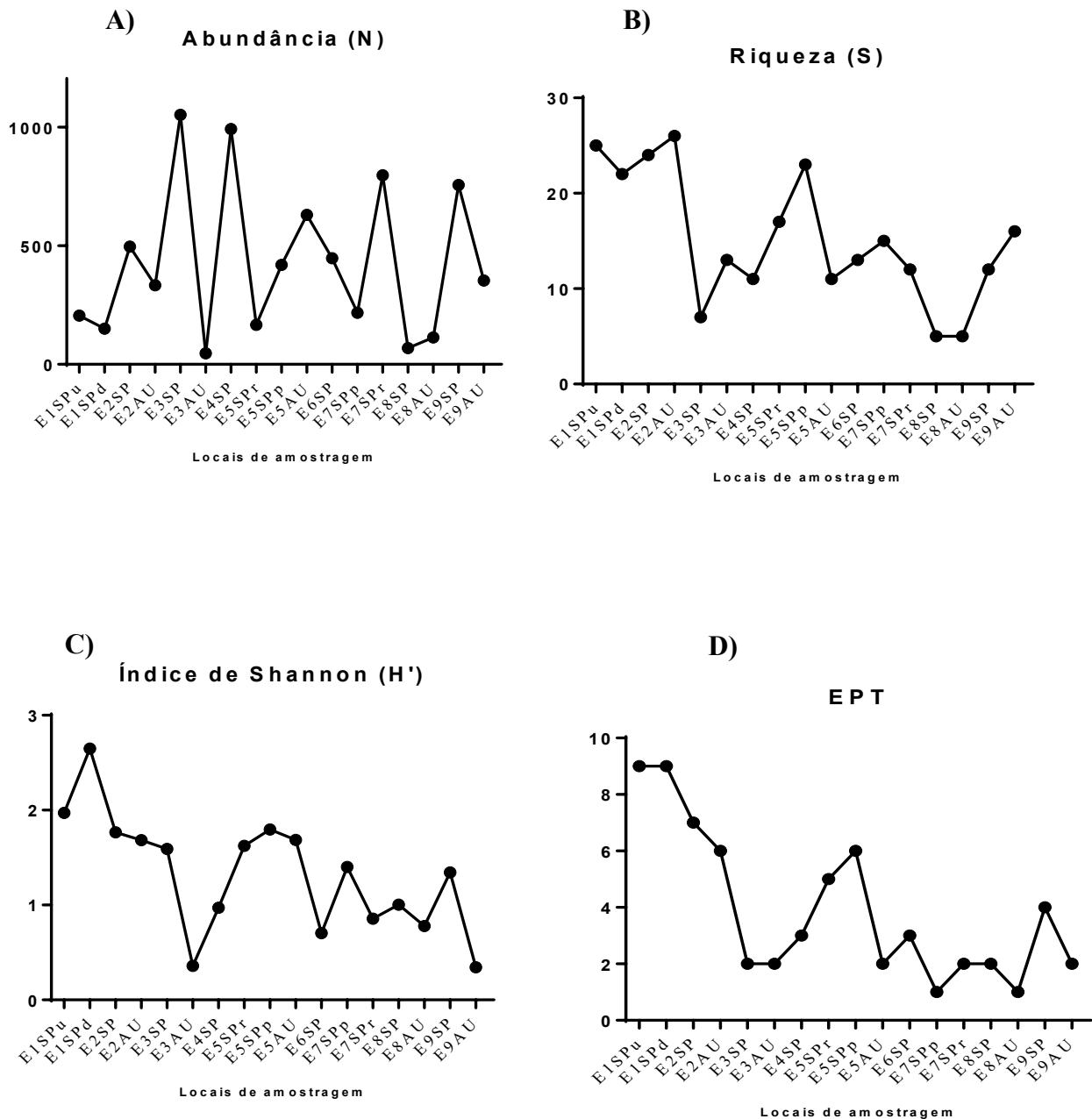


Figura 17 - Índices biológicos ao longo dos locais de amostragem (códigos: u=*upstream*, d=*downstream*, r=*riffle*, p=*pool*). A) Abundância, B) Riqueza, C) Índice de Shannon, D) EPT.

As restantes métricas biológicas calculadas estão resumidas na tabela 8. As estações E1 e E2 possuíam uma alta integridade biológica quer no Outono quer na Primavera, como demonstra o índice IBMWP. Por outro lado, as estações E3 e E8 possuem uma baixa integridade ecológica.

Tabela 8 - Variação das métricas biológicas no A) Outono e na B) Primavera (u=*upstream*, d=*downstream*, r=*riffle*, p=*pool*).

A) OUTONO					
Métricas Biológicas	E2AU	E3AU	E5AU	E8AU	E9AU
OCH	6	1	2	0	9
1-GOLD	0,0625	0,9316	0,6507	0,8382	0,0304
IBMWP	138	53	48	17	73

B) PRIMAVERA												
Métricas Biológicas	E1SPu	E1SPd	E2SP	E3SP	E4SP	E5SPr	E5SPp	E6SP	E7SPp	E7SPr	E8SP	E9SP
OCH	8	6	7	2	1	4	5	4	3	1	0	3
1-GOLD	0,4732	0,66	0,3634	0,2391	0,1200	0,2683	0,3675	0,1342	0,0369	0,0113	0,3009	0,0850
IBMWP	145	133	131	36	46	82	117	69	66	49	21	44

Na fig. 18 e 19, estão representados os valores do Índice Português de Invertebrados do Norte (IPT_{I_N}) no Outono de 2016 e Primavera de 2017 utilizando os macroinvertebrados como elementos biológicos para a avaliação da qualidade ecológica (INAG, 2009).

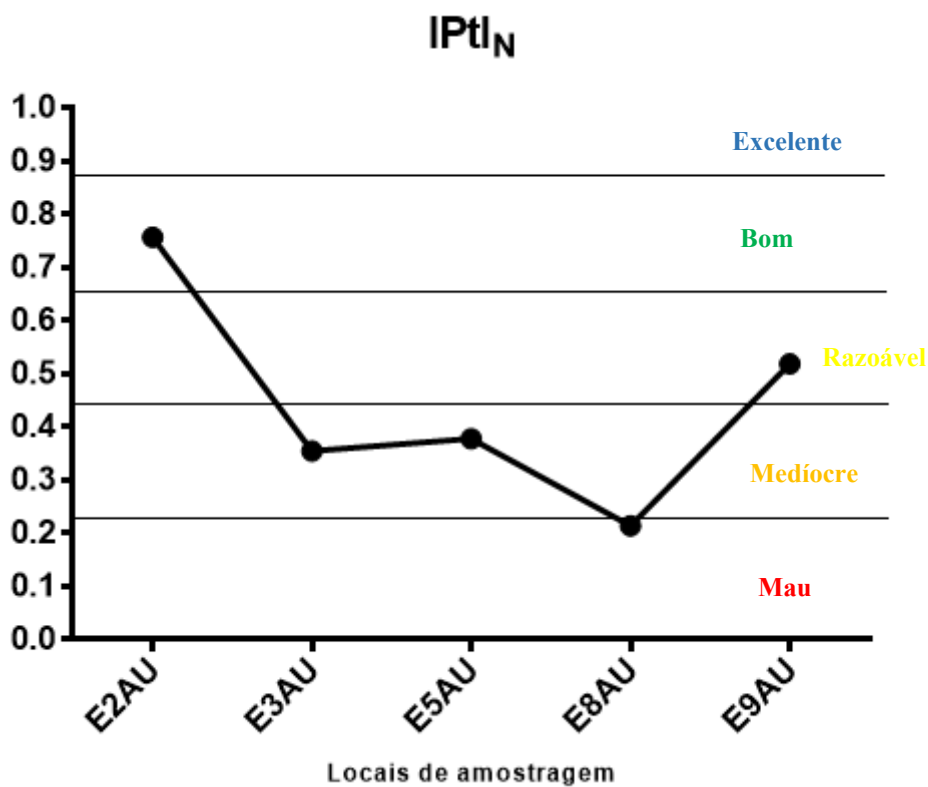


Figura 18 - IPT_{I_N} no Outono de 2016.

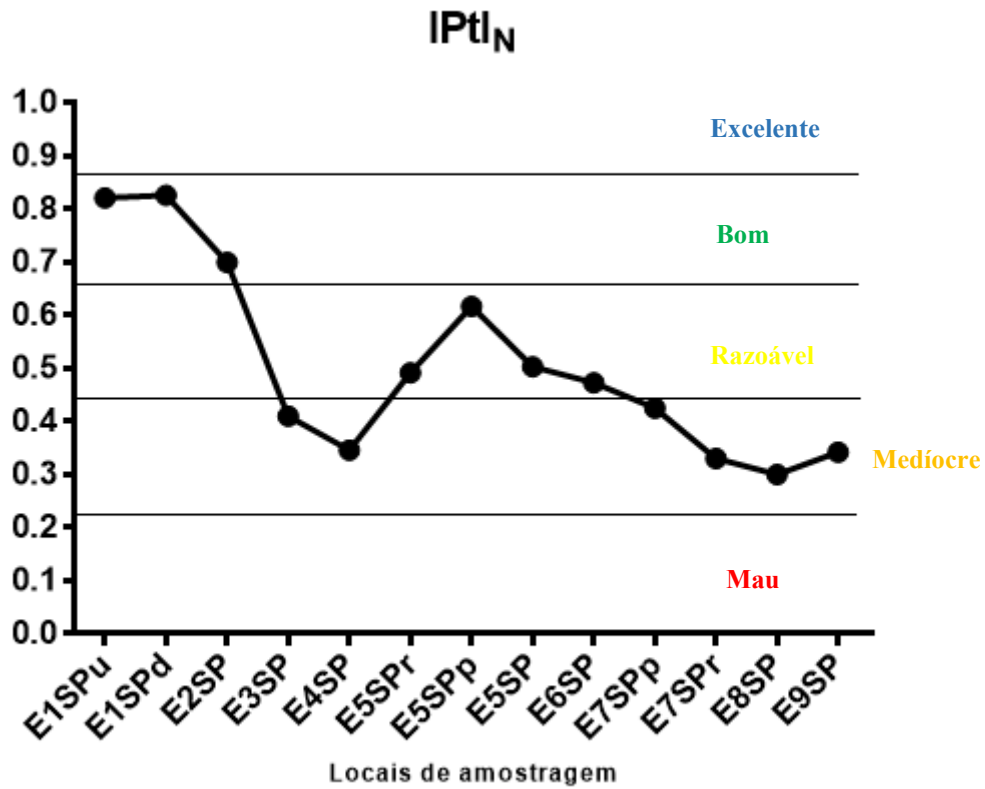


Figura 19 - IPtIN na Primavera de 2017.

Comparando as duas estações do ano, verificou-se uma mudança de classe no local E8 de Mau no Outono para um estado Medíocre na Primavera e também no local E9 de um estado Razoável no Outono para um estado Medíocre na Primavera.

3.3.4. Influência das variáveis ambientais na comunidade de macroinvertebrados

Na análise multivariada, utilizando a análise de correlação canônica (CCA), fez-se a relação entre os parâmetros físico químicos e a abundância de macroinvertebrados e os grupos funcionais alimentares (FFG) em cada local. Em relação à CCA da abundância de macroinvertebrados com os parâmetros físico-químicos, utilizaram-se os Eixo 1 e o Eixo 2 uma vez que a correlação entre estes 2 Eixos foi de 41,12%.

Através do coeficiente de correlação de Pearson verificou-se que o oxigênio dissolvido correlacionou-se positivamente com a comunidade de macroinvertebrados e a temperatura, a condutividade, o pH, o fóstato, o amónio, os nitratos, os nitritos negativamente. Isto significa que o oxigênio dissolvido estava associado a boas condições ambientais (Fig. 20).

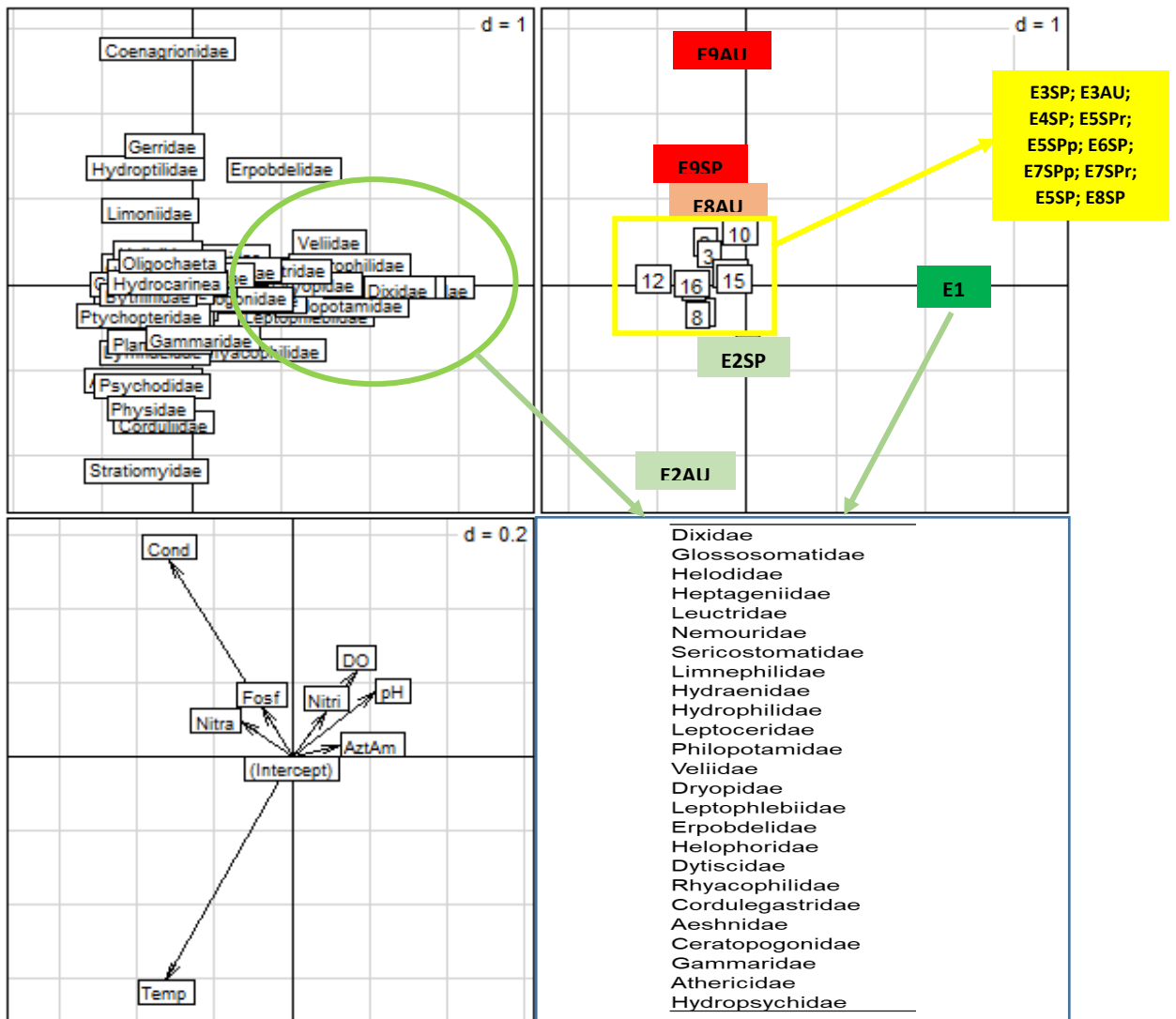


Figura 20 - CCA da abundância de macroinvertebrados com os parâmetros físico-químicos (códigos: 1 = E4SP, 2 = E5SPr, 3 = E5SPp, 4 = E6SP, 5 = E1SPu, 6 = E1SPd, 7 = E7SPp, 8 = E7SPr, 9 = E2SP, 10 = E3SP, 11 = E5SP, 12 = E8SP, 13 = E9SP, 14 = E2AU, 15 = E3AU, 16 = E5AU, 17 = E8AU, 18 = E9AU).

O grupo 1 de macroinvertebrados (posicionados à direita do Eixo 1, Fig. 20) estava associado às boas condições ambientais com elevada concentração de oxigénio dissolvido (local E1SPa e E1SPAb). Os macroinvertebrados do grupo 2 e 3 estavam associados a locais com fraca e más condições ambientais respetivamente (posicionados à esquerda do Eixo 1, Fig. 20) com alta concentração de nitritos, nitratos, amónio e fósforo.

No primeiro grupo à direita localizam-se as famílias de macroinvertebrados sensíveis à poluição e no segundo grupo à esquerda localizam-se a famílias de macroinvertebrados tolerantes à poluição e macroinvertebrados resistentes à poluição.

Em relação ao CCA dos grupos funcionais alimentares com os parâmetros físico-químicos, verificou-se pelo coeficiente de correlação de Pearson que a métrica “Shredder” representativa de macroinvertebrados trituradores está associada aos locais com melhores

condições de pH e o oxigênio dissolvido e com a presença de vegetação ribeirinha (E1). Enquanto que os filtradores (FILT) estão associados aos locais com maiores concentrações de nitrito e nitrato, condutividade e maior temperatura (E8 e E9) (Fig. 21).

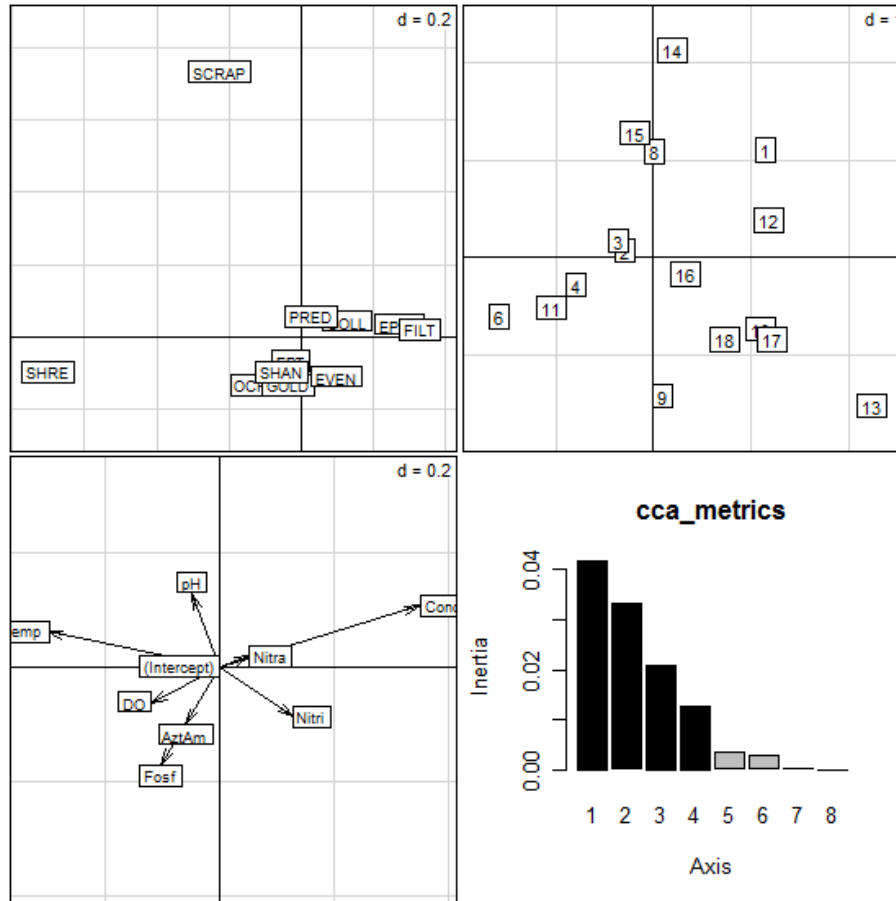


Figura 21 - CCA dos grupos funcionais alimentares (códigos: shre=trituradores, pred=predadores, scrap=raspadores, filt=filtradores, coll-gath=coletores, 1 = E4SP, 2 = E5SPr, 3 = E5SPp, 4 = E6SP, 5 = E1SPu, 6 = E1SPd, 7 = E7SPp, 8 = E7SPr, 9 = E2SP, 10 = E3SP, 11 = E5SP, 12 = E8SP, 13 = E9SP, 14 = E2AU, 15 = E3AU, 16 = E5AU, 17 = E8AU, 18 = E9AU).

3.4. Discussão

3.4.1. Qualidade ecológica do rio Este

Os resultados obtidos sugerem a existência de problemas relacionados com a qualidade ecológica do rio Este. O local E1, a nascente, possuiu as características mais naturais em relação aos restantes locais, apresentando-se assim como o local com melhor qualidade ecológica. Os locais E2, E3, E5 e E6 foram afetados pela canalização do rio repercutindo-se na qualidade ecológica dos mesmos. Os locais E5 e E7 são locais que sofreram reabilitação, embora o local E5 esteja em melhor estado devido ao facto de ter recebido uma intervenção, utilizando técnicas de engenharia natural ao contrário do local E7 que recebeu uma intervenção utilizando técnicas de engenharia hidráulica. Os locais E8 e E9 são locais que foram maioritariamente afetados pela indústria. Embora o local E9 já se encontre fora da cidade o mesmo fica depois das zonas industriais sofrendo o impacto da poluição orgânica e inorgânica além de que existem práticas de agricultura no local afetando substancialmente a qualidade ecológica do rio.

As medições dos parâmetros físico-químicos (Tabela 7) revelaram que a temperatura do local E1 é mais baixa relativamente aos restantes locais. Tal facto deve-se, provavelmente, à vegetação ripária e à grande cobertura vegetal existente no local. O índice QBR demonstrou que o local E1 possui o bosque ripário em condição natural. A vegetação ripária, além de fornecer sombra, influencia o microclima do rio através de funções biológicas como a evapotranspiração e da libertação de vapor de água e através de meios físicos como a diminuição da velocidade do vento o que faz com que a temperatura do rio diminua (Johnson, 2004).

O pH manteve-se dentro dos limites normais previstos em INAG (2009). Neste parâmetro poderão ter ocorrido erros na medição uma vez que eram esperados valores de pH ligeiramente ácidos devido ao facto da região ser predominantemente granítica contendo grandes quantidades de compostos siliciosos. O pH da água do rio diminui do Outono para Primavera sendo tendencialmente normal (Marín et al., 2001).

Os valores de condutividade foram maiores nos locais E8 e E9 devido ao facto de serem locais que se encontram depois do parque industrial e, no caso do local E9, em zonas de agrícolas o que leva a uma grande quantidade de sólidos dissolvidos na água do rio que carregam consigo iões.

As taxas de saturação em oxigénio estão dentro dos limites normais previstos em INAG (2009). Os valores do oxigénio dissolvido foram elevados nos locais E1 e E5SP e surpreendentemente no local E3SP. O oxigénio dissolvido nas águas é um importante indicador da saúde geral do ecossistema. As baixas concentrações de oxigénio dissolvido levam ao desequilíbrio do ecossistema podendo causar a mortalidade de diversas espécies (Monteiro,

1997). O local E3 é um local canalizado e era espectável que o oxigénio dissolvido diminuísse visto que há um aumento da carga de sedimentos que, além desta variável, afeta também o pH, a alcalinidade e a turbidez da água (Johnson, 2011). No entanto, a baixa temperatura da água neste local na Primavera poderá ter levado ao aumento do oxigénio dissolvido uma vez que as águas com menores temperaturas contêm maior quantidade de oxigénio dissolvido (Kalff, 2002).

A quantidade de nutrientes existentes (azoto, fósforo e nitratos) é maior nos locais E8 e E9 que juntamente com o aumento da condutividade poderá levar a problemas de eutrofização e má qualidade do rio. Existem estudos feitos em rios fora das cidades que revelaram ter parâmetros físico-químicos melhores do que os do rio Este (Antunes, 2016; Coelho et al., 2014). Tal facto comprova que um rio urbanizado provoca impactos nos parâmetros físico-químicos.

Os resultados índices de caracterização hidromorfológica (IHF, QBR e IFF) (Fig. 16) revelaram que apenas o local E1 se apresenta em boas condições. Este local tem uma zona ripária natural e um substrato heterogéneo assumindo-se assim como um local com condições naturais.

Os restantes locais apresentam condições hidromorfológicas consideradas más à exceção do local E9 que reúne condições razoáveis. No entanto, é notória alguma melhoria nas condições hidromorfológicas no local E5 em virtude das obras de reabilitação do rio que devolveram a meandrização e o regime de “pool-riffle”.

A má condição hidromorfológica dos locais E3, E4, E6 e E7 é devida sobretudo à canalização do rio que provoca a perda de meandrização do rio e a perda do “pool” e do “riffle”. A meandrização é indicativa de um estado natural do rio caracterizada por um grande transporte de sedimentos sendo um fator que promove a biodiversidade (Garcia et al., 2012) e a canalização do rio faz com que haja apenas sedimentos muito fino que são insuficientes para que as macrófitas aquáticas se fixem e deste modo não haja alimento (Kováks et al., 2011). Além disso, a vegetação ribeirinha existente é quase nula podendo provocar a perda de biodiversidade destes locais uma vez que o bosque ribeirinho assegura as funções do ecossistema através da matéria orgânica que fornece aos rios para alimentar os microrganismos e os macroinvertebrados detritívoros (Graça, 2001).

O índice QBR revelou que os locais E2 e E8 ainda apresentavam alguma cobertura vegetal de boa qualidade (ainda que pobre) no seu interior (com a presença de macrófitas aquáticas) e nas suas margens respetivamente. No entanto, o local E2 possui nas suas margens construções que levam à má condição hidromorfológica - na sua margem esquerda existe uma estrada e na sua margem direita existe um muro e o local E8 não possui um regime com uma frequência de “pool – riffle” havendo apenas a existência de “pools”.

O local E9 possuía características razoáveis ainda que nas suas margens existem a presença de atividades agrícolas o que faz com que a sua condição decresça em qualidade.

A qualidade ecológica do rio Este também foi determinada pela estrutura dos macroinvertebrados que são importantes bioindicadores da qualidade da água (Li et al., 2010).

Quando existe uma alteração das condições do rio ocorre uma alteração da comunidade biótica existente. Normalmente as zonas menos degradadas e, portanto, com melhores condições têm maior riqueza em espécies e maior diversidade ao contrário das zonas mais impactadas onde ocorre uma diminuição das espécies sensíveis e um aumento das espécies tolerantes e resistentes, tornando-se mais abundantes (Azrina et al., 2006).

O local E1 possui maior riqueza e diversidade em espécies e maior equitabilidade devido ao facto de ser um local pouco impactado. Além disso os altos valores do índice IBWMP e alto valor do EPT (organismos sensíveis à poluição) inferem que o ponto E1 é um local com bastante qualidade. No entanto a sua abundância é menor do que nos restantes locais. Isto deve-se ao facto de nos restantes locais serem encontradas grande abundância de Oligochaeta e Chironomidae que são organismos resistentes e tolerantes à poluição, respetivamente, proliferando em ambientes com elevada deposição de matéria orgânica indicando má qualidade da água (Moreno & Callisto, 2004). Estes locais impactados foram os locais E3, E4, E6, E7, E8 e E9 que possuem baixa riqueza e diversidade. O local E2 possui alguma riqueza de espécies e de diversidade sobretudo devido ao facto de ser um local antes dos focos de poluição visto que fica antes da cidade e é um local próximo da nascente.

O IPT_N revelou que os locais E1 e E2 são os locais que estão em melhor estado ecológico. Os locais E5, E8 e E9 mudaram o seu estado ecológico para um estado ecológico superior do Outono para a Primavera. No caso do E5 alterou de Medíocre para Razoável, no E8 de Mau para Medíocre e no E9 de Medíocre para Razoável. No caso do E5 e do E8 esse aumento do estado ecológico mesmo não sendo significativo poderá ser resultado do aumento do EPT e no caso do E9 do aumento da equitabilidade.

As CCA's das comunidades de macroinvertebrados (Fig. 20 e 21) demonstraram que existem duas comunidades de macroinvertebrados diferentes: as que vivem em condições naturais (tais como os trituradores) e os que vivem em zonas impactadas (tais como os macroinvertebrados tolerantes e resistentes) onde existe uma má qualidade ecológica.

No grupo de macroinvertebrados associados às boas condições podem ser encontrados os macroinvertebrados sensíveis à poluição pertencentes à ordem Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera. Os locais E1SPa e E1SPb estão associados a estas boas condições ambientais (alto oxigénio dissolvido) e, por isso, associados aos trituradores (encontrados em zonas de águas limpas e com boa concentração de matéria orgânica) (Goulart & Callisto, 2003).

Neste grupo de macroinvertebrados também se inclui Hydropsychidae pertencente à ordem Trichoptera e, embora Trichoptera seja considerada sensível à poluição, existem autores que não incluem a família Hydropsychidae como um organismo sensível mas como um organismo resistente (Lalonde et al., 2016).

Os organismos tolerantes pertencem às ordens Heteroptera, Odonata e Coleoptera. Nestes organismos a necessidade de oxigénio dissolvido é menor visto que alguns representantes do grupo utilizam o oxigénio atmosférico. O local E2AU está associado a estas condições.

Os organismos resistentes pertencem a Chironomidae, outros Diptera e Oligochaeta. Estes organismos vivem em condições anaeróbias por várias horas (Goulart & Callisto, 2003). Os locais E3, E8 e E9 estão associados a estas condições. Nestes locais existe alta taxa de condutividade e altos valores de nutrientes como os fostatos e os nitratos.

Os locais E3AU, E5AU e E8AU estão associados a altos valores de pH e temperatura encontram-se os raspadores e predadores, indicando que não existem recursos suficientes nesses locais. Os restantes locais estão associados aos filtradores e coletores e são onde se encontram as piores condições.

Um rio com boas condições é importante visto que quanto menores pressões antropogénicas houverem a abundância de macroinvertebrados tolerantes e resistentes diminui, aumentando a população de macroinvertebrados sensíveis que vão ter maior plasticidade alimentar e de habitat (Lalonde et al., 2016).

3.4.2. Intervenção de reabilitação fluvial

O local E5 que sofreu reabilitação fluvial por meio de técnicas de engenharia natural em 2016 obteve melhorias no seu estado ecológico.

Os índices QBR, IFF e IHF (Fig. 16) revelaram que as condições hidromorfológicas melhoraram em relação aos locais canalizados e impactados como os E3, E4, E6, E7 e E8. Tal facto deveu-se, provavelmente, à intervenção que retirou o cimento que canalizava o rio, à estabilização das margens, à reestruturação do curso de água e à plantação de vegetação ribeirinha. A vegetação ribeirinha, apesar de ainda ser descontinuada devido ao facto de ainda ter sido uma intervenção recente, é constituída por Salgueiro-Branco (*Salix alba* L.), Sabugueiro (*Sambucus nigra* L.), Agrião (*Nasturtium officinale* W.T. Aiton), Taboa (*Typha domingensis* Pers.), etc. que substituiu as Acácias (*Acacia sp.* M.) que é considerada uma espécie invasora (Lorenzo et al., 2010) e Silvado-Bravo (*Rubus ulmifolius* S.) que é considerada um agente limitativo na recuperação de habitats fluviais (SPEA, 2014). A canalização de um rio leva ao esquecimento e a reabilitação visa integrar. (Teiga, 2003). No entanto, a intervenção é recente e provavelmente explicando a ausência de resultados excelentes. É necessário tempo e manutenção para a hidromorfologia e vegetação ripária vir a melhorar em qualidade ainda mais.

As condições físico-químicas não são as melhores. A condutividade é alta e há presença de nutrientes como o fósforo e o azoto e principalmente de nitratos com valores altos na campanha feita na Primavera. Isto poderá ser resultado das descargas que ainda ocorrem no rio Este e devido ao facto dos locais que precedem o E5 terem má qualidade ecológica.

A construção de uma ciclovia e via pedonal junto ao rio incluída no projeto de Renaturalização e Regeneração Urbana do Rio foi importante porque além de fornecer um espaço de lazer contribui para o envolvimento das pessoas com o rio onde podem apreciar e para a sensibilização e para a educação ambiental.

Em relação aos macroinvertebrados foi possível verificar que existem organismos sensíveis mas também tolerantes à poluição. A abundância quer uns quer outros varia ao longo da época do ano. Na Primavera a presença de organismos sensíveis foi maior devido à maior disponibilidade de oxigénio dissolvido e o índice IPT_N aumentou de medíocre para razoável do Outono para a Primavera respetivamente. A diversidade de macroinvertebrados aumentou no local de reabilitação em relação aos outros locais e há a presença de trituradores como Haliplidae mas na sua maioria são raspadores.

Outro tipo de fauna encontrada inclui também vestígios de lontras, presença da rã ibérica (*Rana iberica* Boulenger), de libelinhas (*Calopteryx sp.* Leach) e do tritão-ibérico (*Lissotriton boscai* Lataste).

Em conclusão, as técnicas de engenharia natural usadas na reabilitação do rio Este tiveram efeitos positivos incorporando conceitos de engenharia e de biologia que promoveram a melhoria da qualidade do rio e do habitat. No entanto, a intervenção ainda é recente e a análise refere-se ao primeiro ano após a intervenção e, portanto, pode explicar a não obtenção de resultados excelentes. Contudo este trabalho pode servir de base para análises futuras.

Capítulo III

4. Decomposição de folhas de amieiro no rio Este: efeitos nos fungos aquáticos e nos macroinvertebrados

4.1. Introdução

A matéria orgânica alóctone é a principal fonte de energia dos ecossistemas ribeirinhos (Lecerf & Chauvet, 2008). O amieiro (*Alnus glutinosa*) é um componente importante na vegetação dos rios na Europa e fornece às cadeias alimentares as suas folhas caducifólias com um substrato de alta qualidade que é alvo dos decompositores microbianos e macroinvertebrados trituradores (Prat et al., 1992).

As taxas de decomposição das folhas de amieiro costumam ser mais elevadas do que as folhas de castanheiro, carvalho, eucalipto ou plátano visto que estas contêm uma alta concentração de fósforo e azoto propícias à ação dos microrganismos (Pereira, 2011).

O objetivo deste capítulo é analisar a dinâmica de colonização e de decomposição das folhas de amieiro por fungos aquáticos e pelos macroinvertebrados. Assim, pretende-se contribuir para entender quais os efeitos que um rio canalizado e poluído provoca na funcionalidade de um ecossistema aquático. Para isso, analisaram-se os macroinvertebrados associados às folhas, a perda de massa das folhas, a biomassa de fungos e o número de esporos que os fungos produziram.

4.2. Materiais e Métodos

4.2.1. Desenho experimental

Para a experiência de decomposição da folhada, construíram-se 90 sacos com rede plástica de malha grossa (22,5x13,2cm) dentro dos quais foram colocados $5 \pm 0,45$ g de folhas de amieiro (*Alnus glutinosa*).

A experiência iniciou-se no dia 1 de Fevereiro de 2017 (Tempo 0) e colocaram-se 15 sacos (5x3 réplicas) em cada um dos 5 locais (E2, E3, E5, E8, E9). Os sacos foram dispostos longitudinalmente ao longo do troço, mergulhados na água do rio e fixados nos locais com recurso a fio grosso e pesos (Fig. 22). Para além destes sacos, foram mergulhadas 3 réplicas em cada local e retiradas ao fim de 15/20 minutos para determinar o peso inicial das folhas. Fez-se também a medição dos parâmetros físico-químicos dos locais.

Inicialmente a experiência era para decorrer ao longo de 5 tempos mas com a perda de alguns dos sacos (arrastados pela força da corrente) reduziu-se a experiência para 4 tempos.

Sendo assim, 3 réplicas foram retiradas e transportadas para o laboratório dentro de sacos de plástico devidamente acondicionados numa mala térmica nos dias 8, 15, 22 de Fevereiro e 1 de Março perfazendo os 4 tempos. Em cada tempo e em cada local fez-se a medição dos parâmetros físico-químicos.

No laboratório, as folhas foram retiradas dos sacos e lavadas para a retirada dos macroinvertebrados e guardadas em folhas de alumínio devidamente etiquetadas para posteriormente se cortarem discos. Foram cortados 76 discos de cada saco – 60 discos para determinação do peso seco, 10 discos para a esporulação e 6 discos para a biomassa de fungos.



Figura 22 - Sacos contendo folhas de Amieiro mergulhadas num local do rio Este aos 7 dias.

4.2.2. Macroinvertebrados associados às folhas

Os macroinvertebrados bentónicos foram removidos das folhas com recurso a lavagem das mesmas e dos sacos num crivo com cerca de 500 μm de diâmetro. O material crivado foi colocado num tabuleiro com uma pequena quantidade de água para se proceder à triagem.

Os macroinvertebrados triados foram colocados em tubos Falcon contendo álcool etílico a 99,8% e com a devida identificação dos locais, da data e do tempo de amostragem. Os macroinvertebrados foram identificados até ao nível taxonómico da família (à exceção de Oligochaeta, Hirudinea e Tubellaria que foram identificados até à classe) e agrupados pelos seus grupos funcionais alimentares segundo Tachet et al. (2000) (Anexo IV).

4.2.3. Contagem de esporos de fungos

A esporulação foi induzida em Erlenmeyers com 10 discos de folhas de amieiro que foram previamente colocados em 80 mL de água e os Erlenmeyers colocados num shaker durante 48 h a 140 rpm. As suspensões de esporos foram colocadas em garrafas com 2 mL de formaldeído e 100 μ L de Triton X-100 (15%).

Para a contagem de esporos de fungos, amostras de suspensões de conídios foram filtradas em filtros de membranas de nitrato de celulose (5 μ m pore size, Millipore, Billerica, MA) e coradas em cotton blue em ácido láctico. Foram contados ao microscópio óptico (Leica Biomed) 8 quadrados da membrana. Os resultados foram expressos em conídias g^{-1} AFDM d^{-1} .

4.2.4. Biomassa de fungos

A biomassa de fungos foi determinada a partir da quantificação de ergosterol associado às folhas. Extraíram-se os lípidos de um conjunto de 6 discos pelo aquecimento a 80 °C durante 30 min. em 10 mL de KOH em metanol e posteriormente eluído em 2 x 400 μ L de isopropanol. O ergosterol foi quantificado através da “high performance liquid chromatography” (HPLC) (UltiMate 3000, Thermo Fisher Scientific, CA, USA) e foi detetado a 282 nm utilizando metanol como fase móvel a 1,4 mL/min.

Em cada pico de ergosterol é calculada a área e determinada a concentração do ergosterol a partir duma curva padrão. Assim o ergosterol foi determinado a partir da curva do ergosterol no isopropanol.

4.2.5. Perda de massa da folha

Os 60 discos restantes foram liofilizados durante 48h e pesados numa balança analítica ($\pm 0,0001g$). Determinou-se, também, o peso inicial usando as folhas que foram mergulhadas durante 15 min no rio.

A percentagem da perda de massa da folha (pmf) foi determinada através da diferença entre o peso inicial (pi) e o peso final (pf) ($pi - pf = pmf$).

4.2.6. Análise estatística

Para encontrar diferenças significativas entre as estações de amostragem e entre os 4 tempos na esporulação e macroinvertebrados associados às folhas foi feita uma two-way ANOVA. Para verificar onde se encontravam essas mesmas diferenças foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. A análise univariada foi realizada no software Past v3.16 (Hammer et al., 2001). Para contruir os gráficos recorreu-se ao software GraphPad Prism v.6 (GraphPad Software, 2012). Foi feita, também, a ANCOVA para testar as diferenças entre os locais das taxas de decomposição e de biomassa de fungos com o tempo como covariável.

A ordenação dos locais de amostragem em função dos parâmetros físico-químicos foi feita recorrendo-se à análise de componentes principais (PCA). Os valores dos parâmetros físico-químicos obtidos estão tabelados no anexo V.

4.3. Resultados

4.3.1. Perda de massa da folhada

Na figura 23 está representada a perda de massa das folhas de amieiro ao longo dos 4 tempos em cada local. O local E5 foi o local que teve uma menor taxa de decomposição. Aos 28 dias de experiência houve uma perda de cerca de 46% da sua massa inicial. Por outro lado, o local E3 foi o local que obteve uma maior taxa de decomposição. No final dos 28 dias de experiência existiu uma perda cerca de 63% da massa inicial das folhas.

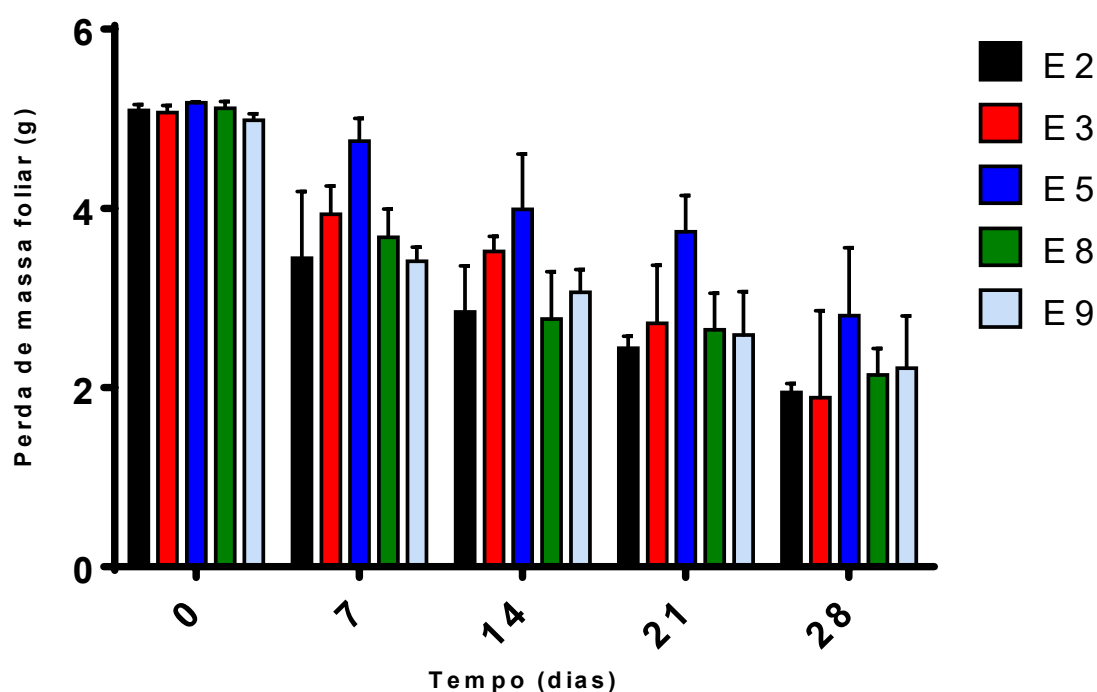


Figura 23 - Perda de massa da folha ao longo dos 4 tempos. As barras de erro indicam o desvio padrão (n=3).

Pela ANCOVA também é possível se verificar que as taxas de decomposição diferem significativamente entre as estações de amostragem (ANCOVA, $p < 0,001$) (Fig. 24) (Tabela 9).

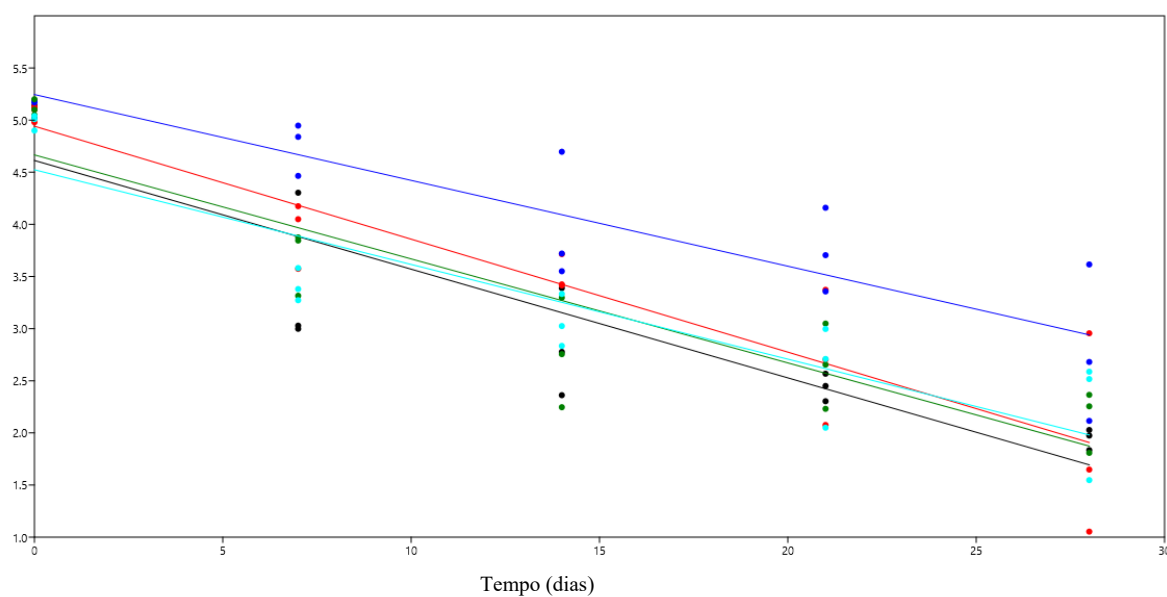


Figura 24 – Taxa de decomposição ao longo dos tempos.

Tabela 9 - Taxa de decomposição das folhas de amieiro no rio Este.

	Média ajustada	Declives
E2	3,15	-0,10426
E3	3,43	-0,10834
E5	4,09	-0,08232
E8	3,27	-0,09974
E9	3,25	-0,09083

4.3.2. Biomassa de fungos

Na figura 25, está apresentada a biomassa de fungos (quantificada através do ergosterol) ao longo dos 4 tempos. O maior valor de ergosterol foi atingido aos 21 dias no local E8 apresentado um valor de 936 μg ergosterol g^{-1} AFDM sendo que a maior média de valores de ergosterol nos 5 locais foram atingidos aos 28 dias de experiência (média 28 dias = 799 μg ergosterol g^{-1} AFDM).

No local E2 existe uma diminuição da biomassa de fungos aos 21 dias ao passo que no local E3, E5 e E8 a diminuição acontece aos 28 dias. O local E5 apresenta um aumento progressivo da biomassa de fungos ao longo dos 4 tempos.

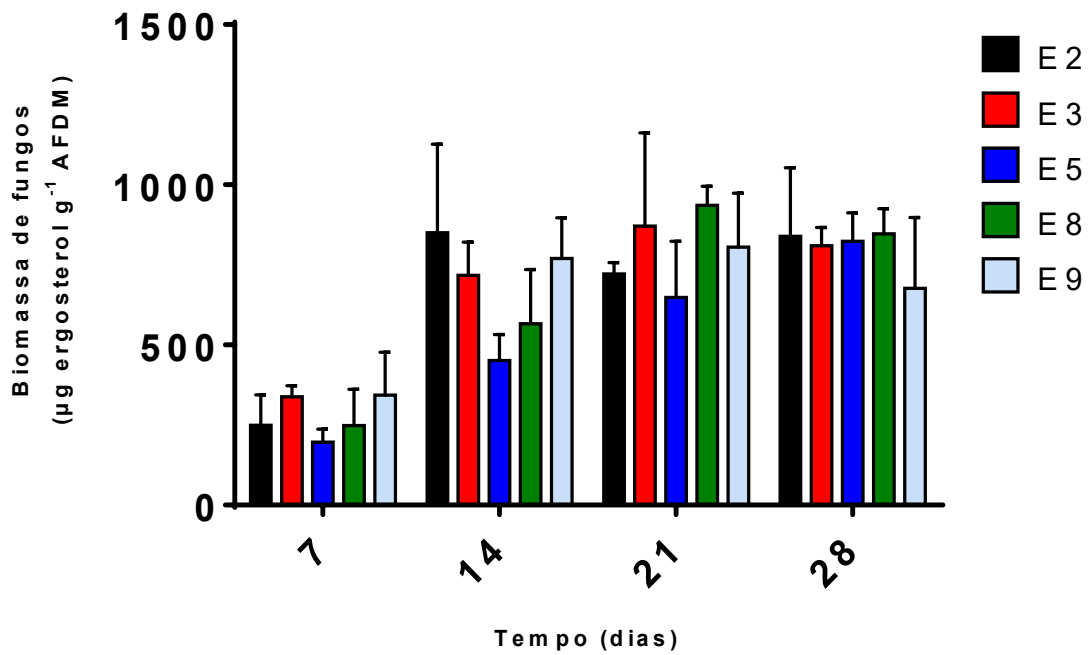


Figura 25 - Biomassa produzida pelos fungos avaliada pela concentração de ergosterol ao longo dos tempos. As barras de erro indicam o desvio padrão (n=3).

Pela ANCOVA também é possível verificar que a produção de biomassa de fungos não diferiu significativamente entre as estações de amostragem (ANCOVA, $p > 0,001$) (Fig. 26). Pela análise dos declives é possível formar um gradiente de biomassa de fungos da maior taxa de biomassa para a menor: E8>E5>E3>E2>E9 (Tabela 10).

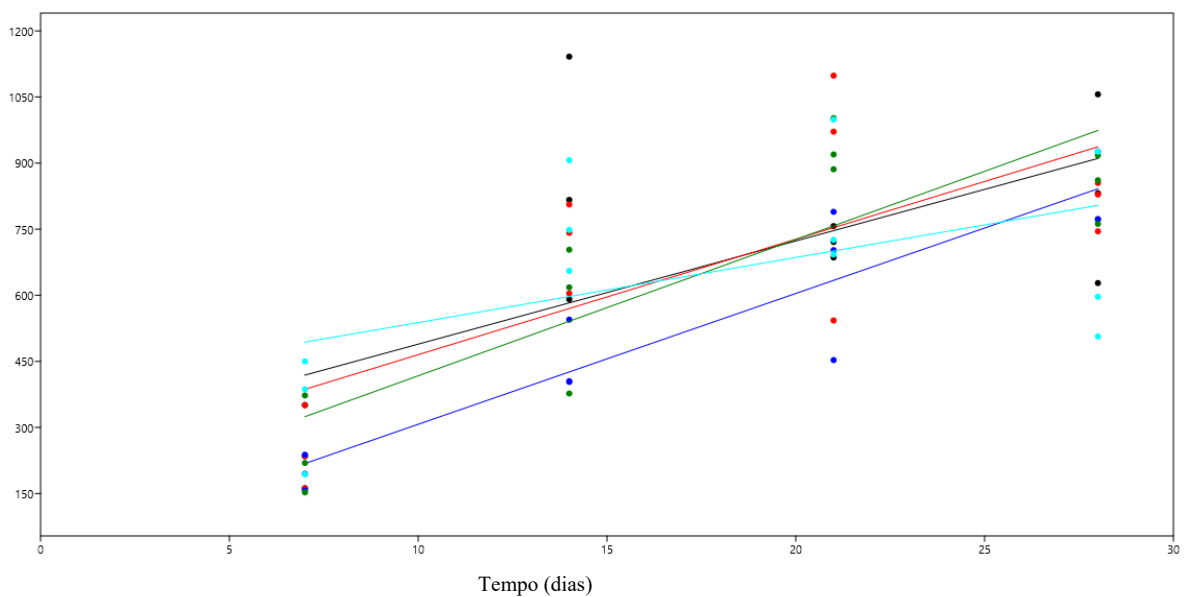


Figura 26 – Biomassa de fungos em relação aos 4 tempos.

Tabela 10 - Declives da taxa de biomassa de fungos.

	Média ajustada	Declives
E2	664,73	23,42
E3	661,82	26,208
E5	529,95	29,695
E8	649,32	30,943
E9	648,94	14,78

4.3.3. Esporulação

A figura 27 representa a taxa de esporulação produzida pelos fungos ao longo dos 4 tempos. A maior taxa de esporulação aconteceu no local E3 aos 7 dias (Média E3/7 dias = 191,92 conídeas g⁻¹ AFDM d⁻¹). A menor taxa de esporulação foi atingida aos 28 dias no local E2 (Média E2/28 dias = 34,47 conídeas g⁻¹ AFDM d⁻¹).

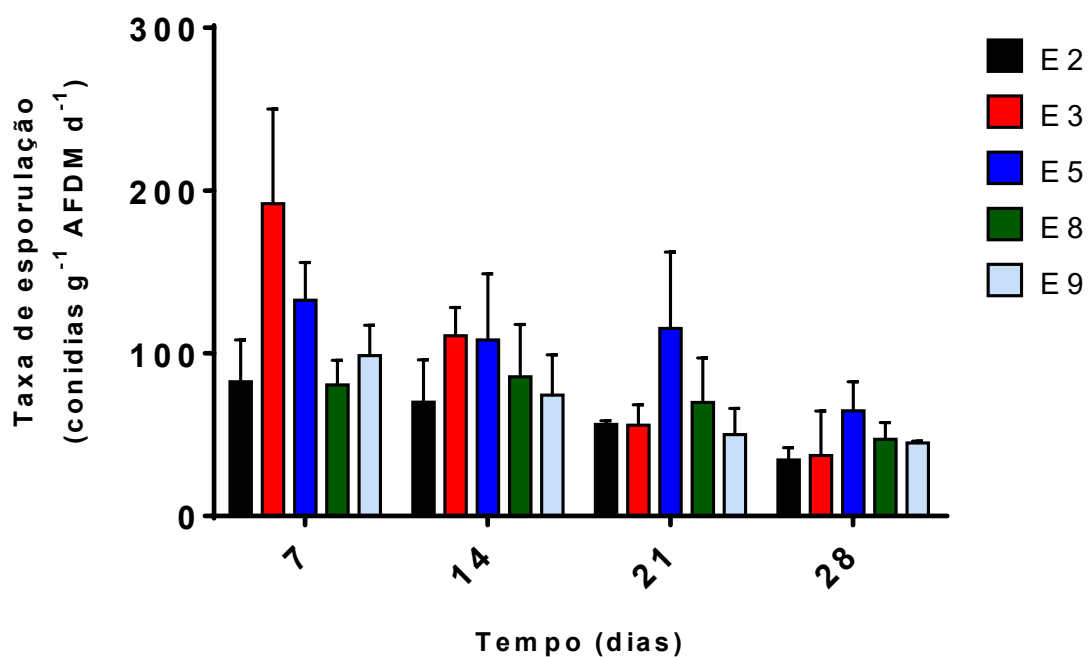


Figura 27 – Taxa de esporulação dos fungos ao longo do tempo. As barras de erro indicam o desvio padrão (n=3).

Existiram diferenças significativas na taxa de esporulação entre os locais de amostragem (two-way ANOVA, $p > 0,001$) e existiram diferenças significativas entre os tempos (two-way ANOVA, $p > 0,001$) (Fig. 28) (tabela 11).

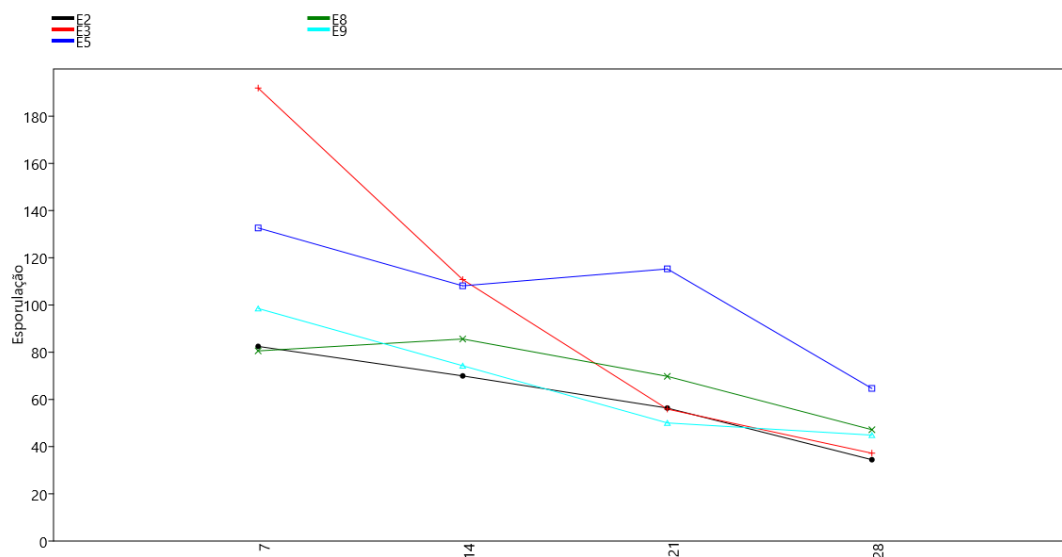


Figura 28 - Taxa de esporulação ao longo dos tempos.

Tabela 11 - Two-way ANOVA da taxa de esporulação dos fungos em relação aos locais de amostragem e aos tempos.

	Estação de amostragem		Tempo	
	F	p-value	F	p-value
Taxa de esporulação	6,904	<0,001	19,71	<0,001

4.3.4. Macroinvertebrados associados às folhas

Na figura 29 está representado os valores do índice de Shannon como medida de diversidade nos locais ao longo do tempo. O maior valor de diversidade foi detetado no local E2 aos 28 dias. É, de resto, o local E2 que ao longo do tempo apresentou maior média de diversidade de Shannon (média E2 = 1,08). No tempo 2 e no local E5, o valor do índice de Shannon foi 0 devido ao facto de terem sido encontrados e identificados poucos macroinvertebrados.

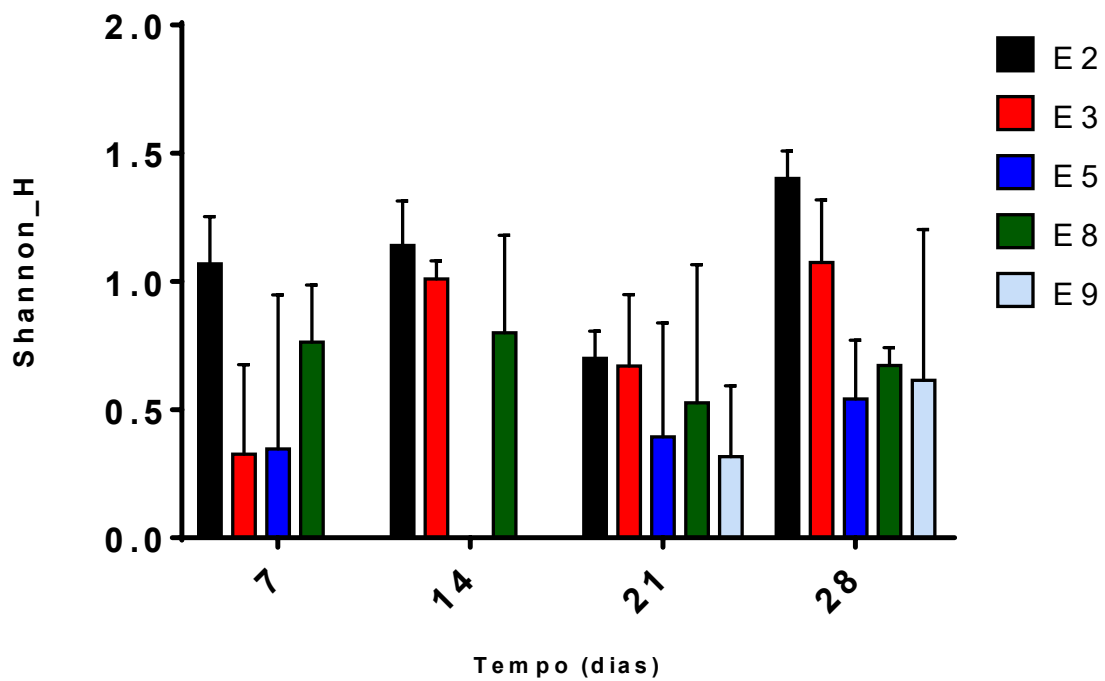


Figura 29 - Índice de diversidade de Shannon ao longo do tempo. As barras de erro indicam o desvio padrão (n=3).

A análise two-way ANOVA revelou que existiram diferenças significativas entre os tempos (two-way ANOVA, $p < 0,001$) mas não existiram diferenças significativas entre os locais (two-way ANOVA, $p > 0,001$) (Fig. 30) (Tabela 12). Estas diferenças significativas foram observadas aos 7 dias em relação aos restantes tempos (Tukey, $p < 0,05$).

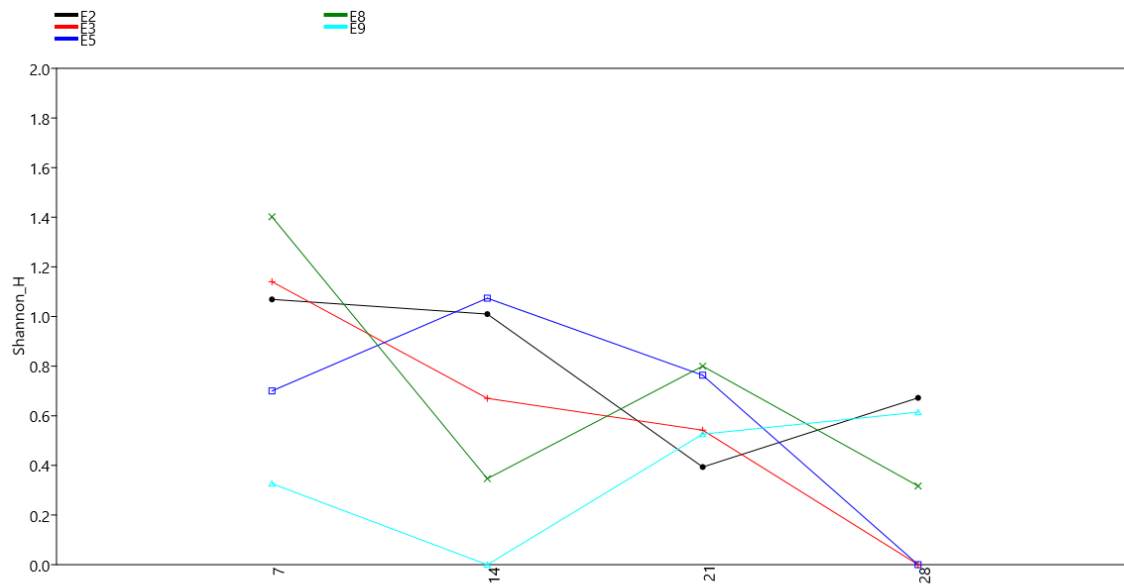


Figura 30 - Índice de Shannon ao longo dos tempos.

Tabela 12 - Two-way ANOVA do índice de Shannon em relação às estações de amostragem e tempo de amostragem.

	Estação de amostragem		Tempo	
	F	p-value	F	p-value
Índice de diversidade Shannon	3,277	0,02048	9,855	<0,001

4.3.5. Análise multivariada

Pela análise de componentes principais (PCA) foi possível verificar-se que o PC1 explicava 39,3% da variância e o PC2 explicava 21,7% da variância. Assim, o fator local estava relacionado com o PC1 e o fator tempo estava relacionado com o PC2. Deste modo foi possível ordenar os locais e os tempos segundo um gradiente de poluição surgindo os locais E8.1, E8.2 e E8.3 nos tempos T3 como os mais poluídos e muito afastados dos restantes locais devido à alta presença de nitritos e fósforo e altos valores de condutividade. (Fig. 31) Existiram diferenças significativas entre os locais de amostragem e também entre os tempos (Two-way ANOSIM, $p < 0,001$) (Tabela 13).

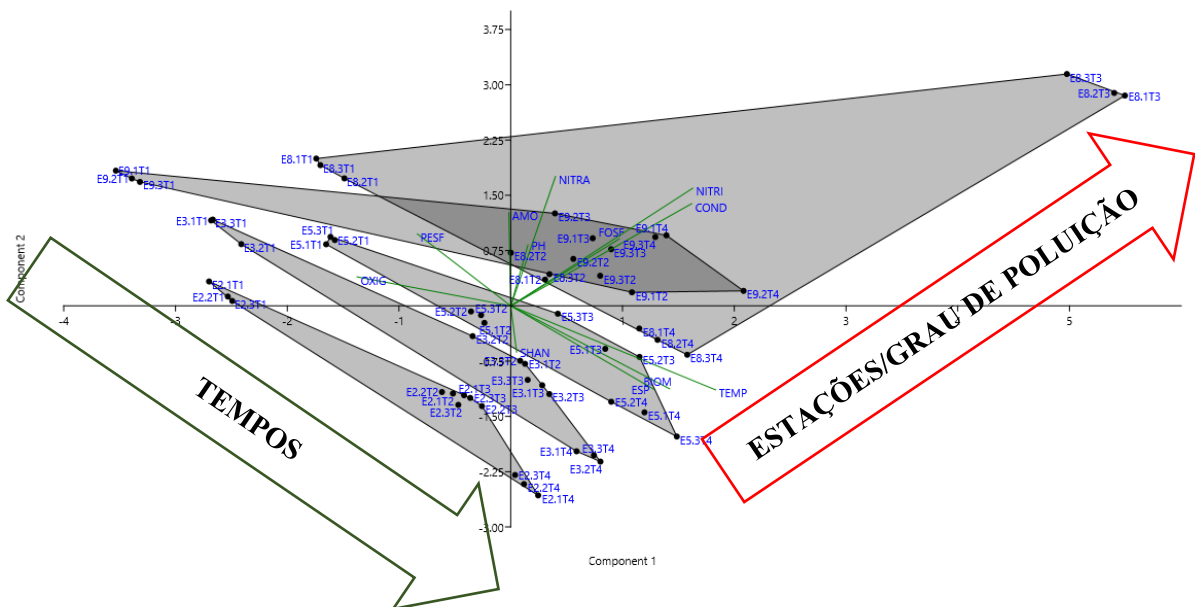


Figura 31 - Análise de componentes principais (PCA) para os 5 locais em estudo ao longo dos 4 tempos (T1 = 7 dias, T2 = 14 dias, T3 = 21 dias, T4 = 28 dias).

Tabela 13 - Two-way ANOSIM da análise de componentes principais.

	Estação de amostragem		Tempo	
	R	p-value	R	p-value
PCA	0,97556	0,0001	0,96605	0,0001

4.4. Discussão

A matéria orgânica alóctone é considerada a maior fonte de energia nos rios de baixa ordem (Vannote et al., 1980). A decomposição da matéria orgânica envolve três fases principais: a lixiviação, o condicionamento pelos micróbios e a fragmentação física e biótica (Peterson & Cummins, 1974).

As folhas de amieiro utilizadas neste estudo são classificadas como de rápida decomposição podendo perder cerca de 50% da sua massa inicial entre 30 a 60 dias (Bärlocher, 1991; Canhoto & Graça, 1996; Pozo, 1993). Neste estudo obtiveram-se altas taxas de decomposição. A menor taxa de perda de massa da folha foi no local E5 com 46% de massa inicial perdida e a maior taxa de perda de massa da folha ocorreu no local E3 com 63% de massa inicial perdida. Além do mais a experiência ocorreu no Inverno, onde as taxas de decomposição costumam ser menores. No Verão as taxas de decomposição são maiores devido às altas temperaturas estimularem a atividade dos decompositores microbianos (Pascoal & Cássio, 2004).

O facto de se terem utilizado sacos de massa grossa pode ter contribuído para a uma alta perda de massa da folha. Existe uma diferença da velocidade de decomposição entre os sacos de malha fina e sacos de malha grossa. Os sacos de malha grossa ficam mais vulneráveis à lixiviação, condicionamento e fragmentação física (pela maior abrasão ocorrida) e biótica (pela maior entrada de macroinvertebrados trituradores). Por outro lado, os sacos de malha fina podem levar a condições com baixas de concentrações de oxigénio podendo ocorrer a possibilidade de inibição da decomposição das folhas (Mesquita, 2003).

A maior perda de massa da folha aconteceu no local E3, um local canalizado com má qualidade ecológica como foi visto no capítulo I, e o local E5, que foi reabilitado por técnicas de engenharia natural, apresentou menor perda de massa da folha. Além disso, existiram diferenças significativas entre os locais de amostragem (ANCOVA, $p < 0,001$).

Pela análise dos declives da tabela 9 é possível formar um gradiente de decomposição da maior perda de massa da folha para a menor: $E3 > E2 > E8 > E9 > E5$. A decomposição das folhas pode ser condicionada por fatores abióticos e por fatores próprios da espécie vegetal. Os fatores abióticos incluem a temperatura, o pH, a velocidade da corrente e a concentração de nutrientes na água e os fatores intrínsecos à espécie vegetal poderão ser o tipo de espécie vegetal, os nutrientes da folha e o período de queda da folha (Graça et al., 2002). Como a espécie vegetal em estudo é a mesma (folhas de amieiro) os fatores intrínsecos à própria folha não podem explicar a decomposição ocorrida e, portanto, esta poderá ser dada por outros fatores.

Como se pode ver na figura 31, o local E3 está associado a altas temperaturas e, também, a uma alta diversidade de macroinvertebrados. Tal como foi dito anteriormente, as altas temperaturas estimulam o crescimento microbiano e, assim, vão facilitar a alimentação da folhada pelos macroinvertebrados trituradores. Além do mais é um local onde existiu uma grande taxa de

esporulação significando uma grande atividade dos fungos. Os altos valores de oxigénio dissolvido também podem explicar o incremento das taxas de decomposição (Mora-Goméz, 2014). Além disso, apesar de não ter sido medida, a velocidade da corrente vista a olho nu era maior neste local, com as fortes chuvadas ocorridas na altura a terem contribuído para isso, o que poderia ter provocado uma maior abrasão física da folha.

No local E5, verificou-se que a biomassa de fungos foi elevada mas a taxa de esporulação foi baixa. Isto significa que existe algum fator que inibe a atividade dos fungos. Além disso, existia pouca diversidade de macroinvertebrados neste local. Outro fator que pode ter provocado uma menor perda de massa da folha no local E5 poderá ter sido o facto de os sacos não estarem bem mergulhados na água e, assim, não ter permitido uma colonização eficaz das folhas pelos fungos e macroinvertebrados.

Seria expectável que o local E8 tivesse maior perda de massa da folha devido à elevada concentração de nutrientes e à elevada condutividade. Estudos sugerem que os rios ricos em nutrientes aumentem a taxa de decomposição da folhada (Meyer & Johnson, 1983; Pascoal et al., 2001). No entanto, Pereira et al (2017) refere que os rios com níveis moderados de eutrofização têm maiores taxas de decomposição das folhas uma vez que há maior abundância e biomassa de macroinvertebrados trituradores.

Foi possível criar um gradiente de poluição do rio onde o local E2 surge como o menos poluído e o local E8 como o mais poluído (figura 31). Fatores como descargas de poluentes poderão ter contribuído para uma variação na qualidade da água do rio ao longo dos tempos. O local E2 apresentou-se como o segundo local com maior perda de massa da folha e como o local com maior índice de diversidade em macroinvertebrados. A decomposição das folhas tende a ser mais rápida quando existem níveis mais altos de diversidade de macroinvertebrados (Lima-Fernandes et al., 2016).

O estudo feito permitiu, então, retirar algumas conclusões como a funcionalidade de um rio urbanizado e canalizado e informações sobre a utilização das métricas funcionais face às métricas estruturais. No entanto teve algumas limitações: a experiência deveria ter sido efetuada durante mais tempo e, também, em mais locais (é de referir a falta de estudo da decomposição no local da nascente); a experiência deveria de ter sido feita com diferentes espécies de folhas (Gartner & Cardon, 2004); além da contagem dos esporos dos fungos aquáticos, deveriam ter sido feitas as identificações das espécies de fungos uma vez que permitiria conhecer a diversidade de fungos em cada local e quais os locais que se associavam (a mudança das espécies de fungos nos rios poderá explicar as diferenças encontradas na biomassa de fungos e na taxa de esporulação (Pereira et al., 2017)); deveriam ter sido feitas de análises baseadas no DNA (como o DGGE) uma vez que permitiria avaliar o efeito da qualidade da água na comunidade de fungos (Raviraja et al., 2005).

Capítulo IV

5. Conclusões e perspectivas futuras

Quando falamos em “avaliação da qualidade ecológica” além da presença ou ausência de determinados organismos é necessário também ter em conta as respostas desse organismo face ao ambiente. Aliás, o termo “ecologia” significa isso mesmo, as relações e as interações entre os organismos e dos organismos com o ambiente.

Neste trabalho, a utilização de métricas funcionais permitiu uma análise complementar da qualidade ecológica do rio Este face às métricas estruturais baseadas na Diretiva Quadro da Água. A taxa de decomposição das folhas, a biomassa de fungos e a taxa de esporulação permitiram perceber a dinâmica e a colonização pelos fungos e macroinvertebrados existentes no rio.

Com a utilização das métricas funcionais foi possível verificar-se que o local E3, que é um local canalizado, apresentou uma alta taxa de decomposição e uma grande atividade dos fungos. Por outro lado, pelas métricas estruturais, o local apresentava-se como um local com má qualidade ecológica.

No entanto, a utilização das métricas estruturais pareceu ser menos dispendiosa devido ao facto de se utilizarem metodologias que não envolveram a utilização de muitos reagentes contrariamente às métricas funcionais, principalmente na quantificação do ergosterol.

A intervenção de reabilitação fluvial ocorrida no ponto E5 ainda é recente sendo necessárias análises ao longo dos próximos anos para avaliar os efeitos das medidas implementadas nomeadamente na comunidade de macroinvertebrados, vegetação ribeirinha, taxa de decomposição e atividade dos fungos. O estudo feito nesta dissertação foi importante na medida em que foi uma primeira abordagem aos efeitos positivos que a intervenção pode ter no ecossistema de rio servindo de base de comparação para análises futuras. Além disso, a análise estrutural da comunidade de macroinvertebrados revelou melhores resultados do que a análise funcional nesse ponto. Na altura da experiência a vegetação ribeirinha ainda não tinha um crescimento suficiente provavelmente contribuindo para explicar os ligeiros efeitos benéficos nas taxas de decomposição e na colonização dos fungos apesar de já se notarem melhorias na comunidade de macroinvertebrados. Com o passar dos anos a vegetação ribeirinha vai crescendo e juntamente com a hidromorfologia reabilitada a diversidade em organismos e a funcionalidade do sistema poderá aumentar.

Assim, futuramente serão necessários estudos estruturais e funcionais. Além disso, poderão ser utilizadas novas técnicas de biomonitorização baseadas no DNA.

É, de resto, nas técnicas moleculares que nos últimos anos se tem focado a investigação como uma ferramenta de biomonitorização para o futuro. As técnicas moleculares focam sobretudo na

identificação de espécies e na diversidade genética (Li et al., 2010; Woodward et al., 2013). O uso de marcadores moleculares como os ácidos nucleicos (DNA e RNA) fornecem dados taxonómicos e funcionais com menor custo e em menor tempo do que os métodos clássicos. O facto de existirem atualmente métodos mais eficazes de sequenciamento de DNA de baixo custo (por exemplo, a Sequenciação de Nova Geração – NGS), métodos mais eficazes de extrair DNA de amostras ambientais e outras novas técnicas baseadas no DNA (por exemplo, o barcoding) é uma prova de que existe um grande potencial para que os métodos moleculares se tornem um método para avaliar a diversidade nos rios a nível global (Jackson et al., 2016).

Referências bibliográficas

- Acreman, M. C., & Ferguson, A. J. D. (2010). Environmental flows and the European Water Framework Directive. *Freshwater Biology*, 55(1): 32–48.
- Alba-Tercedor, J., & Sánchez Ortega, A. (1988). A simple and quick method to evaluate biological quality of running freshwater based on Hellawell (1978). *Limnetica*, 4: 51-56.
- Alba Tercedor, J., Jáimez-Cuéllar, P., Álvarez, M., Avilés, J., Bonada i Caparrós, N., Casas, J., Prat & Fornells, N. (2002). Caracterización del estado ecológico de ríos mediterráneos ibéricos mediante el índice IBMWP (antes BMWP'). *Limnetica*, 21(2): 175–185.
- Antunes, A. L. G. (2016). Caracterização Química e Isotópica das Águas Subterrâneas da Bacia Hidrográfica do Rio Almonda. *Tese de mestrado, Universidade de Lisboa*: 1-78.
- Armitage, P. D., Moss, D., Wright, J. F., & Furse, M. T. (1983). The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water research*, 17(3): 333-347.
- Azlak, M., Yildirim, E., Faydaoğlu, E., Anul, N., & Dikmen, B. (2017). An Approach for Monitoring and Assessment of Hydromorphological Water Quality at Different Waterbody Types by Using Standard Method. *International Water Resources Association (IWRA)*: 1–12.
- Azrina, M. Z., Yap, C. K., Rahim Ismail, A., Ismail, A., & Tan, S. G. (2006). Anthropogenic impacts on the distribution and biodiversity of benthic macroinvertebrates and water quality of the Langat River, Peninsular Malaysia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(3): 337–347.
- Bailey R. C., Norris R. H., & Reynoldson T. B. (2004). Bioassessment of Freshwater Ecosystems. *Bioassessment of Freshwater Ecosystems*, 33(4) Springer: 1-15.
- Barbour, M. T. (1998). USEPA Rapid Bioassessment Protocols For Use in Streams and Wadeable Rivers. *U.S. Environmental Protection Agency*: 1–35.
- Barlocher, F., (1991). Fungal colonization of fresh and dried leaves in the River Teign (Devon, England). *Nova Hedwigia*, 52: 349-357.
- Basset, A., Sangiorgio, F., & Pinna, M. (2004). Monitoring with benthic macroinvertebrates: Advantages and disadvantages of body size descriptors. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 14(4): 43–58.
- Bonada, N., Prat, N., Resh, V. H., & Statzner, B. (2005). Developments in aquatic insect biomonitoring: A Comparative Analysis of Recent Approaches. *Annual Review of Entomology*, 51: 495–523.
- Bondaruk, J., Janson, E., Wysocka, M., & Chałupnik, S. (2015). Identification of hazards for water environment in the Upper Silesian Coal Basin caused by the discharge of salt mine

- water containing particularly harmful substances and radionuclides. *Journal of Sustainable Mining*, 14(4): 179–187.
- Boyero, L., Pearson, R. G., Hui, C., Gessner, M. O., Pérez, J., Alexandrou, M. A., ..., Yule, C. M. (2016). Biotic and abiotic variables influencing plant litter breakdown in streams: a global study. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 283(1829): 1-10.
- Brinkhurst, R.O. (1974). The Benthos of Lakes. *St. Martin's Press, New York*, 61(4):1-190.
- Cairns, J., & Pratt, J. R. (1993). A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*, 7(15): 10–27.
- Canhoto, C., & Graça, M. A. S. (1996). Decomposition of *Eucalyptus globulus* leaves and three native leaf species (*Alnus glutinosa*, *Castanea sativa* and *Quercus faginea*) in a Portuguese low order stream. *Hydrobiologia*, 333(2): 79–85.
- Ceschin, S., Zuccarello, V., & Caneva, G. (2010). Role of macrophyte communities as bioindicators of water quality: Application on the Tiber river basin (Italy). *Plant Biosystems*, 144(3): 528–536.
- Chovanec, A., Hofer, R. & Schiemer, F. (2003). Fish as bioindicators. *Trace metals and other contaminants in the environment*, 6(18): 639-676.
- Clapcott, J., Pingram, M., & Collier, K. J. (2012). Review of Functional and Macroinvertebrate Sampling Methods for Non-Wadeable Rivers. *Marlborough District Council. Cawthron Report*, 2222: 1-55.
- Clark, D. R., Ferguson, R. M. W., Harris, D. N., Matthews Nicholass, K. J., Prentice, H. J., Randall, K. C., ... Dumbrell, A. J. (2018). Streams of data from drops of water: 21st century molecular microbial ecology. *Wiley Interdisciplinary Reviews*, 5(4): *Water*: 1-10.
- Coelho, D., Hughes, S. J., Varandas, S., & Cortes, R. M. V. (2014). Conservation benefits of riparian buffers in urban areas: the case of the Rio Corgo (north Portugal). *Fundamental and Applied Limnology / Archiv Für Hydrobiologie*, 185(1): 55–70.
- Duarte, S., Pascoal, C., & Cássio, F. (2004). Effects of zinc on leaf decomposition by fungi in streams: Studies in microcosms. *Microbial Ecology*, 48(3): 366–374.
- Duarte, S., Pascoal, C., Cássio, F., & Bärlocher, F. (2006). Aquatic hyphomycete diversity and identity affect leaf litter decomposition in microcosms. *Oecologia*, 147(4): 658–666.
- EC (2000). Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*: 66-106.
- Feio, M. J., & Poquet, J. M. (2011). Predictive Models for Freshwater Biological Assessment: Statistical Approaches, Biological Elements and the Iberian Peninsula Experience: A Review. *International Review of Hydrobiology*, 96(4): 321–346.

- Ferreira, W. R., Paiva, L. T., & Callisto, M. (2011). Development of a benthic multimetric index for biomonitoring of a neotropical watershed. *Brazilian Journal of Biology*, 71(1): 15–25.
- Findlay, S. J., & Taylor, M. P. (2016). Why rehabilitate urban river systems?. *Area*, 38(3): 312–325.
- Foissner, W. (1988). Taxonomic and nomenclatural revision of Sladeczek's list of ciliates (Protozoa: Ciliophora) as indicators of water quality. *Hydrobiologia*, 166(1): 1- 64.
- Francis, R. A. (2012). Positioning urban rivers within urban ecology. *Urban Ecosystems*, 15(2): 285–291.
- Friberg, N., Bonada, N., Bradley, D. C., Dunbar, M. J., Edwards, F. K., Grey, J., Woodward, G. (2011). Biomonitoring of Human Impacts in Freshwater Ecosystems. The Good, the Bad and the Ugly. *Advances in Ecological Research*, 44: 1–68.
- Garcia, X. F., Schnauder, I., & Pusch, M. T. (2012). Complex hydromorphology of meanders can support benthic invertebrate diversity in rivers. *Hydrobiologia*, 685(1): 49–68.
- Gartner, T. B., & Cardon, Z. G. (2004). Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos*, 104(2): 230–246.
- Gerhardt, A., Carlsson, A., Ressemann, C. & Stich, K.P., (1998). New online biomonitoring system for *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea): in situ test below a copper effluent in South Sweden. *Environmental Science and Technology*, 32(1): 150-156.
- Gessner, M. O., Chauvet, E. & Dobson, M. (1999). A perspective on leaf litter breakdown in streams. *Oikos*, 85(2): 377-384.
- Gessner, M. O., & Chauvet, E. (2002). A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological applications*, 12(2): 498-510.
- Gibbons, W. N., Paine, M. D., & Munn, M. (1993). Guidelines for monitoring benthos in freshwater environments. *EVS Consultant*: 1-87.
- Giúmenes, K. Z., Cunha-Santino, M. B., & Bianchini, I. Jr. (2010). Decomposição de matéria orgânica alóctone em ecossistemas aquáticos, 14(4): 1036–1073.
- Gomes, P. T., Pascoal, C., Faria, A. M., Pinho, M., Soares, N. N., Leite, A. S., & Botelho, A. (2001). Património Natural da Bacia do Ave. *Universidade do Minho*: 1-72.
- González del Tánago, M., & García De Jalón, D. (2006). Attributes for assessing the environmental quality of riparian zones. *Limnetica*, 25(1–2): 389–402.
- Goulart, M. D. C., & Callisto, M. (2003). Bioindicadores de Qualidade de Água como Ferramenta em Estudos de Impacto Ambiental. *Revista da FAPAM*, 2(2): 153–164.
- Graça, M. A. S. (2001). The role of Invertebrates on Leaf Litter Decomposition in Streams - a Review. *Hydrobiology*, 86(4-5): 383-393.
- Graça, M. A. S., Pozo, J., Canhoto, C. & Elósegui, A. (2002). Effects of *Eucalyptus* plantations on detritus, decomposers, and detritivores in streams. *The Scientific World Journal*!, 30(2): 1173-1185.

- GraphPad Prism version 6.00 for Windows (2012). GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com
- Guhl, W. (1987). Aquatic ecosystem characterizations by biotic indices. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie*, 72(4): 431-55.
- Gulis, V., & Suberkropp, K. (2003). Leaf litter decomposition and microbial activity in nutrient-enriched and unaltered reaches of a headwater stream. *Freshwater Biology*, 48(1): 123-134.
- Hajdukiewicz, H., Wyzga, B., Zawiejska, J., Amirowicz, A., Oglecki, P., & Radecki-Pawlik, A. (2017). Assessment of river hydromorphological quality for restoration purposes: An example of the application of RHQ method to a Polish Carpathian river. *Acta Geophysica*, 65(3): 423–440.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., & Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1): 1-9.
- Hardersen, S. (2000). The role of behavioural ecology of damselflies in the use of fluctuating asymmetry as a bioindicator of water pollution. *Ecological Entomology*, 25(1): 45-53.
- Hattikudur, R. S., Alakananda, B. & Ramachandra, T. V. (2014). LAKE 2014: Conference on Conservation and Sustainable Management of Wetland Ecosystems in Western Ghats. *Sahyadri Conservation Series*, 47: 206-214.
- Hawkes, H. (1997). Origin and development of the biological monitoring working party score system. *Water Research*, 32(3): 964–968.
- Hering, D., Johnson, R. K., Kramm, S., Schmutz, S., Szoszkiewicz, K., & Verdonshot, P. F. M. (2006). Assessment of European streams with diatoms, macrophytes, macroinvertebrates and fish: A comparative metric-based analysis of organism response to stress. *Freshwater Biology*, 51(9): 1757–1785.
- Hester, F. E., & Dendy, J. S. (1962). A Multiple-Plate Sampler for Aquatic Macroinvertebrates. *Transactions of the American Fisheries Society*, 91(4): 420–421.
- Hill, B.H., Lazorchak, J.M., McCormick, F.H., & Willingham, W.T., (1997). The effects of elevated metals on benthic community metabolism in a Rocky Mountain stream. *Environmental Pollution*, 95(2): 183-190.
- Hilsenhoff, W. L. (1969). An artificial substrate device for sampling benthic stream invertebrates. *Limnol. Oceanography*, 14(3): 465–471.
- Ibrahima, A., Joffre, R., & Gillon, D. (1995). Changes in litter during the initial leaching phase: An experiment on the leaf litter of Mediterranean species. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(7): 931–939.
- Inag, I. P. (2008). Tipologia de rios em portugal continental no âmbito da implementação da directiva quadro da água. I - Caracterização abiótica. *Ministério Do Ambiente, Do Ordenamento Do Território E Do Desenvolvimento Regional, Instituto Da Água, IP*.

- Inag, I. P. (2009). Critérios para a Classificação do Estado das Massas de Água Superficiais Rios e Albufeiras. *Ministério Do Ambiente, Do Ordenamento Do Território E Do Desenvolvimento Regional. Instituto Da Água, IP.*
- Ingold, C. T. (1975). Guide to aquatic and water-borne Hyphomycetes (Fungi Imperfecti) with notes on their biology. *Hydrobiology, 61(2):* 1-96.
- Iñiguez-Armijos, C., Rausche, S., Cueva, A., Sánchez-Rodríguez, A., Espinosa, C., & Breuer, L. (2016). Shifts in leaf litter breakdown along a forest–pasture–urban gradient in Andean streams. *Ecology and Evolution, 6(14):* 4849–4865.
- Jackson, M. C., Weyl, O. L. F., Altermatt, F., Durance, I., Friberg, N., Dumbrell, A. J., ... Woodward, G. (2016). Recommendations for the Next Generation of Global Freshwater Biological Monitoring Tools. *Advances in Ecological Research, 1(55):* 615-636.
- Jáimez-Cuéllar, P., Vivas, S., Bonada, N., Robles, S., Mellado, A., Álvarez, M., Jáimez-Cuéllar, P. (2002). Protocolo GUADALMED (PRECE). *Limnetica, 21 (2):* 187–204.
- Jenačković, D. D., Zlatković, I. D., Lakušić, D. V., & Randelović, V. N. (2016). Macrophytes as bioindicators of the physicochemical characteristics of wetlands in lowland and mountain regions of the central Balkan Peninsula. *Aquatic Botany, 134:* 1–9.
- Johnson, A. (2011). Natural versus channelized streams. *University of South Alabama:* 1-7.
- Kalff, J. (2002). Dissolved Oxygen. *Limnology: Inland Water Ecosystems:* 226–238.
- Karr, J. (1981). Assesment of Biotic Integrity Using Fish Communities. *Fisheries, 6:* 21-27.
- Karr, J. R., & Dudley, D. R. (1981). Ecological perspective on water quality goals. *Environmental Management, 5(1):* 55–68.
- Karr, J. R., & Chu, E. W. (1997). Biological monitoring and assessment: using multimetric indexes effectively. *University of Washington:* 1–149.
- Kolkwitz, R., & Marsson, M. (1909). Okologie der tierischen Saprobien. *Int. Rev. Gesamten Hydrobiol. 2:* 126–152.
- Kovács, K., Selmeczy, G. B., Kucserka, T., Abdel-Hameid, N. A. H., & Padisák, J. (2011). The effect of stream bed morphology on shredder abundance and leaf-litter decomposition in Hungarian midland streams. *Polish Journal of Environmental Studies, 20(6):* 1547–1556.
- Lalonde, B. A., Garron, C., & Mercier, V. (2016). Analysis of benthic invertebrate communities downstream of land-based aquaculture facilities in Nova Scotia, Canada. *Cogent Environmental Science, 2(1):* 1-11.
- Lecerf, A., & Chauvet, E. (2008). Intraspecific variability in leaf traits strongly affects alder leaf decomposition in a stream. *Basic and Applied Ecology, 9(5):* 598–605.
- Li, L., Zheng, B., & Liu, L. (2010). Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: Definitions, approaches and trends. *Procedia Environmental Sciences, 2:* 1510–1524.

- Lima-Fernandes, E., Pereira, A., Geraldes, P., Fernandes, I., Cássio, F., & Pascoal, C. (2016). Structural and functional measures of leaf-associated invertebrates and fungi as predictors of stream eutrophication. *Ecological Indicators*, *69*(3): 648–656.
- Linke, S., Norris, R.H., Faith, D.P., & Stockwell, D. (2005). ANNA: a new prediction method for bioassessment programs. *Freshwater Biology*, *50*(1): 147-158.
- Lobo E.A., Katoh K., & Aruga Y. (1995) Response of epilithic diatom assemblages to water pollution in rivers in the Tokyo Metropolitan area. *Freshwater Biology*, *34*(1): 191–204
- Lobo, E. A., Heinrich, C. G., Schuch, M., Wetzel, C. E., & Ector, L. (2016). Diatoms as Bioindicators in Rivers BT - River Algae. *O. Necchi JR (Ed.), Springer International Publishing*, *1*: 245–271
- Lorenzo, P., González, L., & Reigosa, M. J. (2010). The genus *Acacia* as invader: the characteristic case of *Acacia dealbata*. *Annals of Forest Science*, *67*(1): 1-101
- Marín, E., N, L., Hernández, E., & Rúa, A. (2001). Análisis de la acidez de la precipitación en la península ibérica. *Finisterra*, *36*(71): 103–113.
- Mason, C. F. (2002). Biology of freshwater pollution. *Pearson Education*, *4*: 1-375.
- Mesquita, A. M. M. (2003). Decomposição da folhada de *Eucalyptus globulus* em sistemas lóticos: papel dos macroinvertebrados e dos fungos aquáticos. *Tese de mestrado, Universidade do Porto*: 1-56.
- Metcalf, J. L., (1989). Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrates communities: history and present status in Europe. *Envir. Poll*, *60*(1-2): 101–139.
- Meyer, J. L. & Johnson, C. (1983). The influence of elevated nitrate concentration on rate of leaf decomposition in a stream. *Freshwater Biology*, *13*(2): 177-183.
- Momolli, D., Mohr Giesbrecht, B., César Medeiros Da Silva, J., Guimarães, C., & Rockenbah, T. (2013). Decomposição de folhas da serapilheira de *eucalyptus dunnii* plantado no oeste do Rio Grande do Sul. *Conference paper*: 1-6.
- Mora-Gómez, J. (2014). Leaf litter decomposition in Mediterranean streams: microbial processes and responses to drought under current global change scenario. *Universitat de Girona*: 1–214.
- Moreno, P., & Callisto, M. (2004). Bioindicadores de qualidade de água ao longo da bacia do rio das velhas (MG). *Bioindicadores de Qualidade de Água*: 95–116.
- Munné A., C. Solá, N. Prat. (1998). QBR: Un índice rápido para la evaluación de la calidad de los ecosistemas de ribera. *Tecnología del Agua*, *175*: 20-37.
- Norris, R. H., & Hawkins, C. P. (2000). Monitoring river health. *Hydrobiologia*, *435*(1-3): 5–17.
- Parmar, T. K., Rawtani, D., & Agrawal, Y. K. (2016). Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. *Frontiers in Life Science*, *9*(2): 110–118.



- Pascoal, C., Cássio, F. & Gomes, P. (2001). Leaf breakdown rates: a measure of water quality? *Inter. Rev. Hydrobiol*, 86: 407-416.
- Pascoal, C., & Cássio, F. (2004). Contribution of Fungi and Bacteria to Leaf Litter Decomposition in a Polluted River Contribution of Fungi and Bacteria to Leaf Litter Decomposition in a Polluted River. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(9): 5266–5273.
- Pascoal, C., Cássio, F., Marcotegui, A., Sanz, B., Gomes, P. (2005). Role of fungi, bacteria, and invertebrates in leaf litter breakdown in a polluted river. *Journal of The North American Benthological Society*, 24(4): 784-797.
- Paul, M. J., & Meyer, J. L. (2001). Treams in the Urban Landscape. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32(1): 333–365.
- Pereira, A. (2011). Effects of plant-litter quality on litter decomposition by benthic invertebrates along a gradient of eutrophication. *Tese de Mestrado, Universidade do Minho*: 1-47.
- Pereira, A., Trabulo, J., Fernandes, I., Pascoal, C., Cássio, F., & Duarte, S. (2017). Spring stimulates leaf decomposition in moderately eutrophic streams. *Aquatic Sciences*, 79(1): 197–207.
- Petersen, R. C. and Cummins, K. W. (1974). Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biology*, 4(4): 343-368.
- Piairo, H. (2013). Biomonitorização Ambiental em Portugal Continental Uma Análise Espacial e Temporal. *Tese de Mestrado, Universidade do Minho*: 1-130.
- Pio S. & Henriques A.G. (2000). O Estado Ecológico como critério para a Gestão Sustentável das Águas de Superfície. Lisboa, *Comunicação apresentada ao 5º Congresso da Água “A Água e o Desenvolvimento Sustentável”*.
- Pozo, J. (1993). Leaf litter procesing of alder and eucalyptus in the Agttera stream system (North Spain) I. Chemical changes. *Hydrobiology* 127: 299-317.
- Prat, D., Leger, C., & Bojovic, S. (1992). Genetic diversity among *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. populations. *Acta oecologica* 13(4): 469-477.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Raviraja, N. S., Nikolcheva, L. G., & Bärlocher, F. (2005). Diversity of conidia of aquatic hyphomycetes assessed by microscopy and by DGGE. *Microbial Ecology*, 49(2): 301–307.
- Resh, V. H. (2008). Which group is best? Attributes of different biological assemblages used in freshwater biomonitoring programs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 138(1-3): 131–138.
- Sánchez-Montoya, M. M., Vidal-Abarca, M. R., Puntí, T., Poquet, J. M., Prat, N., Rieradevall, M., & Suárez, M. L. (2009). Defining criteria to select reference sites in Mediterranean streams. *Hydrobiologia*, 619: 39–54.

- Schneider, S., & Melzer, A. (2003). The Trophic Index of Macrophytes (TIM) - A new tool for indicating the trophic state of running waters. *International Review of Hydrobiology*, 88(1): 49–67.
- Schwedt, G., Reiter, C., Uthemann, R., & Grabert, E. (1997). Development of an automated bacterial luminescence test for biomonitoring of environmental contaminants. *Fresenius' journal of analytical chemistry*, 359(2): 155-160.
- Siligardi, M. (Ed.). (2007). IFF 2007: Indice di funzionalità fluviale. *ANPA; Provincia autonoma di Trento, 4: 1-323*.
- Silva, A.; Monteiro, A.; Dinis, A.; Guerreiro, M. J.; Barros, N.; Jesus, T. (2012). Characterization of the water quality and some parameters related with the ecological status of Este river (Portugal), *Limnologia 2012 - XVI Congresso da Sociedade Ibérica de Limnologia* (Poster)
- Simpson, J. C., & Norris, R. H. (2000). Biological assessment of river quality: development of AUSRIVAS models and outputs. *Assessing the biological quality of fresh waters: RIVPACS and other techniques. Proceedings of an International Workshop held in Oxford, UK: 125-142*.
- Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos. Agência Portuguesa do Ambiente. (2018). Disponível em: <http://snirh.apambiente.pt/index.php?idMain=4&idItem=2&idSubtem=2&bacia=Ave>
- Soares, H. M. V. M., Boaventura, R. A. R., Machado, A. A. S. C., Esteves Da Silva, J. C. G. (1999). Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave river basin (Portugal): Multivariate analysis of data. *Environmental Pollution*, 105(3): 311–323.
- SPEA. (2014). Documento orientador para o controlo de plantas invasoras. *Projecto LIFE furabardos*.
- Springe, G., Sandin, L., Briede, A., & Skuja, A. (2006). Biological quality metrics: Their variability and appropriate scale for assessing streams. *Hydrobiologia*, 566(1): 153–172.
- Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P. (1999). Seasonal variation in the abundance, biomass and biodiversity of earthworms in soils contaminated with metal emissions from a primary smelting works. *Journal of Applied Ecology*, 36(1): 173–183.
- Steffen, K., Leuschner, C., Müller, U., Wiegleb, G., Becker, T. (2014). Relationships between macrophyte vegetation and physical and chemical conditions in northwest German running waters. *Aquat. Bot*, 113: 46–55.
- Svejcar, T. (1997). Riparian Zones: 1) What Are They and How Do They Work? *Rangelands*, 19(4): 4-7.
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., & Usseglio-Polatera, P. (2000). Invertébrés d'eau douce: systématique, biologie, écologie. *Paris: CNRS editions*, 15: 1-587.
- Teiga, P. (2003). Reabilitação de Ribeiras em Zonas Edificadas, *Dissertação de Mestrado, FEUP: 1-278*.

- Teiga, P., Coelho, J., & Maia, R. (2009). Proposta de indicadores de acompanhamento de obras de reabilitação fluvial – caso de estudo do rio Este, Braga. Development of Indicators to Monitor River Rehabilitation Works – Case Study of Rio Este, Braga. *FEUP*: 1-12.
- Vannote, R. L., Minshall, G. W., Cummins, K. W., Sedell, J. R., & Cushing, C. E. (1980). The river continuum concept. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 37(1): 130-137.
- Veloso, R. N. B. (2014). Sistema de previsão e alerta de cheias e inundações no rio Este. *Tese de Doutoramento, Universidade do Minho*: 1-122.
- Vieira, M. C. R. (2000). Adsorção de metais pesados nas partículas em suspensão nas águas naturais. Influência das características físico-químicas das superfícies. *Universidade do Porto*: 1-94.
- Webster, J. R., & Benfield, E. F. (1986). Vascular Plant Breakdown in Freshwater Ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1): 567–594.
- Wheater, P.C., Bell, J.R. & Cook, P.A. (2011) Practical Field Ecology: A Project Guide. *Wiley-Blackwell, Oxford*, 38(8): 1-388.
- Woodward, G., Gray, C., & Baird, D. J. (2013). Biomonitoring for the 21st Century: new perspectives in an age of globalisation and emerging environmental threats. *Limnetica*, 32(2): 159–174.
- Wright, J., Sutcliffe, D. and Furse, M. (2000). Assessing the biological quality of fresh waters: RIVPACS and other techniques. *The Freshwater Biological Association, Ambleside*: 1-24.
- Young, R. G., Townsend, C. R., & Matthaei, C. D. (2004). Functional indicators of river ecosystem health – an interim guide for use in New Zealand. *Zoology*, 870: 1-60.
- Ziglio, G., Flaim, G., & Siligardi, M. (Eds.). (2008). Biological monitoring of rivers: applications and perspectives. *John Wiley & Sons*, 19: 1-461

ANEXOS

ANEXO I - Índice de Habitat Fluvial (Jáimez-Cuellar et. al., 2002).

Fluvial Habitat Index for Mediterranean streams. Index IHF									
		<table border="1"> <tr><td>Sampling site</td><td></td></tr> <tr><td>Data</td><td></td></tr> <tr><td>Operator</td><td></td></tr> </table>		Sampling site		Data		Operator	
		Sampling site							
		Data							
Operator									
<table border="1"> <tr> <th>Parts</th> <th colspan="2">Score</th> </tr> </table>		Parts	Score						
Parts	Score								
1. Embeddedness in riffles and runs – sedimentation in pools									
Riffles	Stones, pebbles and gravel embebed in fine sediment in 0 - 30%.	10							
	Stones, pebbles and gravel embebed in fine sediment in 30 - 60%.	5							
	Stones, pebbles and gravel embebed in fine sediment in > 60%.	0							
Pools	Sedimentation 0 - 30%	10							
	Sedimentation 30 - 60%	5							
	Sedimentation > 60%	0							
TOTAL (only one score from pools or from riffles)									
2. Riffle frequency									
	High frequency of riffles. Ratio: distance between riffles / stream width < 7	10							
	Medium. Ratio: distance between riffles / stream width 7 - 15	8							
	Oeassional. Ratio: distance between riffles / stream width 15 - 25	6							
	Scarce or null, laminar flow. Ratio: distance between riffles / stream width >25	4							
	Only pools	2							
TOTAL (only one score)									
3. Substrate composition									
		1 - 10%	2						
% Boulders and stones	> 10%		5						
		1 - 10%	2						
% Pebbles and gravels	> 10%		5						
		1 - 10%	2						
% Sand	> 10%		5						
		1 - 10%	2						
% Silt and clay	> 10%		5						
TOTAL (sum of scores of each class of substrate)									
4. Velocity/depth regime									
shallow: < 0.5 m slow: < 0.3 m/s	4 classes present. Slow-depth, slow-shallow, fast-depth and fast-shallow.	10							
	Only 3 of 4 regimes	8							
	Only 2 of 4 regimes	6							
	Only 1 regime	4							
TOTAL (only one score)									
5. Shading of river bed									
	Shaded with some open areas	10							
	Completely shaded	7							
	Large open areas	5							
	Not shaded	3							
TOTAL (only one score)									
6. Heterogeneity components									
		> 10% or < 75%	4						
Leaf litter		< 10% or > 75%	2						
Presence of branches and wood in the stream			2						
Tree roots in the banks			2						
Natural dams			2						
TOTAL (sum of scores of each class)									
7. Aquatic vegetation cover									
		10 - 50%	10						
% Plocon + mosses		< 10% or > 50%	5						
		10 - 50%	10						
% Pecton		< 10% or > 50%	5						
		10 - 50%	10						
% Phanerogams + Charales		< 10% or > 50%	5						
TOTAL (sum of scores of each class)									
		<table border="1"> <tr> <td>HID98-0323-C05 ; REN2001-3438-C07</td> <td>FINAL SCORE (Addition of all previous scores)</td> </tr> </table>		HID98-0323-C05 ; REN2001-3438-C07	FINAL SCORE (Addition of all previous scores)				
HID98-0323-C05 ; REN2001-3438-C07	FINAL SCORE (Addition of all previous scores)								

The original description of the IHF index was made by Pardo *et al.*, *Limnética in press*

ANEXO II – Pontuações das famílias de macroinvertebrados utilizadas no cálculo do IBMWP (Adaptado de: Alba-Tercedor et al., 2002).

Famílias	Pontuação
Siphonuridae, Heptageniidae, Leptophlebiidae, Potamanthidae, Ephemeridae Taeniopterygidae, Leuctridae, Capniidae, Perlodidae, Perlidae Chloroperlidae Aphelocheiridae Phryganeidae, Molannidae, Beraeidae, Odontoceridae, Leptoceridae, Goeridae Lepidostomatidae, Brachycentridae, Seriscostomatidae Athericidae, Blephariceridae	10
Astacidae Lestidae, Calopterygidae, Gomphidae, Cordulegasteridae Aeshnidae, Corduliidae, Libellulidae Psychomyiidae, Philopotamidae, Glossomatidae	8
Ephemerellidae Nemouridae Rhyacophilidae, Polycentropodidae, Limnephelidae	7
Neritidae, Viviparidae, Ancyliidae Hydroptilidae Unionidae Corophilidae, Gammaridae Platycnemididae, Coenagriidae	6
Oligoneuridae, Dryopidae, Elmidae, Helophoridae, Hydrochidae, Hydraenidae, Clambidae, Hydropsychidae Tipulidae, Simuliidae Planariidae, Dendrocoelidae, Dugesiiidae	5
Baetidae, Caenidae Haliplidae, Curculionidae, Chrysomelidae Tabanidae, Stratiomyidae, Empididae, Dolichopodidae, Dixidae Ceratopogonidae, Anthomyidae, Limoniidae, Psychodidae Sialidae Piscicolidae Hydracarina	4
Mesoveliidae, Hydrometridae, Gerridae, Nepidae, Naucoridae, Pleidae Notonectidae, Corixidae Veliidae, Helodidae, Hydrophilidae, Hygrobiidae, Dytiscidae, Gyrinidae Valvatidae, Hydrobiidae, Lymnaeidae, Physidae, Planorbidae Bithyniidae, Bythinellidae, Sphaeridae Glossiphonidae, Hirudidae, Erpobdellidae Asellidae, Ostracoda	3
Chironomidae, Culicidae, Ephydriidae, Thaumaleidae	2
Oligochaeta, Syrphidae	1

ANEXO III – Lista e abundância dos macroinvertebrados bentônicos

Ordem	Taxa	Grupo funcional	Famílias													Ordem				
			Elu	Eld	E2	E3	E4	E5r	E5p	E5	E6	E7p	E7r	E8	E9	E2	E3	E5	E8	E9
Ephemeroptera	Baetidae	Collgath	0	0	5	0	48	44	5	0	11	0	1	0	8	2	1	0	4	0
	Caenidae	Collgath	0	0	2	0	5	5	24	4	22	0	0	28	6	2	0	15	0	3
	Ephemerellidae	Collgath	0	0	20	6	1	26	15	0	10	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	Ephemeridae	Collgath	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Heptageniidae	Collgath	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Leuctridae	Collgath	4	20	6	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Nemouridae	Stre	38	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trichoptera	Philopotamidae	Collgath	0	5	1	0	0	0	2	1	0	0	5	1	11	1	1	2	0	1
	Hydropsychidae	Filt	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Rhyacophilidae	Pred	5	2	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0
	Limnephilidae	Stre	5	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hydropsilidae	Stre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Glossosomatidae	Scrap	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Senticostomidae	Stre	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pycnomidae	Collgath	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Leptoceridae	Collgath	1	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Halpidae	Stre	0	0	0	0	0	0	0	1	5	2	2	0	0	0	0	0	0	1
Coleoptera	Dytiscidae	Pred	10	5	6	0	0	0	1	0	2	0	1	0	1	1	0	1	0	0
	Helophoridae	Stre	1	1	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hydrastriidae	Scrap	7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hydrophilidae	Pred	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Helicidae	Stre	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Elnidae	Stre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Gyrinidae	Scrap	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Dryopidae	Pred	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Neptidae	Pred	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Velidae	Pred	8	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Heteroptera	Gerridae	Pred	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Notonectidae	Pred	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Caballeroiidae	Pred	0	0	1	1	2	4	9	13	2	1	1	0	0	0	5	0	0	0
	Cordulegasteridae	Pred	2	9	3	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	4
	Gomphidae	Pred	0	0	3	2	0	2	1	1	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	Libellulidae	Pred	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Coenagrionidae	Pred	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	Corduliidae	Pred	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	Aeschnidae	Pred	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	Ceratopogonidae	Pred	2	8	3	0	7	8	3	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Diptera	Chironomidae	Collgath	98	22	167	19	729	356	179	91	382	104	611	71	183	246	5	10	8	5
	Simuliidae	Filt	0	5	12	7	119	62	3	1	0	2	106	8	73	1	3	11	1	0
	Dixidae	Filt	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tipulidae	Stre	1	0	1	0	0	2	3	3	0	0	0	3	0	3	0	2	0	1
	Tabanidae	Stre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0
	Ptychoptera	Collgath	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0
	Amblyopidae	Pred	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	3	0	0	0	0
	Psychodidae	Collgath	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4	0	0	0	0
	Statiomyidae	Stre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Athericidae	Pred	1	3	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	12	1	0	0	13
Gastropoda	Limnoidae	Pred	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Hydrobiidae	Scrap	0	0	0	0	3	8	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0
	Lymnaeidae	Scrap	0	0	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0	0	23	1	0	0	0
	Panorbidae	Scrap	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0	0
	Bythinidae	Scrap	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	9	13	0	0	1	0	0	0
	Physidae	Scrap	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	0	0	0	94	0	0	0	0
	Gammaridae	Collgath	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0
	Dugesia	Pred	0	0	65	2	63	82	89	2	7	1	1	0	5	0	0	975	73	53
	Hydrocampa	Pred	1	0	1	0	0	0	2	1	4	1	2	0	1	0	2	14	0	0
	Hirudinea	Oligochaeta	Collgath	1	10	26	9	13	43	65	75	3	71	44	0	66	72	51	35	2
Epobdidae		Pred	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

ANEXO IV – Macroinvertebrados associados às folhas.

Local	Tipulidae	Chironomidae	Athericidae	Ceratopogonidae	Tabanidae	Leptophlebiidae	Caenidae	Baetidae	Gyrinidae	Oligochaeta	Hirudinea	Turbellaria	Simuliidae	Philopotamidae	Lymnaeidae	Rhyacophilidae	Planorbidae
E2.1.1	1	20	0	0	0	0	0	0	0	10	0	2	0	0	0	0	0
E2.1.2	0	10	1	1	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E2.1.2	0	21	1	2	0	4	1	0	0	4	0	1	0	0	0	0	0
E2.2.1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1	0	0
E2.2.2	1	14	0	0	0	1	0	0	0	7	0	9	0	0	0	0	0
E2.2.3	1	18	1	0	0	0	0	0	0	7	1	3	0	0	0	0	0
E2.3.1	0	8	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E2.3.2	0	12	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0
E2.3.3	0	8	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
E2.4.1	0	1	0	0	0	1	5	4	0	1	0	0	1	0	0	0	0
E2.4.2	0	4	0	0	0	1	2	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
E2.4.3	0	3	0	0	0	0	3	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0
E3.1.1	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
E3.1.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
E3.1.3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E3.2.1	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0
E3.2.2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	3	0	4	0	0	0	0	0
E3.2.3	0	4	0	0	0	0	0	0	0	7	0	2	0	0	0	0	0
E3.3.1	1	18	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
E3.3.2	0	6	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0
E3.3.3	0	6	0	0	0	0	0	0	0	5	0	8	0	0	0	0	0
E3.4.1	0	6	0	0	0	0	1	0	0	8	0	9	1	0	0	0	0
E3.4.2	0	12	0	0	0	0	1	0	0	2	0	11	0	0	0	0	0
E3.4.3	0	10	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6	0	0	0	0	0
E5.1.1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0
E5.1.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
E5.1.3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E5.2.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
E5.2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
E5.2.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E5.3.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	1
E5.3.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0
E5.3.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10	0	0	0	0	0
E5.4.1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	0	0	0	0	0
E5.4.2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10	0	0	0	0	0
E5.4.3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	13	0	0	0	0	0
E8.1.1	0	4	1	0	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0	0	0
E8.1.2	0	17	0	0	1	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0
E8.1.3	1	6	0	0	0	0	0	1	0	17	0	1	0	0	0	0	0
E8.2.1	1	7	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	0	0	0	0
E8.2.2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
E8.2.3	0	14	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
E8.3.1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E8.3.2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
E8.3.3	0	5	0	0	0	0	0	0	0	4	0	3	0	0	0	0	0
E8.4.1	1	6	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
E8.4.2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
E8.4.3	0	15	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
E9.1.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E9.1.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E9.1.3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E9.2.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
E9.2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E9.2.3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E9.3.1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
E9.3.2	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E9.3.3	0	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
E9.4.1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E9.4.2	0	4	0	0	0	0	1	0	0	7	0	2	0	0	0	0	0
E9.4.3	0	9	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO V – Parâmetros físico-químicos do capítulo III medidos aos 7, 14, 21 e 28 dias.

	7 DIAS					14 DIAS				
	E1	E2	E3	E4	E5	E1	E2	E3	E4	E5
T°	10.5	10.0	11.7	11.1	11.1	12.2	12.8	12.8	12.9	13.4
pH	6.97	7.20	7.06	7.08	7.07	6.87	7.27	7.58	7.18	7.13
O ₂ (%)	98.40	101.70	101.60	101.00	137.00	97.70	104.30	95.50	94.90	88.10
O ₂ (mg/l)	10.90	11.36	11.02	11.06	97.30	10.42	11.13	10.14	9.91	10.30
Condutividade (µS/cm)	67.00	95.00	106.00	132.00	10.75	64.00	85.00	97.00	125.00	129.00
Amônia (mg/l N NH ₃ Salic)	0.02	0.05	0.06	0.35	0.24	0.00	0.02	0.04	0.31	0.20
Fósforo (mg/l PO ₄ ³⁻ PV)	0.0866667	0.06	0.0833333	0.0233333	0.0433333	0.15	0.03	0.04	0.03	0.04
Nitrato (mg/l N NO ₃ ⁻ M)	10.12	11.44	12.76	13.64	17.6	11.44	11	11.88	14.08	16.72
Nitrito (mg/l N NO ₂ ⁻ L)	0.007	0.008	0.009	0.011	0.011	0.005	0.019	0.008	0.011	0.008

	21 DIAS					28 DIAS				
	E1	E2	E3	E4	E5	E1	E2	E3	E4	E5
T°	12.5	13.3	13.1	13.5	12.0	12.8	13.2	13.4	13.4	13.0
pH	6.65	7.03	7.48	7.32	7.02	6.92	6.56	7.05	7.11	6.76
O ₂ (%)	117.00	108.40	89.30	78.30	89.40	90.10	91.10	92.20	91.20	81.90
O ₂ (mg/l)	12.31	11.39	9.32	8.08	9.58	9.39	9.46	9.56	9.46	8.62
Condutividade (µS/cm)	68.00	91.00	105.00	256.00	139.00	67	90.00	104.00	127.00	135.00
Amônia (mg/l N NH ₃ Salic)	0.07	0.02	0.05	0.08	0.28	0.01	0.02	0.07	0.13	0.34
Fósforo (mg/l PO ₄ ³⁻ PV)	0.23	0.15	0.08	0.72	0.06	0.01	0.01	0.03	0.06	0.04
Nitrato (mg/l N NO ₃ ⁻ M)	10.12	11.44	13.20	14.52	17.16	7.48	11.44	12.32	14.96	18.04
Nitrito (mg/l N NO ₂ ⁻ L)	0.010	0.009	0.012	0.081	0.015	0.010	0.010	0.010	0.012	0.023