



Escola Superior Agrária de Coimbra
Instituto Politécnico de Coimbra

Mestrado em Gestão Ambiental

RELATÓRIO do
Estágio Profissionalizante

Monitorização da qualidade microbiológica da água
no Aproveitamento Hidroagrícola do Vale do Lis



Maria Nelviza Magno de Corte-Real Araújo

(Nº 21727003)

Coimbra, 2020



Escola Superior Agrária de Coimbra
Instituto Politécnico de Coimbra

Mestrado em Gestão Ambiental

RELATÓRIO do
Estágio Profissionalizante

Monitorização da qualidade microbiológica da água
no Aproveitamento Hidroagrícola do Vale do Lis.

Maria Nelviza Magno de Corte-Real Araújo
(21727003)

Orientadora: Professora Doutora Isabel Maria Duarte

Co-Orientadora: Professora Doutora Maria Paula Amador

Local de estágio: Escola Superior Agrária de Coimbra

Relatório apresentado como requisito parcial para obtenção
do grau de Mestre em Gestão Ambiental

AGRADECIMENTO

Venho por este meio dedicar o meu trabalho a todas as pessoas que se destacaram no meu percurso profissional como estudantes estrangeiras, direta e indiretamente, que contribuíram e apoiaram desde o início até ao término do meu curso profissional. A estes, meus sinceros agradecimentos.

- Em primeiro lugar, eu queria agradecer a Deus, pela bênção que me dá que me ilumina e ajudar a crescer espiritualmente durante toda a minha vida;
- Aos meus orientadores, Professora Doutora Isabel Maria Dias Duarte e a Professora Doutora Maria Paula Amador, pela disponibilidade, incentivo e motivação, não esquecendo os conhecimentos e sugestões que me transmitiram ao longo deste processo;
- A Técnica Helena Marques, pela disponibilidade de acompanhar e de ajudar ao longo de todo o trabalho laboratorial;
- Aos meus Pais, que desempenham um papel muito importante de cuidar, educar, acompanhar e transformar a minha vida para ser uma mulher;
- Aos meus tios (principalmente tio Benjamin Araújo e Corte-Real e a esposa, tia Geralda Isabel Faria), tias, irmãos, primos/as, sobrinhos/as, amigos/as que sempre aconselharam nos momentos fáceis e difíceis;

Por fim, gostaria de agradecer todos os professores do mestrado em Gestão Ambiental da ESAC, que me deram apoio e me auxiliaram durante a minha formação académica. Enquanto aos outros que não foram mencionados, pelo seu apoio, para a conclusão da presente dissertação.

A todos, muitíssimo obrigada!

Este relatório descreve as atividades desenvolvidas no âmbito da Unidade Curricular *Estágio Profissionalizante*, do curso de Mestrado em Gestão Ambiental, que decorreu na *Escola Superior Agrária de Coimbra*. O objetivo geral do estágio foi a monitorização da qualidade microbiológica da água no Aproveitamento Hidroagrícola do Vale do Lis (AHVL). As massas de água em estudo foram a de rega e de drenagem agrícola, com amostragem em 2019. Os grupos microbianos seleccionados para análise laboratorial foram os coliformes totais (CT), coliformes fecais (CF), enterococos fecais (EF) e mesófilos aeróbios. Os objetivos específicos consistiram na: i) selecção dos locais de amostragem, pelo critério da representatividade e de observação de locais de maior risco de problemas sanitários e ambientais; ii) enumeração dos microrganismos bioindicadores de qualidade microbiológica da água; iii) comparação com os valores de referência; e iv) elaboração de proposta de resposta adequada para a gestão do risco microbiológico no AHVL. A análise microbiológica seguiu os métodos regulamentados de especialidade. Os resultados desta análise mostraram que os valores de CT excedem os limites referidos no DL 236/1998, situação frequente nos regadios nacionais. Constata-se assim, que existe contaminação da água de rega, por fontes externas, a montante da área do AHVL. Em geral, as concentrações de CT e de CF na água de rega foram inferiores às da de drenagem, com um acréscimo médio dessas contagens na drenagem de 176 e de 3 vezes, respectivamente. O agravamento da carga microbiana na rede drenagem pode explicar-se pela prática comum de incorporação de estrumes pecuários no solo. A situação inversa registou-se apenas nos campos de arroz, onde não se efetua estrumação. Verificou-se ainda que não há um agravamento dos indicadores de qualidade microbiana da água do rio Lis à entrada e à saída do aproveitamento (diminuem os CT e EF, e aumentam os CF e os mesófilos aeróbios). Concluiu-se da importância da monitorização ambiental e em especial da microbiologia da água, sendo recomendável aumentar a rede de locais a amostrar e a respectiva frequência, para aumento da representatividade dos resultados.

PALAVRAS CHAVE: qualidade da água de rega, indicadores microbiológicos, rega, drenagem, Segurança Alimentar e Ambiental

ABSTRACT

This report describes the activities developed within the scope of the Professional Internship, of the Master in Environmental Management, which took place at Escola Superior Agrária de Coimbra. The general objective of the internship was to monitor the microbiological quality of the water in the Lis Valley Irrigation District (LVID). The water bodies under study were the irrigation and agricultural drainage, with sampling in 2019. The microbial groups selected for laboratory analysis include the total coliforms (TC), fecal coliforms (FC), fecal enterococci (FE) and aerobic mesophiles. The specific objectives consisted of: i) selection of sampling sites, based on both criteria, the representativeness within the LDIV and sites with the highest risks for public and environmental health; ii) enumeration of microorganisms bioindicators of microbiological quality of water; iii) comparison with the reference values; and iv) elaboration of an adequate response proposal for the management of microbiological risk in LVID. The microbiological analysis followed the regulatory specialty methods. The results of this analysis showed that the TC values exceed the threshold limits set in the DL 236/1998, a frequent situation in the national irrigation areas. Therefore, it appears that there is contamination of irrigation water, by external sources, upstream of the area of the LVID. In general, the concentrations of TC and FC in irrigation water were lower than in the respective drainage, with an average increase of those counts of 176 and 3 times, respectively. This increase of microbial load in the drainage network might be explained by the common practice of soil amendment with livestock manure. The reverse situation was only observed in the rice fields, where no soil-manuring is practiced. Moreover, there is no worsening of the microbial water quality indicators of the river Lis at the entrance and exit of the LVID (decrease the TC and EF, and increase the FC and the aerobic mesophiles). Concluding, it is reinforced the importance of environmental monitoring regarding water microbiology, and it is recommended to increase the network of places to be sampled and the respective frequency, to increase the representativeness of the results.

KEYWORDS: irrigation water quality, microbiological indicators, irrigation, drainage, Food Safety and Environmental Security

ÍNDICE

AGRADECIMENTO.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ÍNDICE.....	iv
ÍNDICE de TABELAS.....	v
ÍNDICE de FIGURAS.....	vi
1. Introdução.....	1
1.1. Uso da água em agricultura.....	1
1.2. Riscos microbiológicos associados à água.....	6
1.3. Objetivos.....	10
2. Material e métodos.....	11
2.1. Bacia Hidrográfica do Rio de Lis.....	11
2.2. Aproveitamento Hidroagrícola do Vale do Lis.....	14
2.3. Amostragem.....	17
2.4. Parâmetros físico-químicos.....	27
2.5. Parâmetros microbiológicos.....	30
2.5.1 Coliformes totais.....	30
2.5.2 Coliformes fecais.....	31
2.5.3 Enterococos fecais.....	31
2.5.4 Mesófilos aeróbios.....	32
3. Resultados e Discussão.....	33
3.1 Parâmetros físico-químicos.....	33
3.2 Parâmetros microbiológicos.....	35
3.2.1 Amostras de água.....	35
3.2.1.1 Enumeração de CT, CF e EF.....	35
3.2.1.2 Identificação da possível fonte de contaminação da água.....	39
3.2.1.3 Enumeração de mesófilos aeróbios.....	40
3.2.2 Amostras de plantas.....	41
3.3 Discussão. Propostas para melhoria da gestão.....	43
4. Conclusões.....	45
5. Referências bibliográficas.....	47

ÍNDICE de TABELAS

Tabela 1 . Principais agentes infecciosos associados a doenças de transmissão hídrica.....	7
Tabela 2 . Área regada e ocupação cultural dos setores de rega no AHVL, em 2018	17
Tabela 3 . Identificação e caracterização dos locais de amostragem, em 2019.....	18
Tabela 4 . Metodologias analíticas, unidades e valores de referência dos parâmetros físico-químicos analisados no Laboratório Tomaz	28
Tabela 5 . Metodologias analíticas, unidades e valores de referência dos parâmetros físico-químicos analisados no Laboratório da ESAC.....	29
Tabela 6 . Metodologias analíticas, unidades e valores de referência dos parâmetros físico-químicos analisados pela Sonda paramétrica.....	29
Tabela 7 . Metodologias analíticas, unidades e valores de referência dos parâmetros físico-químicos analisados na sonda paramétrica	29
Tabela 8 . Métodos Microbiológicos usados para as análises das amostras de água.....	30
Tabela 9 . Parâmetros físico-químicos da água amostrada por setor e massa de água (média \pm desvio padrão).	34
Tabela 10 . Parâmetros físico-químicos da água amostrada, nas secções do rio Lis, no AHVL (valores médios).....	34
Tabela 11 . Valores médios da enumeração dos indicadores da qualidade microbiológica da água de rega e de drenagem.....	37
Tabela 12 . Valores médios das contagens de Coliformes Totais, Coliformes Fecais, Enterococos Fecais, e mesófilos aeróbios na água por sub-perímetro do AHVL.....	37
Tabela 13 . Razões típicas de coliformes fecais para enterococos fecais excretados, por várias espécies animais, segundo Pepper et al., 2011.....	39

ÍNDICE de FIGURAS

Figura 1 . Localização da Bacia hidrográfico do rio Lis.....	11
Figura 2 . Localização dos afluentes do rio Lis e respetivas sub-bacias hidrográficas.....	12
Figura 3 . Dados climáticos médios mensais para a região de Leiria.....	13
Figura 4 . Localização do aproveitamento hidroagrícola do Vale do Lis (a partir de http://www.dgadr.gov.pt).....	14
Figura 5 . Localização dos Blocos de drenagem (I, II, III, IV e V) do AHVL	15
Figura 6 . Localização dos Sectores de abastecimento de rega (C1A, C1B, C2A, C2B, C4, C5 e C7) do AHVL.....	16
Figura 7 . Localização dos locais de amostragem no AHVL	19
Figura 8 . Local de amostragem nº 1 - rio Lis, açude do Arrabalde..	20
Figura 9 . Local de amostragem nº 2 - rio Lis, açude das Salgadas..	20
Figura 10 . Local de amostragem nº 3 - rio Lis, Ponte da Bjanca....	21
Figura 11 . Local de amostragem nº 4 - ribeira dos Milagres.....	22
Figura 12 . Local de amostragem nº 5 - açude da ribeira da Aroeira	23
Figura 13 . Local de amostragem nº 6 - Vala do Seixal.....	23
Figura 14 . Local de amostragem nº 7 - Vala Real	23
Figura 15 . Local de amostragem nº 8 - Vala do rio Negro.....	24
Figura 16 . Local de amostragem nº 9 - Vala da Pedra.....	25
Figura 17 . Local de amostragem nº 10 - campo de azevém.	25
Figura 18 . Local de amostragem nº 11 - campo de couves.	26
Figura 19 . Local de amostragem nº 12 - campo de couves.....	26
Figura 20 . Local de amostragem nº 13 - campo de arroz.	27
Figura 21 . Concentração de Coliformes Totais, Coliformes Fecais e Enterococos Fecais nas amostras de água (NMP/100mL).....	36
Figura 22 . Valores médios de Coliformes Totais, Coliformes Fecais, e Enterococos Fecais, NMP/100mL e índice fecal das amostras de água de rega e de água de drenagem dos sub-perímetros I e II.....	38
Figura 23 . Valores médios de Coliformes Totais, Coliformes Fecais, e Enterococos Fecais, NMP/100mL e índice fecal das amostras de água de rega e drenagem dos sub-perímetros I e II.....	38
Figura 24 . Coliformes Fecais, e Enterococos Fecais, NMP/100mL e índice fecal das amostras de água.....	40
Figura 25 . Valor médio de mesófilos aeróbios a 22°C e 37°C nas amostras de água.....	41
Figura 26 . Coliformes Totais, Coliformes Fecais e Enterococos Fecais (UFC/g) das amostras de plantas.....	42
Figura 27 . Coliformes Fecais, e Enterococos Fecais, UFC/g e índice fecal das amostras de plantas.....	42
Figura 28 . Valor médio de mesófilos aeróbios a 22°C e 37°C na água das amostras de plantas (UCF/g).....	43

1. Introdução

1.1. Uso da água em agricultura

A gestão dos recursos hídricos ao nível da bacia hidrográfica desempenha um papel crucial no desenvolvimento económico e na qualidade de vida. O acesso a água em quantidade e bem distribuída no tempo é condição básica para a existência de agricultura de regadio. Mas este elemento é também imprescindível para outras aplicações, tais como o desenvolvimento da indústria, do turismo e do desporto. Assim, ao nível da bacia hidrográfica, a água deve ser gerida de acordo com o balanço das necessidades-disponibilidades relativas aos seus diversos usos. A utilização da água pela agricultura representa uma questão estratégica de desenvolvimento, devendo ser realizada segundo a óptica da produção agrícola, na salvaguarda da conservação dos recursos naturais. As obras hidráulicas à escala da bacia hidrográfica, de fomento hidroagrícola ou hidráulicas de fins múltiplos, resultam de decisões macro-económicas que ultrapassam o sector agrícola (Hipólito e Vaz, 2011).

As técnicas de regadio, drenagem e conservação da água e do solo, têm por objectivo prático criar as condições mais adequadas ao desenvolvimento das culturas. A implementação destas técnicas impõe intervenções ao nível da exploração agrícola, do perímetro de rega e da bacia hidrográfica. A estas intervenções correspondem técnicas específicas, embora interdependentes, e exigem uma visão global integradora. O desenvolvimento do regadio, considerado ao nível da exploração agrícola, apresenta essencialmente duas facetas de inovação: a adopção de sistemas culturais de regadio, por conversão e substituição de sistemas culturais de sequeiro; a intensificação cultural de regadio, através do aumento da eficiência da água na produção (Oliveira, 2011).

Ao nível da exploração agrícola as decisões são do tipo empresarial. As técnicas de base em hidráulica agrícola são as que dizem respeito ao maneiio da água ao nível da parcela, correspondendo de facto a práticas culturais específicas, mas integradas no sistema cultural próprio da

exploração. Os objectivos da gestão da água na exploração agrícola são a optimização dos rendimentos económicos e da eficiência da água, em combinação com a conservação dos recursos naturais, segundo critérios de gestão empresarial e tecnológicos (Gonçalves et al., 2020).

Ao nível da exploração agrícola a realização de obras hidráulicas permite valorizar e rentabilizar os recursos disponíveis e por em prática os sistemas culturais desejados. A rega é a técnica agrícola que visa o fornecimento de água às culturas, com o objectivo de permitir uma melhor e maior produção. A sua principal função é o humedecimento do solo, na zona explorada pelas raízes, procurando suprir o défice de precipitação relativamente à evapotranspiração da cultura, permitindo o seu conforto hídrico. A rega pode desempenhar também outras funções, como o condicionamento micro-climático na defesa contra temperaturas extremas e contra as geadas, a lixiviação de sais acumulados na zona radical e a aplicação de fertilizantes e outros agroquímicos (Raposo, 1996).

Num projecto de rega não é suficiente que se coloque à disposição dos agricultores os factores de produção: é também necessário assegurar os meios para o seu uso e, portanto, também, as condições para uma adequada operação e gestão do projecto. Uma inadequada implementação do uso das tecnologias, como o uso de tecnologias desajustadas, pode conduzir a importantes perdas de água, à degradação do solo, à inadequação de estruturas de rega e, conseqüentemente, a resultados indesejados (Raposo, 1996).

A agricultura de regadio desempenha um importante papel socio-económico. Os sistemas culturais em regadio caracterizam-se por uma intensificação dos factores de produção, com um destaque particular para o incremento da utilização de agroquímicos. Ao envolvimento de maior capital e mão-de-obra, é de esperar que venha a corresponder uma maior produção e uma melhoria no rendimento e no bem estar dos agricultores. No entanto, é preciso também atender a efeitos negativos que a agricultura de regadio pode exercer sobre o meio ambiente, por exemplo ao nível da poluição, da conservação do solo, ou de alterações paisagísticas (Oliveira, 2011).

Os sistemas culturais escolhidos determinam as práticas culturais, nomeadamente as de manejo da água. Estas deverão ser propiciadoras de

aumento de rendimento, integradas nos sistemas culturais da exploração e, naturalmente, satisfazer os objectivos técnicos fixados de controlo do teor de humidade do solo, conservação dos recursos naturais água e solo. Um sistema de rega adequado, eficaz e bem operado, é um elemento muito importante para a viabilidade dum sistema de produção agrícola. Mas esta viabilidade depende também de outros factores, tais como as práticas agronómicas ao nível da gestão da fertilidade do solo, da selecção das culturas e do controlo sanitário, as quais podem provocar um impacte na produção superior ao da rega (Pereira et al., 2009).

A racionalidade na utilização de recursos que a sociedade impõe às diversas entidades e forças produtivas, motiva e determina que a agricultura de regadio utilize tecnologias e técnicas de gestão que a permitam enquadrar numa óptica de desenvolvimento sustentado. De acordo com a *World Commission on Environmental and Development* (1987), diz-se que o desenvolvimento é sustentado quando satisfaz as necessidades actuais, sem comprometer a capacidade das futuras gerações em suprirem as suas próprias necessidades. Assim, é actualmente exigida à agricultura de regadio a busca de múltiplos objectivos, devendo conciliar-se os de viabilidade económica e aceitação social, com os de produção vegetal e de conservação da água e do solo, sem contudo degradar o meio ambiente. A satisfação destas exigências passa pela adopção de adequadas tecnologias de rega, as quais devem possibilitar a infiltração da água ao longo do terreno com um mínimo de perdas e a desejável uniformidade.

O objectivo de aumentar a produção agrícola e de melhorar a eficiência e a rentabilidade dos sistemas de produção, em particular com o desenvolvimento da agricultura de regadio, confronta-se com outros objectivos igualmente importantes, como é o caso da preservação do ambiente e dos recursos para as futuras gerações. Este conflito revela-se nos impactes ambientais dos projectos e actividades agrícolas (Pereira et al., 2009).

A abordagem tradicional da análise de projectos centrava-se essencialmente em parâmetros económicos, tais como os custos e os benefícios do projecto. No caso particular dos aproveitamentos hidroagrícolas visava-se tirar partido da combinação dos recursos hídricos

com os recursos de solo. Os efeitos sobre o ambiente, mormente a produtividade a longo prazo e o valor dos ecossistemas naturais afectados pelo projecto, não eram, regra geral, considerados. Actualmente, em face do desenvolvimento duma consciência ambiental da sociedade e da consequente sensibilidade para a escassez dos próprios recursos naturais renováveis e não renováveis, a realização de estudos de impacte ambiental em projectos hidroagrícolas é um procedimento que visa uma melhor fundamentação das decisões. As medidas legislativas neste domínio têm por objectivo garantir a consideração e integração dos aspectos ambientais na avaliação de determinado tipo de projectos. Estas medidas não devem ser entendidas como limitativas da actividade agrícola, mas antes como um imperativo de adaptação dos projectos de uma forma globalizante ao desenvolvimento integrado das regiões e das populações que as habitam (Hipólito e Vaz, 2011).

Os impactes ambientais que podem resultar do regadio são conhecidos (Baumli, 1982). A sua identificação, num dado projecto, deve ser consequência do estudo das interacções entre as características do projecto e as do ambiente local. Este processo envolve a previsão de determinados acontecimentos, com a natural incerteza daqui decorrente. Enquanto alguns impactes serão evidentes, outros só se manifestarão a muito longo prazo. A falta de informação sobre assuntos específicos agrava a incerteza desta análise.

Há diversas metodologias para apoio à identificação dos impactes ambientais, as quais devem ser adaptadas ao caso concreto em estudo. Desta análise e descrição se obterá uma visão do grau de problemas e influência que o projecto pode vir a gerar e a exercer no futuro. Os estudos de impacte ambiental incluem, tipicamente, dois aspectos fundamentais (Henriques, 1984): a) A identificação das alterações qualitativas e quantitativas, baseadas em factos e dados técnicos objectivos, introduzidas no ambiente em resultado do impacte do conjunto de acções a implementar, através de um considerável esforço de previsão; b) A atribuição de valores, necessariamente subjectivos, às alterações ambientais previstas, como resultado da sua interpretação e caracterização.

A realização de estudos de impacto ambiental deve ser entendida como um instrumento técnico e científico capaz de aumentar o conhecimento, prever determinados efeitos dos projectos e garantir uma melhor decisão final sobre a sua execução, com vantagens mútuas para os sectores agrícola e ambiental (Caldeira, 2014).

No essencial, os sistemas de agricultura sustentáveis visam conseguir, numa perspectiva de longo prazo, dar resposta às necessidades humanas, não esquecendo que estas envolvem a produção regular das quantidades necessárias e com a qualidade desejada de alimentos e matérias primas para a indústria, não afectando o equilíbrio e a diversidade biológica do planeta. As propriedades que mais importa considerar na avaliação de desempenho dos sistemas agroecológicos são as seguintes (Coelho e Pinto, 1994): a) Produtividade - a quantidade de exportações por unidade de área (por exemplo, alimento, ou fibra) de um sistema para uso humano; b) Estabilidade - regularidade inter-anual ou inter-sazonal da produtividade; c) Sustentabilidade - capacidade de manutenção de um dado nível de produtividade a longo prazo; d) Autonomia - capacidade de auto-sustentação (auto-suficiência) do sistema, ou seja, de independência relativamente ao resto da sociedade global; e) Suficiência - como atributo importante dos sistemas agrícolas familiares e, ou, de subsistência, entendida como a capacidade do sistema para satisfazer as necessidades dos que nele vivem e trabalham.

O carácter multi-dimensional da sustentabilidade deriva do facto de poder ser necessário aumentar o nível de certos factores produtivos, em culturas sucessivas, de forma a manter o nível de produtividade. Por exemplo, se for necessário aumentar a quantidade de fertilizante para sustentar a produtividade por hectare, esta é sustentável apesar de, por exemplo, por unidade de fertilizante ou de custo não o ser. A reduzida sustentabilidade pode ser devida a processos do próprio sistema (ecológicos ou sociais) que, cumulativamente, concorrem para a diminuição da produtividade, como, por exemplo, uma dependência crescente de pesticidas pelo avolumar dos problemas no controlo de pragas e doenças, o estagnar da resposta de estruturas de serviços e, ou, factores a montante ou a jusante da actividade agrícola. Por outro lado, o sistema pode ser insustentável por falta de capacidade para resistir a distúrbios traumáticos exteriores tais como, uma

seca prolongada, o aparecimento de novas doenças, uma evolução desfavorável da relação entre preços de produtos e factores. Neste sentido, a sustentabilidade diz respeito à capacidade dos sistemas para resistir a distúrbios ecológicos, económicos e sociais, do ambiente em que operam (Coelho e Pinto, 1994).

A quantificação destas propriedades é tida como um passo importante para uma melhor compreensão, avaliação e comparação dos sistemas. Aquelas, não são mais do que medidas agregadas do desempenho de vários processos, que indicam a capacidade do sistema para satisfazer diferentes objectivos. Por exemplo, a produtividade de uma dada cultura não depende simplesmente do potencial produtivo da cultivar utilizada, mas também das condições ambientais, tecnológicas, económicas e sociais do sistema, sendo, por isso, o resultado da interacção global de todas elas. Esta forma de analisar os sistemas permite decidir, em função dos benefícios e dos prejuízos introduzidos, se uma dada alternativa tecnológica é ou não, quando globalmente avaliada, atractiva. Constitui, também, um alerta para as consequências negativas, permitindo, assim, o estudo de medidas preventivas ou mitigadoras (Caldeira, 2014).

1.2. Riscos microbiológicos associados à água

Os microrganismos estão presentes em todos os ambientes aquáticos, nas águas subterrâneas e superficiais, desde pequenos riachos aos oceanos, que aí encontram uma variedade de nichos ecológicos. Exemplos de alguns géneros de bactérias mais frequentes são *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Mirococcus*, *Nocardia*, *Cytophaga*, *Hyponicrobium*, *Caulobacter* e *Gallionella* (Water e OMS, 2006).

A água pode transmitir doenças infecciosas e ser o veículo de transporte de patógenos. Uma série de microrganismos patogénicos é lançada na água por hospedeiros infectados (homem ou animal) e transportada para novos hospedeiros, pelo ciclo da água. As doenças relacionadas com a água têm origem nos excrementos humano e animal, sendo normalmente classificadas em dois grupos:

1. *Doenças de transmissão hídrica*: Provocadas por microrganismos patogénicos associados às águas originadas pelos excrementos de humanos

e de animais infetados, causando problemas de saúde, tais como os gastrointestinais (Tabela 1).

2. *Doenças de origem hídrica*: são originárias pela presença de substâncias químicas, orgânicas ou inorgânicas em concentrações muito elevadas, ao contrário dos padrões da água em condições para consumo humano.

Tabela 1. Principais agentes infecciosos associados a doenças de transmissão hídrica

BACTÉRIAS	DOENÇAS
<i>Salmonella typhi</i>	Febre tifoide
<i>Salmonella</i> spp.	Salmoneloses
<i>Shigella</i> spp.	Shigeloses (disenteria bacilar)
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenterites
<i>Legionella pneumophila</i>	Doença dos legionários
<i>Leptospira</i>	Leptospirose
VÍRUS	
<i>Enterovírus</i>	Poliomielite, Gastroenterites
<i>Rotavírus</i>	Gastroenterites
<i>Vírus da Hepatite A</i>	Hepatite A
<i>Adenovírus</i>	Doenças respiratórias, conjuntivites
PROTOZOÁRIOS	
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebíase
<i>Giardia lamblia</i>	Giardiase
HELMINTOS	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	
<i>Enterobius vermicularis</i>	
<i>Trichuris trichiura</i>	
<i>Schistosoma mansoni</i>	

Adaptado de Ashbolt et al., 2004.

Os ecossistemas aquáticos (naturais ou artificiais) oferecem nichos ecológicos para microrganismos patogénicos e oportunistas, que podem afectar os organismos hospedeiros, que entram em contacto com essa água. Os surtos de doenças transmitidas pela água continuam a ocorrer em todos os países, conduzindo a encargos económicos significativos e perda de vidas (OMS, 2016). Por isso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) ao definir as diretrizes para a qualidade da água realça a importância da gestão de riscos microbiológicos no ciclo da água. Tradicionalmente, este controle tem sido feito com ênfase no exame de bactérias indicadoras fecais. Porém, há outros riscos microbiológicos veiculados pela água, causados designadamente por vírus e parasitas, cujo destino e transporte no ambiente, são diferentes dos das bactérias, e requerem métodos de pesquisa próprios (OMS, 2016).

A gestão do risco de transmissão de doenças veiculadas pela água requer conhecimento sobre a natureza dos patógenos, seu potencial crescimento, destino e transporte no ciclo da água, as rotas de exposição do Homem e ambiente e respectivos efeitos, que podem resultar dessa exposição, bem como o efeito de potenciais medidas de mitigação. O desafio da Avaliação Quantitativa de Riscos Microbianos consiste em combinar todo esse conhecimento em informações úteis para a gestão do risco.

As diretrizes de qualidade da água da OMS (2016) recomendam uma abordagem preventiva e baseada em riscos para a gestão da qualidade da água, cobrindo a fonte da exposição. Essa estrutura envolve uma avaliação sistemática dos riscos da qualidade da água, fornece uma base de evidências para orientar as decisões apropriadas para a gestão dos riscos associados.

A água como sistema natural contém uma grande diversidade de organismos. O número de microrganismos presentes nos materiais fecais ou urinários provenientes dos animais de sangue quente é muito elevado e alguns deles são patogênicos. Os microrganismos não-patogênicos coexistem com os patogênicos podendo ser considerados como indicadores da presença ou ausência destes últimos. São por isso utilizados como indicadores de contaminação de origem fecal para monitorizar e avaliar a potencial presença de organismos patogênicos. Face ao exposto, os microrganismos usados como bioindicadores da qualidade da água são o grupo dos coliformes totais e fecais, membros da família *Enterobacteriaceae*. Este grupo de bactérias é o mais frequentemente usado como indicador de poluição de origem fecal, pois são habitantes usuais do trato intestinal do homem e animais. Caracterizam-se por serem bactérias Gram-negativas em forma de bastonete, anaeróbias facultativas, não-esporuladas algumas oxidase-negativas, outras por serem capazes de fermentar a lactose em 24h a 37°C com produção de ácido e de gás. Quando os coliformes existem em número elevado indicam a potencial presença de microrganismos patogênicos. Estas bactérias coliformes estão divididas em dois grupos:

- a) Coliformes Totais (CT). São capazes de crescer na presença de sais biliares fermentando à lactose com produção de aldeídos, ácidos e gás a 35°C em 24-48h,
- b) Coliformes Fecais (CF). É um subgrupo dos coliformes totais capazes de fermentar em a lactose a 44,5°C, permitindo assim distinguir os coliformes totais dos fecais.

Por este motivo, hoje em dia a designação de CF está a ser substituída por “coliformes termotolerantes”. Além disso, sabe-se que dentro dos CF estão incluídos os géneros *Enterobacter* e *Klebsiella*, que não tem origem fecal e que não são indol-positivos. A bactéria *E. coli* é o CF mais representativo usado como indicador de contaminação fecal da água. A justificação para a sua universalidade está na sua prevalência em cerca de 96-99% das fezes de animais homeotérmicos e também em alguns locais receptores de contaminação fecal, tais como esgoto e efluentes águas naturais e solos. É o indicador mais específico de contaminação fecal recente e da eventual presença de microrganismos patogénicos. A origem fecal da *E. coli* é inquestionável, e a sua natureza ubíqua pouco provável valida o seu papel mais preciso de organismo indicador de contaminação, tanto em águas naturais como tratadas. Na legislação relativa à qualidade de água para consumo humano, que transpôs para a ordem jurídica interna a Directiva nº 98/83/CE, do Conselho de 3 de Novembro, a saber o Decreto-Lei nº 306/2007 são apresentadas as seguintes alterações:

- a) o parâmetro “Coliformes Fecais” é substituído pelo parâmetro “*E. coli*”, considerado como um indicador específico de contaminação fecal.
- b) Grupo designado por “Enterococos Fecais” contém bactérias Gram-positivas, caracterizados pela capacidade de crescimento entre 10-45°C, a pH 9,6 em meio de cultura contendo cloreto de sódio a 0,5%; na presença de 40% de sais biliares e em concentrações de azida de sódio inibidoras para o grupo dos coliformes e outras Gram-negativas. Sobrevivem a 60°C durante 30 minutos. A maior parte dos microrganismos anteriormente designados por estreptococos fecais (grupo D de *Streptococcus*) foram transferidos para o género *Enterococcus*. Neste grupo incluem-se, por exemplo, as bactérias *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. durans* e *E. gallinarum*. Algumas estirpes de *E. faecalis* aparecem associadas a infecções

humanas específicas, nomeadamente infecções urinárias febre tifoide e gastroenterite.

- c) o parâmetro “número de colónias a 22°C e a 37°C” é utilizado como indicador de presença de matéria orgânica facilmente biodegradável. A contaminação da água nestas condições embora não represente riscos Sanitários para o homem e animais, pode colocar problemas práticos relacionados com a sua utilização. Além disso, a contagem dos heterotróficos é importante durante o processo de tratamento de águas, pois é importante conhecer a carga bacteriana, uma vez que um aumento considerável das populações bacterianas pode comprometer a detecção de coliformes. Embora a maior destas bactérias não seja patogénica, pode representar riscos para a Saúde Pública.

1.3. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica da água no Aproveitamento Hidroagrícola do Vale do Lis (AHVL). As massas de água em estudo foram a água de rega e de drenagem, com a amostragem efectuada em 2019. Os microrganismos em estudo por análise laboratorial foram os bioindicadores coliformes totais, coliformes fecais, enterococos fecais e mesófilos aeróbios.

Este trabalho considerou os seguintes objetivos específicos: a) Selecionar os locais de amostragem, representativos da entrada e da saída do AHVL, bem como de regiões intermédias, com base em observações no local, de maior risco de problemas sanitários e ambientais; b) Enumerar os microrganismos bioindicadores de qualidade microbiológica em amostras de água de rega usada no AHVL, bem como da drenagem agrícola e dos produtos vegetais; c) Comparar os valores encontrados com os de referência; e d) Estabelecer os locais de maior risco e propor uma resposta adequada para a gestão do risco microbiológico da bacia hidrográfica no rio de Lis.

2. Material e métodos

2.1. Bacia Hidrográfica do Rio de Lis

Neste capítulo é elaborada uma caracterização hidrológica, climática e geológica da bacia hidrográfica do rio Lis, como forma de contextualizar a problemática da qualidade da água no estudo de caso do Aproveitamento Hidroagrícola do Vale do Lis. Foi tomado como documento de referência o Plano de Gestão de Bacia Hidrográfica dos rios Vouga, Mondego e Lis, disponível no sítio web da Agência Portuguesa do Ambiente (APA-ARHCentro, 2020).

A bacia hidrográfica do rio Lis localiza-se na zona centro do País e apresenta uma área total de 945 km². A bacia ocupa metade do concelho de Leiria e abrange também os concelhos de Batalha, Marinha Grande, Porto de Mós e Ourém (Figura 1). Na parte Norte é limitada com a bacia hidrográfica do rio Mondego, a Sul e Este pela bacia do rio Tejo e a Oeste pelo Oceano Atlântico. A linha de orientação dominante é S-NW. O rio Lis nasce a cerca de 400 m de altitude e desagua no Oceano Atlântico, na Praia da Vieira, concelho da Marinha Grande. O rio tem uma extensão de cerca de 40 km segundo a direção S-N na parte mais a montante, acabando, na parte final, na orientação E-W.



Figura 1. Localização da Bacia hidrográfico do rio Lis

As linhas de água afluentes do rio Lis são, na margem esquerda, o ribeiro da Tábua, o Vale dos Barreiros, o rio Lena e o rio Seco, e na margem direita, o rio de Fora, a ribeira dos Milagres, a ribeira da Caranguejeira ou do Sirol e a ribeira do Freixal (Figura 2). A montante, a densidade de drenagem é

considerada elevada, com um escoamento rápido. Pelo contrário, na zona de jusante, a densidade de drenagem é baixa, de reduzido declive longitudinal, com escoamento normalmente lento.

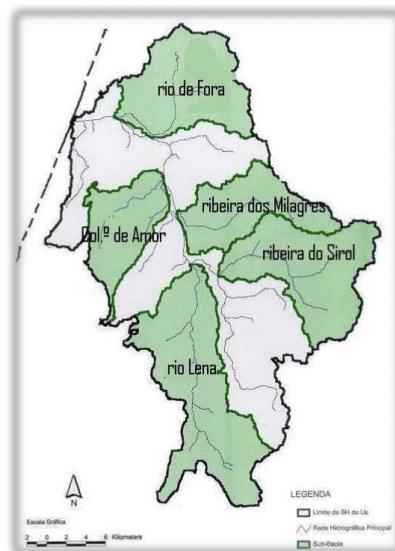


Figura 2. Localização dos afluentes do rio Lis e respetivas sub-bacias hidrográficas

O clima na bacia do rio Lis resulta de influências do Mediterrâneo e do Atlântico. A influência mediterrânica é refletida principalmente no verão, como resultado de temperatura e radiação solar elevadas e de precipitação muito reduzida. A influência atlântica é caracterizada pelas superfícies frontais predominantes no inverno que, movendo-se de oeste para leste, são responsáveis pela maior parte da precipitação. A temperatura média anual é de 15,9°C e a precipitação média anual é de 790 mm (Figura 3). De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima é do tipo Cbs e é caracterizado essencialmente por verões temperados e amenos e invernos com temperaturas amenas. As chuvas estão concentradas principalmente de outubro a março e seus valores médios diminuem das cabeceiras da bacia em direção à região costeira (Campar et al., 1989).

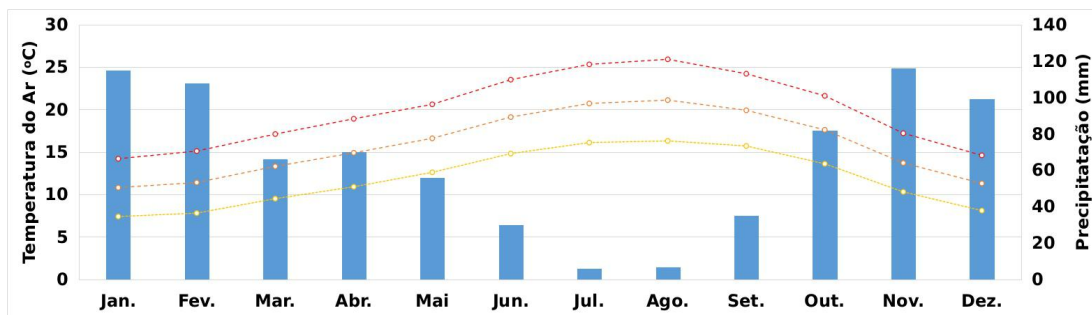


Figura 3. Dados climáticos médios mensais para a região de Leiria

(dados adaptados de *climate-data.org*, 2020); Precipitação (■) e Temperatura: Máxima (-○-), Média(-○-) e Mínima (-○-).

Geologicamente, a bacia hidrográfica do rio Lis localiza-se na Orla Mezocenoica Ocidental. A Orla Mezocenoica é formada numa bacia sedimentar, com direção aproximadamente E-W, e encontra os terrenos sedimentares de idade mesozoica e cenozoica, nomeadamente, o soco Paleozóico constituído por xistos e grauvaques de idade carbónicas (Campar et al., 1989). Os materiais geológicos são compostos por argilas, areia e cascalho do terciário, calcário do jurássico médio e calcário margosos e margas do Cretácico e do Jurássico. Os arenitos, calcários margosos e margas, encontram-se na zona intermédia, na maior parte da bacia.

Em relação à litologia, o troço superior da bacia hidrográfica do rio Lis, corresponde ao Maciço Calcário Estremenho, nas sub-bacias do rio Lis (montante, até Leiria) e do rio Lena, com uma permeabilidade muito elevada. A drenagem é feita através de galerias, no rebordo do Maciço. O troço inferior da bacia, situado entre a Costa e Leiria, é dividido em duas regiões, a de jusante (entre a Costa e Monte-Redondo Amor) e a de montante. A primeira possui uma permeabilidade alta e a sua drenagem é má, o que dificulta o processo de escoamento. Na de montante encontram-se os arenitos, calcários, margosos que possuem uma baixa permeabilidade, e por isso existe uma aceleração do escoamento, com uma maior densidade de drenagem. Os calcários margosos e as margas, pelo contrário, apresentam uma permeabilidade baixa ou quase nula.

Nos vales da rede hidrográfica encontram-se aluviões e na orla costeira areias dunares bastante permeáveis, permitindo a existência de toalhas freáticas normalmente a pequena profundidade e facilmente exploráveis para captação de água. A precipitação e as características do substrato rochoso contribuem no processo de distribuição, geometria e densidade da rede de drenagem. Por causa desta diferenciação do solo, cria-se um efeito

que pode produzir diferentes suscetibilidades à erosão, conhecida como erosão diferencial.

Outras atividades económicas da região, para além da agricultura, incluem a hotelaria termal (termas de Monte Real), o comércio, as actividades inerentes à Base Aérea nº 5, o turismo de natureza (ex. o pinhal de Leiria) e a indústria.

2.2. Aproveitamento Hidroagrícola do Vale do Lis

O Aproveitamento Hidroagrícola do Vale do Lis (AHVL) é um aproveitamento de iniciativa estatal, com uma área total de cerca de 2000 ha, localizado nos concelhos de Leiria e Marinha Grande (Figura 4). Os principais problemas da gestão da água nas redes coletivas de rega e drenagem, bem como ao nível da parcela, prendem-se com a escassez e qualidade deficiente da água em período estival, com os riscos de inundação e de drenagem deficiente.

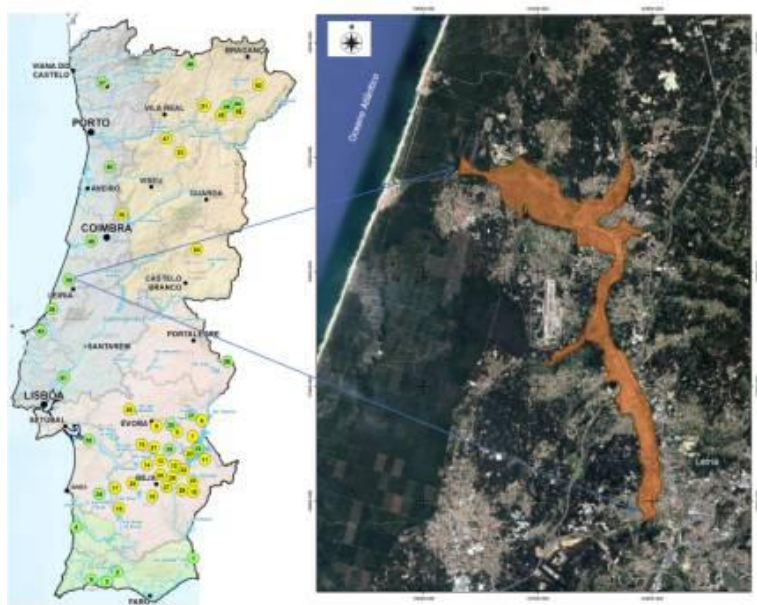


Figura 4. Localização do aproveitamento hidroagrícola do Vale do Lis (a partir de <http://www.dgadr.gov.pt>).

O AHLV está organizado por Blocos de drenagem (I, II, III, IV e V) e por Sectores de abastecimento de rega (C1A, C1B, C2A, C2B, C4, C5 e C7) representados nas **Figura 5** e **Figura 6**, respectivamente.

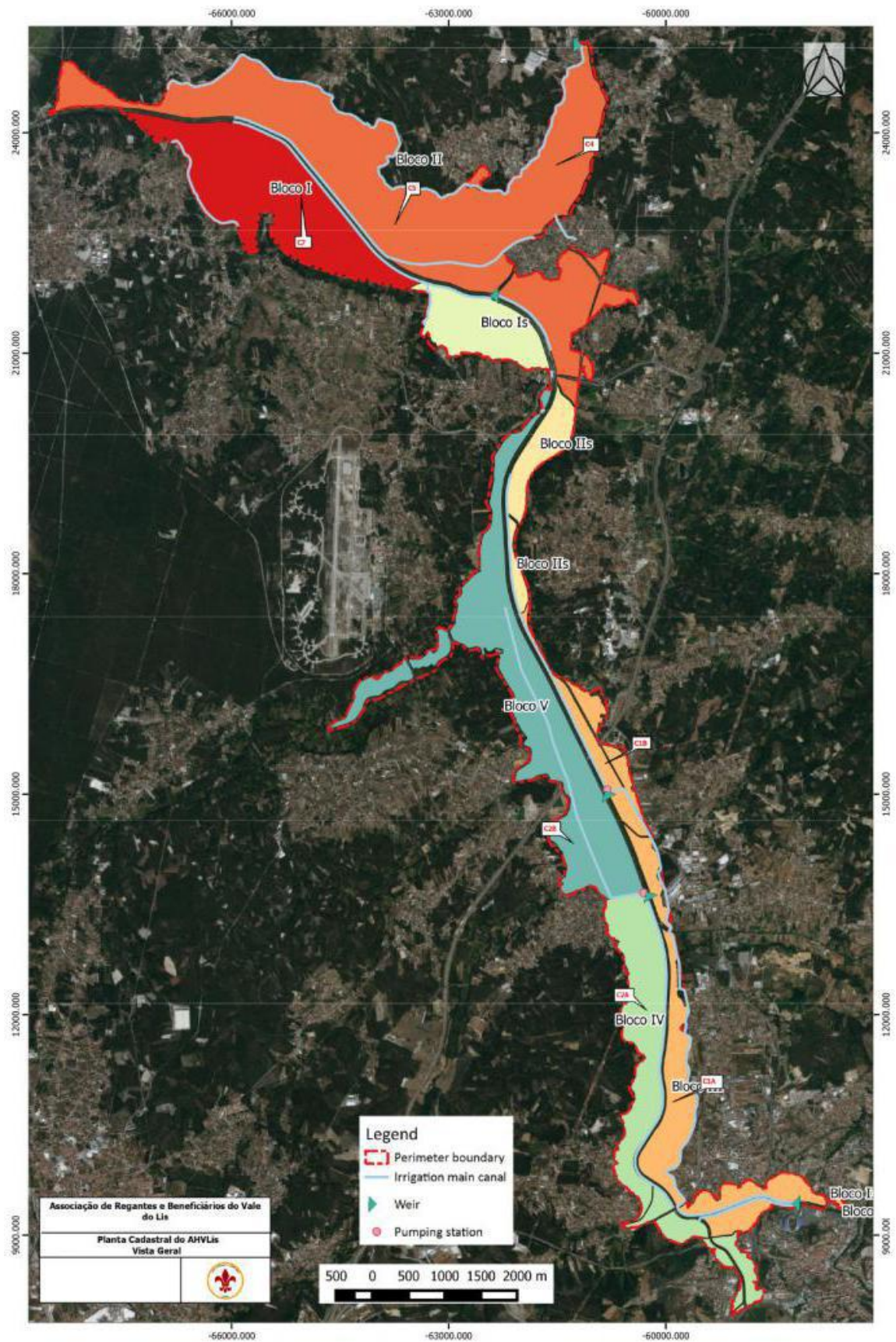


Figura 5. Localização dos Blocos de drenagem (I, II, III, IV e V) do AHVL (Fonte: ARBVL, 2020).



Figura 6. Localização dos Sectores de abastecimento de rega (C1A, C1B, C2A, C2B, C4, C5 e C7) do AHVL
 (Fonte: ARBVL, 2020).

Os solos dominantes do AHVL são aluviossilos modernos de elevada qualidade agrícola, alguns sujeitos a drenagem deficiente. As “Obras do Rio Lis” decorreram de 1943 a 1957 e a sua gestão desde esta data é efetuada pela ARBVL. As obras apresentam objetivos de defesa dos campos através de coletores de encosta, de drenagem do vale e rega realizada com a aplicação de diversos açudes a partir do rio Lis e seus afluentes (**Figura 5**). O Perímetro estrutura-se em dois sub-perímetros (I, a jusante de Monte-Real e II, de Leira a Monte-Real) e sete blocos hidráulicos concebidos de acordo com a lógica da rede de drenagem. A rede de rega compreende 17 açudes e 15 estações elevatórias (EE), captando água do Lis, afluentes e valas de drenagem, funcionando a fio de água através de uma rede gravítica com condução de água em canal. Para efeito da monitorização da quantidade de água para rega estabeleceram-se os setores de abastecimento, correspondendo a componentes da rede coletiva, abastecidas por derivação gravítica ou EE. Os valores de área e de ocupação cultural estão representados na **Tabela 2**, e a sua identificação geográfica na **Figura 6**.

Tabela 2. Área regada e ocupação cultural dos setores de rega no AHVL, em 2018

Sector:	C1A	C1B	C2A	C2B	C4	C5	C7	Total
Área total, ha	175,6	104,4	189,7	286,2	418,4	207,6	257,1	1639
Área regada, ha	114,2	82,8	159,5	214,7	292,8	166,1	205,7	1236
Área regada, %	65	80	85	75	70	80	80	75,5
Milho, %	20	18	43	33	61	60	9	38,4
Pastagem, %	48	30	7	24	29	10	77	32,5
Hortícolas, %	5,5	13	14,5	13	4	0	0	6,7
Arroz, %	0	5	0	15	5	30	1	8,3
Bacelos, %	20	13	15	15	0	0	0	7,9
Frutícolas, %	6,5	19	20,5	0	0	0	10	6,2

C1 a C7, designação do Sector de abastecimento de rega, de acordo com a Figura 5
 Fonte: Ferreira et al., 2020.

2.3. Amostragem

Os locais de amostragem foram seleccionados com vista a apurar a qualidade da água das redes de rega e drenagem do AHVL. Incluíram-se os pontos de entrada e saída do AHVL, e de diversos blocos hidráulicos do sistema de rega e drenagem. A escolha dos locais de monitorização atendeu a diversos factores, tais como: a existência de fontes de contaminação já identificadas, a acessibilidade, a segurança da recolha, perfil do leito e perturbações no escoamento.

A rede de amostragem inclui 13 locais, cinco no rio Lis e ribeiras afluentes (já referenciadas como tendo má qualidade potencial, por provirem de sub-bacias com maior número de unidades pecuárias, industriais ou urbanas), quatro em valas de drenagem da área agrícola, uma em água de rega por canteiro e três em culturas agrícolas para consumo animal e humano. A descrição dos locais de amostragem é apresentada na **Tabela 3** e **Figura 7**, especificando o bloco, as coordenadas geográficas, o local e aspectos de detalhe dos locais.

Tabela 3. Identificação e caracterização dos locais de amostragem, em 2019.

Local da amostra	Sector	Bloco	Latitude (N)	Longitude (W)	Designação do local	Observação	Função
1	C1A, C1B, C2A, C2B	III, IV, V, IIs	39°45'8,29"	8°48'28,49"	Rio Lis	açude do Arrabalde	A
2	C7	Is, II	39°51'43,72"	8°51'45,90"	Rio Lis	açude das Salgadas (insuflável)	A
3	-	Todos	39°53'00,295"	8°56'05,295"	Rio Lis	Ponte da Bajanca	D
4	C1B, C2B	V, III, IIs	39°47'04,542"	8°49'29,750"	Rib. Milagres	perto da foz	A
5	C4, C5	II	39°53'34,644"	8°50'54,316"	Rib. Aroeira	açude C4	A
6	C2A	IV, V	39°47'18,281"	8°50'33,523"	Vala do Seixal	confluência com o colector de Amor	D, A
7	C2B	V	39°50'28,191"	8°51'38,924"	Vala Real	perto da EE SIMLIS (AdCL)	D, A
8	C4, C5	II	39°53'06,166"	8°55'15,981"	Vala do Rio Negro	final - EE do Boco	D, A
9	C7	I	39°52'52,780"	8°54'51,374"	Vala da Pedra	final	D, A
10	C5	II	39°51'50,307"	8°52'17,97"	campo de azevém	rega de superfície	
11	C2B	V	39°48'16,738"	8°51'1,375"	campo de couve	rega por aspersão	
12	C2A	IV	39°47'2,712"	8°50'18,15"	campo de couve	rega por aspersão	
13	C5	II	39°52'22,70"	8°52'52,56"	campo de arroz	água de solo submerso (arrozal)	D

Local de amostragem: cf. Figura 7 para visualização da localização no mapa do AHVL;
Função: A, Abastecimento; D, Drenagem

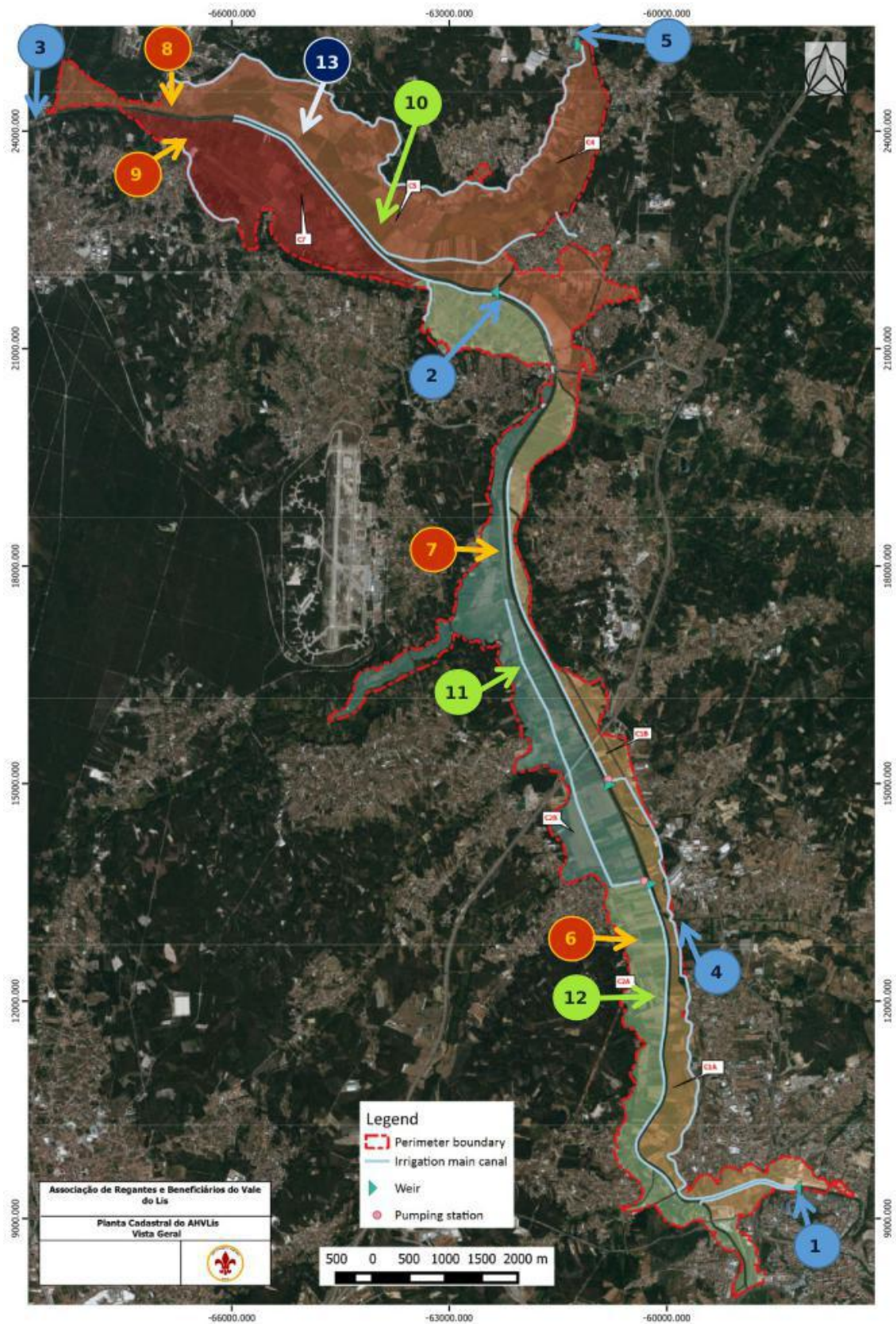


Figura 7. Localização dos locais de amostragem no AHVL

Fonte: ARBVL, 2020. Pontos azuis claros (1 a 5), linhas de água; pontos laranja (6 a 9), valas de drenagem; pontos verdes (10 a 12), material vegetal; ponto azul escuro (13), água da superfície de canteiro de arroz. Para a legenda dos pontos, confrontar a **Tabela 3**.

O local **1**, no **rio Lis**, situa-se na secção da tomada de água para abastecimento, no ponto mais a montante do AHVL, em concreto no açude do Arrabalde, localizado na cidade de Leiria. Este ponto representa a situação da qualidade da água no ponto de entrada no AH mais importante em termos de abastecimento. Reflete as condições hidrológicas na parte montante da bacia e, em especial, do efeito da zona urbana de Leiria (**Figura 8**).

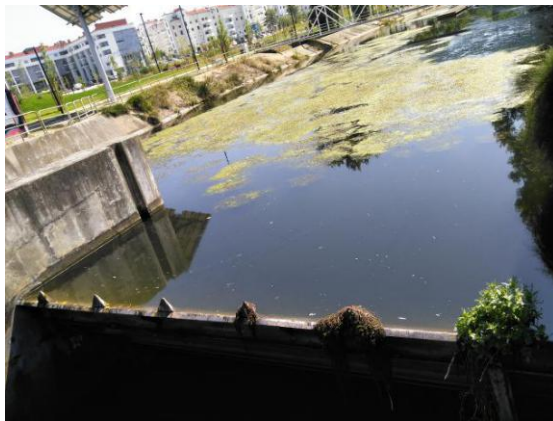


Figura 8. Local de amostragem nº **1** - rio Lis, açude do Arrabalde

O local **2**, no **rio Lis**, açude insuflável das Salgadas, corresponde a uma secção intermédia do rio, que representa a integração de vários efeitos de pressão sobre o rio Lis. Para além de incorporar a água de entrada no AH (conforme o local de amostragem-1) recebe ainda a água de afluentes muito significativos, tais como: o rio Lena, em Leiria; a ribeira dos Milagres; a ribeira das Várzeas e da Aroeira, na margem direita; e linhas de água de menor dimensão, recolhidas pelo colector do Amor, na margem esquerda. Acresce que, no troço do rio entre os locais de amostragem 1 e 2, afluem também ao rio Lis valas principais de drenagem agrícola, como a Vala do Seixal, Vala Real, Vala do Carvão e Vala do Lagoeiro. Sendo este o local de abastecimento para o sector C7, ele retrata a qualidade da água de rega nesta parte do AH, e também o efeito das diversas actividades da bacia hidrográfica sobre esta linha de água natural, *i.e* recursos hídricos (**Figura 9**).



Figura 9. Local de amostragem nº **2** - rio Lis, açude das Salgadas

O local **3**, localiza-se no **rio Lis**, no ponto mais a jusante do AHVL, após a confluência da totalidade das valas de drenagem da parte jusante do AH, tais como a Vala da Pedra e Colocitor do Boco (margem esquerda) e o rio Negro (margem direita). Acresce o efeito da descarga da ETAR de Coimbrão, na Galeota, e da descarga por bombagem, da água salobra da Vala das Termas. Devido à proximidade do mar, este local é influenciado pelas marés, ainda que de forma indirecta, pois, apesar de ter uma cota superior à maior das marés, provoca variações no fluxo de escoamento do rio. Para minimizar esta interferência, a colheita das amostras decorreu sempre em maré-baixa. O local de amostragem situa-se na estrada M536, sob a Ponte da Bajanca (**Figura 10**).

Neste ponto de saída do AHVL, pretende avaliar-se a influência de todas as actividades antropogénicas desenvolvidas a montante e no AH, que possam afectar o ecossistema local a jusante do AH. O troço final do rio Lis passa junto ao Pinhal de Leiria e desagua no Oceano Atlântico, a norte da Praia da Vieira de Leiria. Encontra-se regularizado e a foz não tem um verdadeiro estuário, mas ainda assim as margens atraem aves aquáticas limícolas.



Figura 10. Local de amostragem nº **3** - rio Lis, Ponte da Bajanca

O local **4**, na **Ribeira dos Milagres**, situa-se na povoação Ponte da Pedra, da Estrada Nacional 109. Localiza-se 800m a montante da sua confluência com o Rio Lis (**Figura 11**). O reduzido percurso da Ribeira deste ponto de amostragem até ao Rio Lis minimiza eventuais perturbações resultantes de descargas na Ribeira e tem como contrapartida a segurança e a acessibilidade das amostragens. Esta linha de água é um importante afluente, que reforça o caudal do rio Lis, já no interior do AH, porém, está referenciada como responsável por

perturbações na qualidade da água do rio Lis, em resultado da intensa actividade agropecuária que se desenvolve na área drenada por esta linha de água (COBA, 2001).

Com a escolha deste ponto pretendiam-se avaliar os reais efeitos de descargas pontuais ou diluídas no tempo sobre a qualidade da água do Rio Lis.



Figura 11. Local de amostragem nº 4 - ribeira dos Milagres

O local **5**, localiza-se na **Ribeira da Aroeira**, no açude de derivação para o Canal 4. Esta linha de água abastece directamente uma parte significativa do Bloco II, a que correspondem os Sectores C4 e C5. É de realçar que esta parte do AH é abastecida directamente por um afluente do rio Lis, implicando que a qualidade desta água é independente da deste rio (**Figura 12**).



Figura 12. Local de amostragem nº 5 - açude da ribeira da Aroeira

Os locais de amostragem 6 a 9 referem-se a valas de drenagem agrícola, embora em todas elas coexista no Verão, a função de drenagem com a de rega.

O local 6, na **Vala do Seixal**, situa-se junto à confluência com o colector de Amor. Localiza-se na zona de jusante do Bloco IV, sendo representativo das condições da qualidade da água naquele Bloco (**Figura 13**).



Figura 13. Local de amostragem nº 6 - Vala do Seixal

O local 7, na **Vala Real**, situa-se junto à confluência com a Estação Elevatória da AdCL. Representa as condições da qualidade da água do Bloco V e, adicionalmente, permite avaliar o efeito da eventual descarga de emergência da água residual urbana não-tratada, da ACL, encaminhada para a ETAR de Coimbrão (**Figura 14**).



Figura 14. Local de amostragem nº 7 - Vala Real

O local **8**, na **Vala do rio Negro**, situa-se no seu troço de jusante, junto à confluência com a Estação Elevatória do Boco. É a principal linha de drenagem do Bloco II. É uma vala que colecta, a montante, escorrências exteriores do AH, mas a maior parte do seu caudal resulta da drenagem agrícola e de escoamento sub-superficial. A qualidade da água desta vala reflete no essencial os efeitos da actividade agrícola e pecuária. De realçar a plena interacção com a função de armazenamento e de abastecimento para rega (**Figura 15**).



Figura 15. Local de amostragem nº **8** - Vala do rio Negro

O local **9**, na **Vala da Pedra**, situa-se junto ao troço final desta vala, que colecta a drenagem do Bloco I. Esta área agrícola é essencialmente constituída por pastagens e por pastoreio directo, pelo que a qualidade desta água é maioritariamente afectada por estas actividades (**Figura 16**).



Figura 16. Local de amostragem nº 9 - Vala da Pedra

O local **10**, corresponde a material vegetal num **campo de azevém** do Bloco II, regado por método de superfície, cuja produção é destinada à alimentação animal (bovinos). O material colhido foi constituído pela parte aérea da cultura, recolhida em diversos locais da parcela para formar uma amostra composta (**Figura 17**).



Figura 17. Local de amostragem nº 10 - campo de azevém.

O local **11**, corresponde a material vegetal de um **campo** de cultura hortícola, **couve**, localizado Bloco V, regado por aspersão, cuja produção é destinada à alimentação humana. A água de rega é obtida por bombagem da Vala Real, efectuada pelo agricultor. Foram colhidas folhas de couve (**Figura 18**).



Figura 18. Local de amostragem nº **11** - campo de couves.

O local **12**, corresponde a material vegetal de um **campo** de cultura hortícola, **couve**, do Bloco IV, em condições idênticas às descritas para o local 11. A cultura é destinada à alimentação humana. A água de rega é obtida da Vala do Seixal ou da rede de abastecimento, com recurso a bombagem feita directamente pelo agricultor (**Figura 19**).



Figura 19. Local de amostragem nº **12** - campo de couves

O local **13**, localiza-se num **campo de arroz** no Bloco II, regado por alagamento em canteiro, cuja produção é destinada à alimentação humana. Foi recolhida água da superfície aquando o alagamento, *i.e.* do solo submerso. A água para rega é proveniente do canal **5** e de vala de drenagem (**Figura 20**).



Figura 20. Local de amostragem nº **13** - campo de arroz.

A colheita das amostras foi efectuada sempre no início da manhã, até às 9:00 horas, de Março a Maio de 2019. A amostra de água foi recolhida com luvas estéreis, abrindo o frasco estéril de 2L só no momento da recolha e fechando-o de imediato. As amostras identificadas foram transportadas em caixa isotérmica com placas termo-acumuladoras até ao Laboratório de Microbiologia da ESAC para análise microbiológica, a qual decorreu no máximo até 12h [ISO 19458:2006]. Após o início da análise microbiológica, foi recolhida uma sub amostra (ca. 1L) destinada à análise química, realizada no Departamento da Química da ESAC.

A colheita das amostras de plantas foi efectuada de forma idêntica à das amostras de água, usando em vez do frasco, uma tesoura estéril para o corte, e um saco de polietileno (polietileno linear de baixa densidade, PELBD) da *Stomacher*® com capacidade de 400mL. Foi recolhido tecido foliar de 10 locais da parcela, constituindo a amostra composta com cerca de 200g.

2.4. Parâmetros físico-químicos

A avaliação da qualidade físico-química das amostras de água foi determinada em **laboratório da especialidade** para os seguintes parâmetros: pH, Nitratos, Sulfatos, Cloretos (Cl, mg/L), Fluoretos, Sólidos Suspensos Totais (SST, ppm), Condutividade elétrica (CE, $\mu\text{S}/\text{cm}$), SAR, Sólidos Dissolvidos Totais (SDT, ppm), cloro residual livre, potássio, boro, ferro, zinco, manganês, cobre, molibdénio, alumínio, arsénio, bário, cobalto, crómio, níquel, selénio, vanádio, lítio, chumbo, cádmio, berílio, cálcio, magnésio e sódio. A metodologia analítica e a precisão de determinação de cada parâmetro são apresentadas na **Tabela 5**.

No laboratório de Química da ESAC foram também determinados os seguintes parâmetros: pH, sólidos suspensos totais (SST, mg/L), sólidos dissolvidos totais (SDT,

mg/L), nitratos (N-NO₃, mg/L), sulfatos (mg SO₄/L), fluoretos (mg F/L), cloretos (mg Cl/L), cloro residual livre (mg Cl₂/L), salinidade (dS/m) e SAR (**Tabela 6**).

A avaliação de alguns parâmetros da qualidade físico-química das amostras de água foi ainda efectuada no local, com **sonda multiparamétrica** portátil marca *In-Situ*, modelo *SmarTROLL RDO Handheld*, previamente calibrada, designadamente: temperatura (T, °C), pH (escala de Sorensen), potencial de oxidação-redução (ORP, mV), oxigénio dissolvido (OD, mg O₂/L), Oxigénio Dissolvido Resistivo (RDO, mg/L), Saturação do Oxigénio Dissolvido (SOD, %), Condutividade Elétrica a 20°C (CE, µS/cm), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT, ppm) (**Tabela 7 e Tabela 8**).

Os resultados obtidos foram comparados com os valores máximos recomendados (VMR), de acordo com os normativos de Qualidade da Água para rega (DL-238, 1998).

Tabela 4. Metodologias analíticas, unidades e valores de referência dos parâmetros físico-químicos analisados no **Laboratório Tomaz**

Parâmetro	Método	Unidades	V.R.	V.Máx
pH	NP411:1966	Escala de Sorensen	6,5-8,4	4,5-9,0
Nitratos	ASTM O 4327.2017	mg/L NO ₃	50	-----
Sulfatos	ASTM O 4327.2017	mg/L SO ₄	575	-----
Cloretos	ASTMD4327 2017	mg/L Cl	70	-----
Fluoretos	ASTM O 4327.2017	mg/L F	1,0	15
Sólidos Suspensos Totais (SST)	SMEWW 2540 D, 23 ^a Ed	mg/L	60	-----
Salinidade: CE	MI n°013 (03.05.2011)	dS/m a 25°C	1	-----
SAR	Cálculo		8	-----
Sólidos Dissolvidos Totais (SDT)	Electrometria	mg/L	-----	-----
Cloro residual livre	SMEWW 4500 G, 22 ^a Ed	mg/L Cl ₂	-----	-----
Potássio	DIN EN ISO 11885	mg/L K	-----	-----
Boro	DIN EN ISO 11885	mg/L B	0,3	3,75
Ferro	DIN EN ISO 11885	mg/L Fe	5,0	-----
Zinco	DIN EN ISO 11885	mg/L Zn	2	10
Manganês	DIN EN ISO 11885	mg/L Mn	0,2	10
Cobre	DIN EN ISO 11885	mg/L Cu	0,2	5
Molibdénio	DIN EN ISO 11885	mg/L Mo	0,005	0,05
Alumínio	DIN EN ISO 11885	mg/L Al	5	20
Arsénio	DIN EN ISO 11885	mg/L As	0,1	10
Bário	DIN EN ISO 11885	mg/L Ba	1,0	-----
Cobalto	DIN EN ISO 11885	mg/L Co	0,05	10
Crómio	DIN EN ISO 11885	mg/L Cr	0,1	20
Níquel	DIN EN ISO 11885	mg/L Ni	0,5	2
Selénio	DIN EN ISO 11885	mg/L Se	0,02	0,05
Vanádio	DIN EN ISO 11885	mg/L V	0,1	1,0
Lítio	DIN EN ISO 11885	mg/L Li	2,5	5,8
Chumbo	DIN EN ISO 11885	mg/L Pb	5	20
Cádmio	DIN EN ISO 11885	mg/L Cd	0,01	0,05
Berílio	DIN EN ISO 11885	mg/L Be	0,5	1
Cálcio	DIN EN ISO 11885	mg/L Ca	-----	-----
Magnésio	DIN EN ISO 11885	mg/L Mg	-----	-----
Sódio	DIN EN ISO 11885	mg/L Na	-----	-----

Tabela 5. Metodologias analíticas, unidades e valores de referência dos parâmetros físico-químicos analisados no **Laboratório da ESAC**

Parâmetro	Método	Unidades	V.R.	V.Máx
pH	NP EN 13037:2009	Escala de Sorensen	6,5-8,4	4,5-9,0
Nitratos	ASTM O 4327.2017	mg/L NO ₃	50	-----
Sulfatos	ASTM O 4327.2017	mg/L SO ₄	575	-----
Cloretos	método de Mohr	mg/L Cl	70	-----
Fluoretos	ASTM O 4327.2017	mg/L F	1,0	15
Sólidos Suspensos Totais (SST)	SMEWW 2540 D, 23ªEd	mg/L	60	-----
Salinidade: CE	NP EN 13038:2009	dS/m a 25°C	1	-----
SAR	Cálculo		8	-----
Sólidos Dissolvidos Totais (SDT)	Electrometria	mg/L	-----	-----
Cloro residual livre	SMEWW 4500 G, 22ªEd	mg/L Cl ₂	-----	-----

Tabela 6. Metodologias analíticas, unidades e valores de referência dos parâmetros físico-químicos analisados pela **Sonda paramétrica**

Parâmetro	Método	Unidades	V.R.	V.Máx
pH	NP411:1966	Escala de Sorensen	6,5-8,4	4,5-9,0
Nitratos	ASTM O 4327.2017	mg/L NO ₃	50	-----
Sulfatos	ASTM O 4327.2017	mg/L SO ₄	575	-----
Cloretos	ASTMD4327 2017	mg/L Cl	70	-----
Fluoretos	ASTM O 4327.2017	mg/L F	1,0	15
Cloro residual livre	SMEWW 4500 G, 22ªEd	mg/L Cl ₂	-----	-----
Salinidade: CE	MI n°013 (03.05.2011)	dS/m a 25°C	1	-----
SAR	Cálculo		8	-----
Sólidos Dissolvidos Totais (SDT)	Electrometria	mg/L	-----	-----
Sólidos Suspensos Totais (SST)	SMEWW 2540 D, 23ªEd	mg/L	60	-----
Potássio	DIN EN ISO 11885	mg/L K	-----	-----
Oxigénio Dissolvido Reactivo (ORD)	EPA 1002-8-2009	mg/L	1,0	15

Tabela 7. Metodologias analíticas, unidades e valores de referência dos parâmetros físico-químicos analisados na sonda paramétrica

Parâmetro	Método	Equipamento	Precisão
pH	Electrometria	Medidor de pH/ORP/Temperatura, Hanna HI 991003	1-2,5% (4-9)
T	Termometria	Sensor de Temperatura e Medidor de oxigénio, Hanna HI 9143	0,1°C (2)
C	Electrometria	Condutímetro, WTW, LF 330/SET	1-2% (450-1278µS/cm) 3%
ORP	Electrometria	Medidor de pH/ORP/Temperatura, Hanna HI 991003	(138 mV)
OD	Electrometria	Medidor de oxigénio, Hanna HI 9143	1,5% (2) Em escala integral

2.5. Parâmetros microbiológicos

A avaliação da qualidade microbiológica da água foi efectuada através da enumeração de microrganismos indicadores clássicos, tais como CT, CF, EF e dos mesófilos a 22°C e a 37°C (**Tabela 4**).

Tabela 8. Métodos Microbiológicos usados para as análises das amostras de água.

Parâmetro	Resultado	Limite de Detecção *	Método analítico de referência (DL236/1998 e DL306/2007)
CT	NMP/ 100mL	2	Método de diluição com fermentação em substratos líquidos em pelo menos cinco tubos em três diluições. Subcultura de tubos positivos no meio de confirmação por detecção de gás. Número mais provável (NMP). Temperatura de incubação 37°C±1°C. [ISO 9308-2:2012]
CF	NMP/ 100mL	2	Método de diluição com fermentação em substratos líquidos em pelo menos cinco tubos em três diluições. Subculturas positivas de tubos, como confirmação. NMP. Temperatura de incubação 44°C±0,5°C. [ISO 9308-2:2012]
EF	NMP/ 100mL	2	Método de diluição em caldo de azida de sódio em pelo menos cinco tubos para cada uma das três diluições. NMP
Mesófilos aeróbios 37°C	a UFC/mL		Contagem em placa em meio de cultura apropriado, incorporados com a amostra e incubadas a 37°C±0,5°C. [ISO 6222:1999]
Mesófilos aeróbios 22°C	a UFC/mL		Contagem em placa em meio de cultura apropriado, incorporados com a amostra e incubadas a 22°C±0,5°C. [ISO 6222:1999]

Parâmetro: CT, Coliformes Totais; CF, Coliformes Fecais; EF, Enterococos Fecais.

Resultado: NMP, número mais provável.

*, Unidades do "limite de detecção", idênticas àquelas em que são expressos os resultados.

As amostras vegetais foram pesadas, foi-lhes adicionado 200mL de soluto de Ringer e homogeneizadas sem maceração.

2.5.1 Coliformes totais

Utilizou-se o método de tubos múltiplos para determinação do número mais provável (NMP) de microrganismos.

- Teste presuntivo

Séries de três tubos contendo caldo de lactose, bile e verde brilhante a 2% (CLBVB) foram inoculados sendo usados: i) cinco tubos com 10mL CLBVB em concentração dupla para 10mL da amostra (diluição 1:1); ii) cinco tubos com 10mL de CLBVB em concentração simples para 1mL de amostra (diluição 1:10); e iii) cinco tubos com 10mL de CLBVB em concentração simples para 0,1mL de amostra (diluição 1:100). Após incubação em estufa a 35-37°C por 48h, os tubos foram considerados presuntivamente positivos, se apresentassem gás no tubo de Durhan.

- Teste confirmativo

Para a confirmação de coliformes totais, alíquotas dos tubos considerados presuntivamente positivos foram transferidas, com ansa de níquel-cromo, para Caldo de Lactose Bile e Verde Brilhante a 2% (CLBVB). Após incubação a 35-37°C por 24-48h, os tubos foram considerados positivos para a presença do grupo coliforme, se apresentassem gás no tubo de Durham. A contagem foi obtida com base no número de tubos positivos (que exibiram produção de gás) para as três diluições, e por consulta do número característico na tabela de MacCraday, sendo o resultado expresso como o NMP de coliformes totais/100mL de água ou /100g de biomassa.

2.5.2 Coliformes fecais

- Teste confirmativo

Do mesmo modo que para a confirmação de coliformes totais, foram inoculadas alíquotas de tubos considerados presuntivamente positivos (e para os negativos, com crescimento após 48h) em Caldo Peptonado (CP). Após incubação dos tubos a 44,5°C por 24-48h, estes foram considerados positivos para coliformes fecais, concretamente para *E. coli*, se apresentassem indol, revelado pelo reagente Kovacs. Os resultados expressos como NMP/100mL de água ou /100g de biomassa, foram determinados tal como na análise anterior.

2.5.3 Enterococos fecais

- Teste presuntivo

Foram inoculados séries de três tubos contendo Caldo de Bromocresol, Azida, Glicerol, Glicose (BAGG), sendo usados: i) cinco tubos com 10mL de BAGG em concentração dupla para 10mL da amostra (diluição 1:1); ii) cinco tubos com 10mL de BAGG em concentração simples para 1mL de amostra (diluição 1:10); e iii) cinco tubos com 10mL de BAGG em concentração simples para 0,1mL de amostra (diluição 1:100). Após incubação em estufa a 36°C±1°C por 48h, os tubos foram considerados positivos para enterococos fecais, se apresentassem uma turvação e coloração violácea no caldo. Os resultados, expressos como NMP/100mL de água, ou /100g de biomassa foram determinados tal como anteriormente descrito.

- Teste confirmativo

Para a confirmação de enterococos fecais, alíquotas dos tubos considerados presuntivamente positivos foram riscadas em superfície, com ansa de níquel-cromo, em meio seletivo Slanetz Bartley agar, o qual contém azida de sódio, inibidor de Gram-negativas, e suplementado com cloreto de trifetil tetrazólico (TTC), indicador da multiplicação bacteriana com mudança da cor das colónias para vermelho (por acumulação de um formazano, insolúvel no interior das células). Contém ainda fontes suplementares de vitaminas, como o extrato de levedura e

outros componentes, como o azoto, minerais e aminoácidos, que são fornecidos pela triptona; a glucose atua como fonte de carbono e o fosfato de dipotássio atua como agente solidificador.

Após incubação a 35-37°C por 24-48h, as placas foram considerados positivas na presença de colónia cor de vinho características de *Enterococcus* spp. (Slanetz e Bartley, 1975).

A contagem foi obtida com base no número de placas positivos (que exibiram produção de gás) para as três diluições, e por consulta do número característico na tabela de MacCraday, sendo o resultado expresso como o NMP de coliformes totais/100mL de água ou /100g de biomassa.

2.5.4 Mesófilos aeróbios

Foram efetuadas diluições decimais de cada amostra. Para a determinação de bactérias mesófilas usou-se o meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA). Foi incorporado 1mL de cada diluição em 20mL de PCA liquefeito, e em duplicado para cada diluição. Após incubação em estufa a 22°C e a 37°C por 48h fez-se a contagem do número de colónias, sendo os resultados expressos em UFC/mL de água ou UFC/g de biomassa.

3. Resultados e Discussão

3.1 Parâmetros físico-químicos

Os valores de pH das amostras de água de rega, drenagem e água subterrânea dos setores de abastecimento (Tabela 4) estão dentro de uma gama aceitável (DL 236/98), em geral, ligeiramente acima de 7,0, exceto nos setores C4 e C5, cujos valores estão dentro intervalo de 6,5 a 6,9, possivelmente porque essa área é abastecida por outra fonte de água, o rio Aroeira, um afluente do rio Lis. Resultados semelhantes foram encontrados na água do rio Lis, de montante a jusante do AHVL, incluindo três secções intermediárias (**Tabela 9**).

Com relação à salinidade da água, os resultados destacam valores mais altos em amostras de água da área a jusante do vale (setores C4, C5 e C7). Uma área particularmente salina é aquela próxima às Termas de Monte Real, a montante do setor C7, onde foi observada nas águas subterrâneas a 2 m de profundidade, uma salinidade de 4,26 PSU e uma CE de 7640 $\mu\text{S}/\text{cm}$. O efeito agrícola negativo deste problema é controlado, tanto quanto possível, pela drenagem direta do rio dessa área, bombeando-o para o rio Lis, a jusante da última derivação para rega. Os resultados da salinidade da água do rio Lis no AHVL (**Tabela 10**) mostram um aumento significativo em direção à foz do Lis. Além disso, a água do rio a jusante do açude das Salgadas não é adequada para rega. A baixa qualidade da secção a jusante referente à salinidade é explicada pelo acumulado de várias valas de drenagem, agravadas pelo fato de essa secção do rio ser o local de descarga de efluentes de uma estação de tratamento de águas residuais urbanas.

Os valores de oxigénio dissolvido na saturação (SDO,%) das amostras de água (**Tabela 9**) eram frequentemente superiores a 50% para a drenagem e, muitas vezes, superiores a 90% para a irrigação. Observe que, de acordo com Shukla et al. (2018), embora não haja referências à água para rega, recomenda-se um valor superior a 50% para a água potável, permitindo concluir que o oxigénio dissolvido nesses corpos de água é bom ou aceitável. O valor muito baixo para a amostra de água subterrânea (SDO = 28,9%) é explicado pela condição local da água parada no piezómetro.

Nos setores C1B e C2B, a água de rega (coletada no rio Lis, a montante da descarga das valas de drenagem) possui um teor de nitrato de 17 mg/L, enquanto na água de drenagem esses valores foram inferiores a 10 mg/L (**Tabela 9**). O setor C7 mostra um valor vestigial de nitratos na rede de drenagem, o que pode ser explicado pelo sistema cultural dominante, os prados permanentes, com adubação

nitrogenada nula ou reduzida. Contrariando essa tendência, nos setores C4 e C5, a água de rega apresenta um nível mais baixo de nitratos (7,1 mg/L) do que a água de drenagem (8,6 mg/L) e as águas subterrâneas (9,0 mg/L), explicadas por o sistema intensivo de produção, nomeadamente com a alteração do estrume do solo. Embora os dados ainda sejam escassos, isso indica que a rega no AHVL não tem efeito negativo significativo sobre a carga de nitrato nos recursos hídricos. Uma visão mais clara será possível quando a monitorização for estendida a todos os setores e quantificar o azoto total.

Tabela 9. Parâmetros físico-químicos da água amostrada por setor e massa de água (média \pm desvio padrão).

Sector	Função	Parâmetros de qualidade da água				
		pH (6,5-8,4)*	CE, $\mu\text{S/cm}$ (1000)*	SDO, %	SDT, ppm (640)*	Nitratos, mg/L (50)*
C1A	R	7,30	556,0	---	399,5	---
	D	7,32 \pm 0,1	783,7 \pm 245,8	59,8 \pm 9,5	509,4 \pm 159,5	---
C1B	R	7,63 \pm 0,1	849,9 \pm 100,5	96,4 \pm 1,1	552,4 \pm 65,2	17 \pm 2,8
	D	7,32 \pm 0,1	783,7 \pm 245,8	59,8 \pm 9,5	509,4 \pm 159,5	<6,5
C2A	R	7,30	556,0	---	399,5	---
	D	7,54 \pm 0,27	620,67 \pm 97,6	94,97 \pm 7,3	403,9 \pm 63,7	---
C2B	R	7,54 \pm 0,17	753,2 \pm 237	96,2 \pm 2,2	489,5 \pm 154	17 \pm 2,8
	D	7,52 \pm 0,2	558,8 \pm 66,8	90,9 \pm 6,2	363,2 \pm 43,4	10
C4+C5	R	6,66 \pm 0,98	494,5 \pm 439	92,8 \pm 9,1	321,6 \pm 286,6	7,1 \pm 1,3
	D	6,84 \pm 0,32	972,9 \pm 245,4	81,2 \pm 5,2	632,9 \pm 165,6	8,6 \pm 3,5
	S	6,52	1472	28,9	959,5	9 \pm 8,5
C7	R	7,26 \pm 0,3	627,38	88,86	409,58	---
	D	7,45 \pm 0,08	705,3	78,56	458,4	<3

CE, Condutividade Elétrica; SDO, Saturação de Oxigénio Dissolvido; SDT, Sólidos dissolvidos; CT, Coliformes totais. * Valores Máximos Recomendados (DL 238/1998).

Tabela 10. Parâmetros físico-químicos da água amostrada, nas secções do rio Lis, no AHVL (valores médios).

Secção do rio Lis	Parâmetros de qualidade da água			
	pH	EC, $\mu\text{S/cm}$	SDO, %	SDT, ppm
Montante, Açude de Arrabalde	7,30	556,0	---	399,5
Médio, Foz do coletor de Amor	7,34	776,0	100	504,6
Médio, Açude das Salgadas	7,26	627,4	88,86	409,6
Médio, Ponte da Junceira	7,29	1958,7	79,16	1273,1
Jusante, Ponte da Bajanca	7,08	2777,2	94,47	1807,2

CE, Condutividade Elétrica; SDO, Saturação de Oxigénio Dissolvido; SDT, Sólidos dissolvidos totais.

3.2 Parâmetros microbiológicos

3.2.1 Amostras de água

3.2.1.1 Enumeração de CT, CF e EF

A análise da qualidade microbiológica das amostras de água revelou valores iguais ou mais elevados de CT, CF e de EF na água de drenagem, em relação à da rega, em particular da amostra do local 9 (Vala da Pedra, localizada no Sector C7), regada com água do local 2 (**Figura 21, Figura 16**). Esta situação no setor C7 pode ser explicada pela prática habitual de estrumação neste Sector, com a introdução de uma elevada carga microbiana do trato gastrointestinal nos solos, uma parte da qual, possivelmente acaba por ser arrastada para as massas de água drenadas. Do mesmo modo, a drenagem da Vala Real (local 7) apresenta concentrações destes grupos bioindicadores muito superiores aos encontrados na água de rega (local 4), o que pode ser justificado com a prática da estrumação e da eventual escorrência de água de saneamento urbano. Os valores mais elevados de EF na água de rega dos setores C1A e C2A (local 1, água do rio Lis no açude Arrabalde) em relação à da respectiva água de drenagem do setor C2A (local 6) são explicados por contaminação de fontes externas de esgoto da área rega (Vieira et al., 2012).

O valor máximo recomendável de CT de 100NMP/100mL para a água de rega (DL 236/1998) é excedido em todas as amostras de água para rega. Esta situação de incumprimento já tinha sido referida por Monte e Albuquerque (2010), que defendem que a legislação portuguesa é demasiado exigente, pois a água na maioria dos rios não possui conteúdo de CF abaixo de 100NMP/100mL.

Os valores médios das concentrações de CT e CF à saída do AHVL, local 3 (900 e 70NMP/100mL respetivamente) excedem o VMR de CT para as águas balneares ou aquícolas, que é de 500NMP/100mL e 100NMP/100mL, respetivamente (DL 236/1998). Estes resultados indicam que poderá existir algum risco para a saúde de utentes dos aquíferos recetores destas águas, na praia da Vieira, apesar da contaminação fecal (CF) da água estar abaixo do limite legal, e por consequência os microrganismos patogénicos não deverem representar perigo para a Saúde Pública.

Com o método de rega por alagamento em canteiros (local 13) verificaram-se as contagens mais baixas de CT e CF, sendo inferiores a 100NMP/100mL na drenagem. Estes resultados talvez sejam devidos à prática continuada de não-estrumeação de origem pecuária. O efeito depurador do solo é conhecido por complementar a depuração dos efluentes por mecanismos físico-químicos e biológicos do sistema Solo-Planta-Atmosfera *Continuum* (Tapias, 1997) e pode explicar o decréscimo médio de CF. A reduzida sobrevivência de CF em ambientes naturais já tem sido referida (Pinilla, 1998) e a maior capacidade de sobrevivência de EF (Fisher e Phillips, 2009) pode justificar a diferença entre a contagens destes dois grupos.

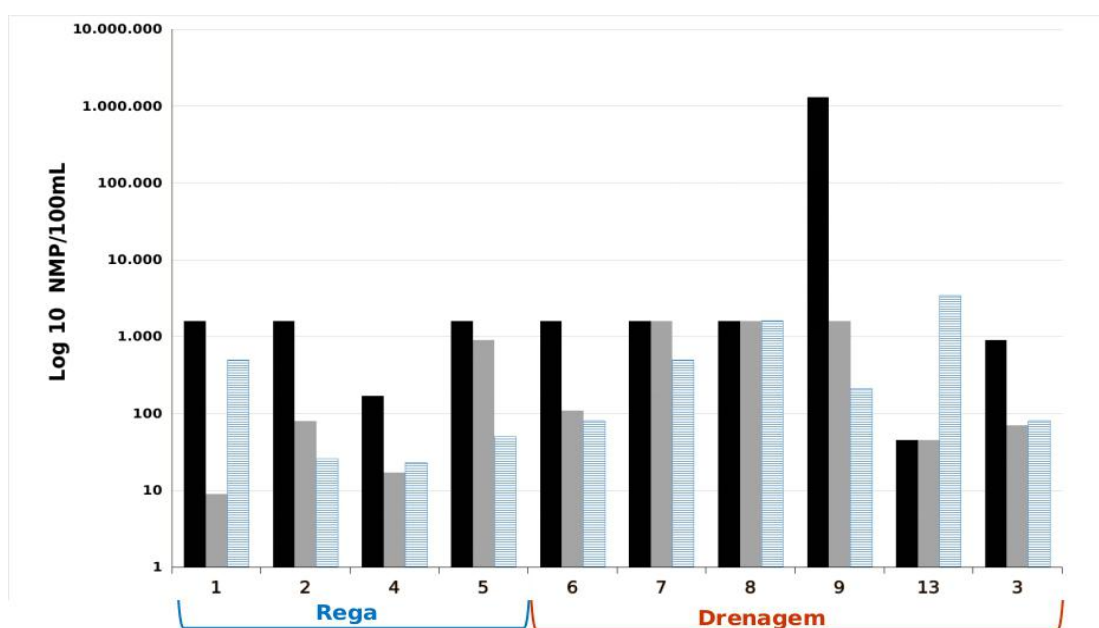


Figura 21. Concentração de Coliformes Totais, Coliformes Fecais e Enterococos Fecais nas amostras de água (NMP/100mL)

(■), coliformes totais; (■), coliformes fecais; (■), enterococos fecais.

Código dos locais: 1, Rio Lis, açude do Arrabalde; 2, Rio Lis, açude das Salgadas (insuflável); 4, Ribeira dos Milagres, perto da foz; 5, Ribeira da Aroeira, açude C4; 6, Vala do Seixal, confluência com o colector de Amor; 7, Vala Real; 8, Vala do Rio Negro, EE do Boco; 9, Vala da Pedra, final; 13, campo de arroz, água do canteiro; 3, Rio Lis, Ponte da Bajanca (cf. Tabela 3).

A análise global das amostras de água em função do seu uso (rega e drenagem) revelou um aumento mais significativo no grupo dos CT, entre a rega e a respectiva drenagem, do que a observada nos grupos CF e EF (Tabela 11). Dentro dos grupos fecais, os EF aumentaram 6,5 vezes, enquanto os CF 3,3 vezes na respectiva drenagem. A maior capacidade sobrevivência em ambientes naturais do grupo dos EF, já referida, pode justificar esta diferença.

Tabela 11. Valores médios da enumeração dos indicadores da qualidade microbiológica da água de rega e de drenagem

Parâmetro	CT (NMP/100mL)	CF (NMP/100mL)	EF (NMP/100mL)	Índice Fecal	M.22	M.37
Rega	1,24E+03	2,52E+02	1,50E+02	2,0	5,00E+07	8,90E+09
Drenagem	2,19E+05	8,38E+02	9,78E+02	2,3	2,00E+08	2,00E+08
Rácio drenagem- rega	176,49	3,33	6,53	1,20	4,00	0,02

CT, Coliformes Totais; CF, Coliformes Fecais; EF, Enterococos Fecais; (NMP/100mL). M.37, Mesófilos aeróbios a 37°C; M.22, Mesófilos aeróbios a 22°C (UFC/mL).

Considerando o Rio Lis nas secções de montante e jusante do AHVL, verifica-se que não há um agravamento dos indicadores de qualidade microbiana da água do rio Lis à entrada e à saída do aproveitamento, pois diminuem os CT e EF, e aumentam os CF e os mesófilos aeróbios. Este último parâmetro indicia um aumento da matéria orgânica na água.

Fez-se a agregação dos dados de rega e drenagem ao nível dos sub-perímetros do aproveitamento, para evidenciar a maior contaminação de CT, CF e EF no perímetro I em relação ao II. O sub-perímetro I, inclui os blocos I e II e os setores C4, C5, C7; e o II, inclui os blocos IV e V e os setores C1 e C2 (**Tabela 14, Figura 26 e Figura 27**). A análise é feita em dois níveis: considerando as águas usadas para abastecimento, conjuntamente as águas de rega e drenagem com esta função; e separando estes corpos de água, incluída na drenagem de águas não usadas na rega (caso do local 3). Esta análise é um primeiro passo para a caracterização espacial da qualidade microbiológica da água no AHVL, a qual requer, para obtenção de informação consistente, mais dados no espaço e no tempo.

Tabela 12. Valores médios das contagens de Coliformes Totais, Coliformes Fecais, Enterococos Fecais, e mesófilos aeróbios na água por sub-perímetro do AHVL

Parâmetro	Corpo de água	CT	CF	EF	Índice fecal	M.22	M.37
Sub- Perímetro I	R	1,60E+03	4,90E+02	3,80E+01	3,5	5,00E+07	5,00E+07
	D	3,28E+05	8,29E+02	1,32E+03	2,4	5,00E+07	5,00E+07
	R+D	2,63E+05	8,45E+02	1,06E+03	3,1	4,00E+07	4,00E+07
Sub- Perímetro II	R	8,85E+02	1,30E+01	2,62E+02	0,4	5,00E+07	1,78E+10
	D	1,60E+03	5,97E+02	2,02E+02	2,6	3,67E+08	3,67E+08
	R+D	1,31E+03	3,63E+02	2,26E+02	1,7	2,40E+08	7,32E+09

R, rega; D, drenagem. CT, Coliformes Totais; CF, Coliformes Fecais; EF, Enterococos Fecais; (NMP/100mL). M.37, Mesófilos aeróbios a 37°C; M.22, Mesófilos aeróbios a 22°C (UFC/mL).

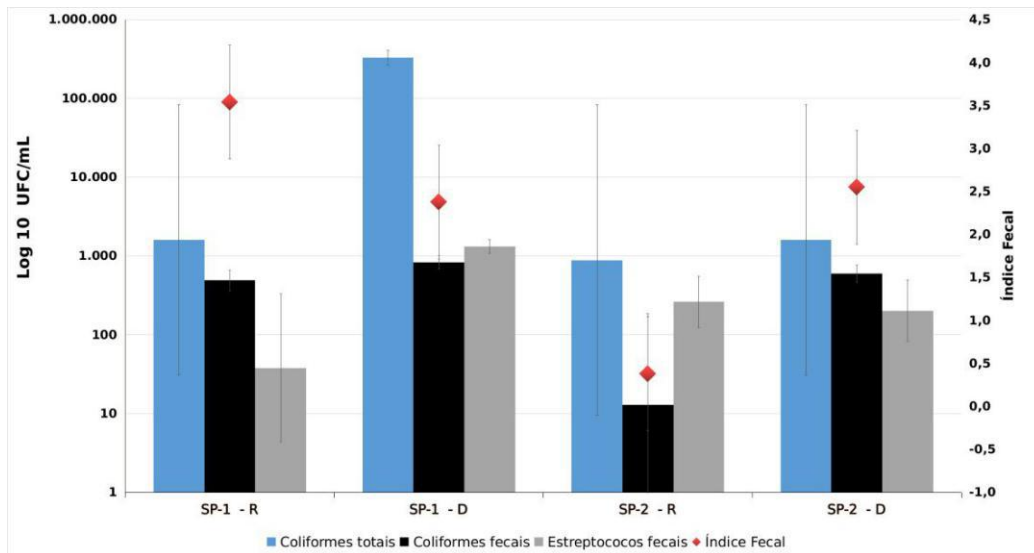


Figura 22. Valores médios de Coliformes Totais, Coliformes Fecais, e Enterococos Fecais, NMP/100mL e índice fecal das amostras de água de rega e de água de drenagem dos sub-perímetros I e II.

R, rega; D, drenagem. (■), coliformes totais; (■), coliformes fecais; (■), enterococos fecais; (♦), índice fecal.

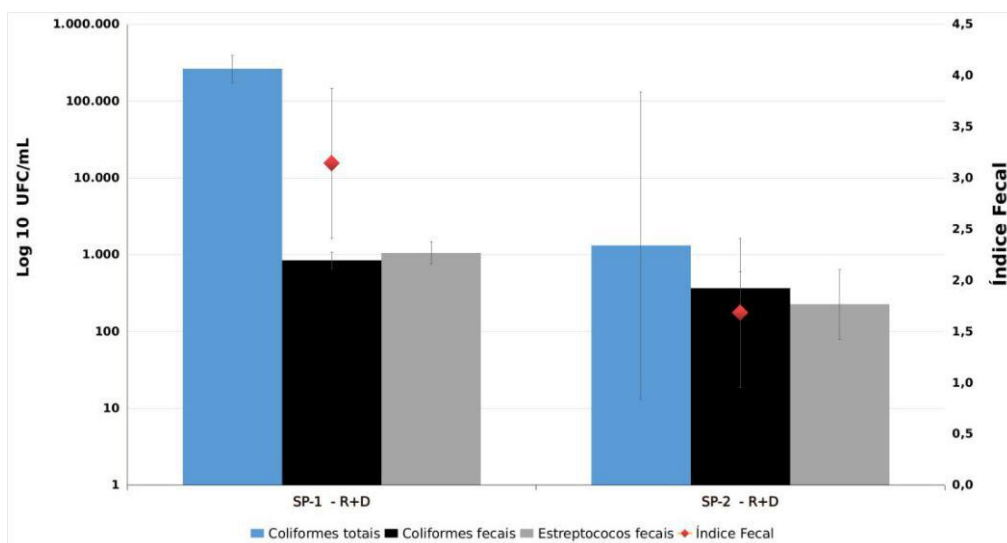


Figura 23. Valores médios de Coliformes Totais, Coliformes Fecais, e Enterococos Fecais, NMP/100mL e índice fecal das amostras de água de rega e drenagem dos sub-perímetros I e II.

R+D, rega e drenagem. (■), coliformes totais; (■), coliformes fecais; (■), enterococos fecais; (♦), índice fecal.

3.2.1.2 Identificação da possível fonte de contaminação da água

A presença de bactérias coliformes fecais indica que existe poluição devida a animais de sangue quente e, se as contagens forem altas, indica uma maior probabilidade de presença de patogénicos. Atendendo ao uso da água, são fixados limites aceitáveis para bactérias coliformes fecais.

Alguns coliformes fecais estão presentes em toda a água natural, mesmo sem a influência dos seres humanos ou animais domésticos, pois os animais selvagens também contribuem com bactérias fecais. Com o objectivo de identificar se uma fonte suspeita de poluição da água era proveniente de seres humanos ou de outros animais de sangue quente, foi usada a proporção típica de bactérias CF e EF (**Tabela 11**).

Tabela 13. Razões típicas de coliformes fecais para enterococos fecais excretados, por várias espécies animais, segundo Pepper et al., 2011

CF/EF	Fonte de Poluição
>4,0	Poluição humana
2,0-4,0	Resíduos humanos na poluição mista
0,7-2,0	Resíduos animais em poluição mista
<0,7	Poluição de animais selvagens

CF, coliformes fecais; EF, enterococos fecais;

De acordo com Pepper et al. (2011), os rácios de CF/EF das amostras da Ribeira da Aroeira (local 5) e da Vala da Pedra (local 9) indicam poluição de origem humana; no entanto, os locais 7 e 2 apresentam índices que apontam vestígios antropogénicos na poluição mista; os locais 8, 6, 4 e 3 mostram vestígios de poluição animal conjuntamente com humana; e os locais 1 e 13 apresentam essencialmente poluição de animais selvagens (**Figura 23, Figura 24 e Tabela 11**). Nos arrozais (local 13) mais próximo da foz do rio Lis, não são feitas incorporações de estrume no solo, que é mantido submerso em canteiros, atrativos para aves limnícolas, o que explica este resultado.

Contudo há que ter cautela na aceitação destes índices, pois este método de identificação da origem da poluição fecal pode ser questionada, porque as taxas de mortalidade entre os dois tipos de bactérias podem diferir significativamente. Consequentemente, são fiáveis quando o ponto de amostragem está próximo da fonte de poluição.

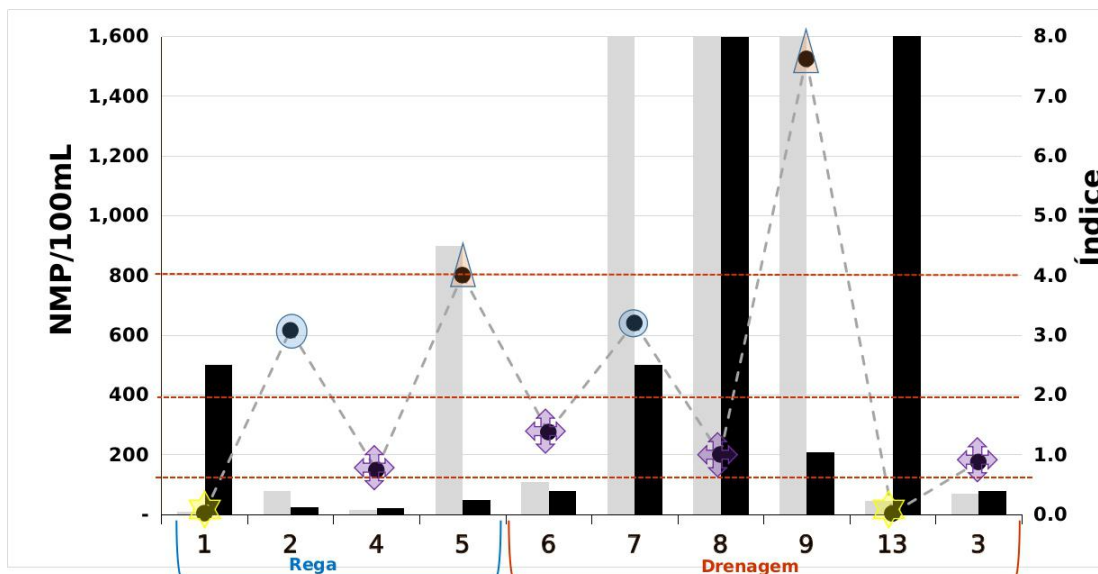


Figura 24. Coliformes Fecais, e Enterococos Fecais, NMP/100mL e índice fecal das amostras de água

■, coliformes fecais; ■, enterococos fecais; -●-, índice fecal (▲, acima de 4,0; ●, entre 2,0 e 4; ◆, entre 0,7 e 2,0; ★, inferior a 0,7).

Código dos locais: 1, Rio Lis, açude do Arrabalde; 2, Rio Lis, açude das Salgadas (insuflável); 4, Ribeira dos Milagres, perto da foz; 5, Ribeira da Aroeira, açude C4; 6, Vala do Seixal, confluência com o colector de Amor; 7, Vala Real; 8, Vala do Rio Negro, EE do Boco; 9, Vala da Pedra, final; 13, campo de arroz, água do canteiro; 3, Rio Lis, Ponte da Bajanca (cf. Tabela 3).

3.2.1.3 Enumeração de mesófilos aeróbios

Verificou-se um aumento da população de mesófilos aeróbios a 22°C entre a água usada para a rega e a de drenagem, indicando a proliferação deste grupo microbiano no solo ou canais de drenagem com desenvolvimento de biofilmes, ou a estagnação da água drenada do solo. Pelo contrário, a população de mesófilos aeróbios a 37°C diminuiu 44,5 vezes (**Figura 23** e **Tabela 12**).

A legislação não estabelece um valor paramétrico de referência de mesófilos aeróbios (DL 236/1998 e DL 306/2007) para águas de rega, balneares, superficiais, ou destinadas ao consumo humano não engarrafadas, apenas indica “sem alteração anormal”. Não estão descritos efeitos para a saúde, atribuíveis à presença de mesófilos aeróbios.

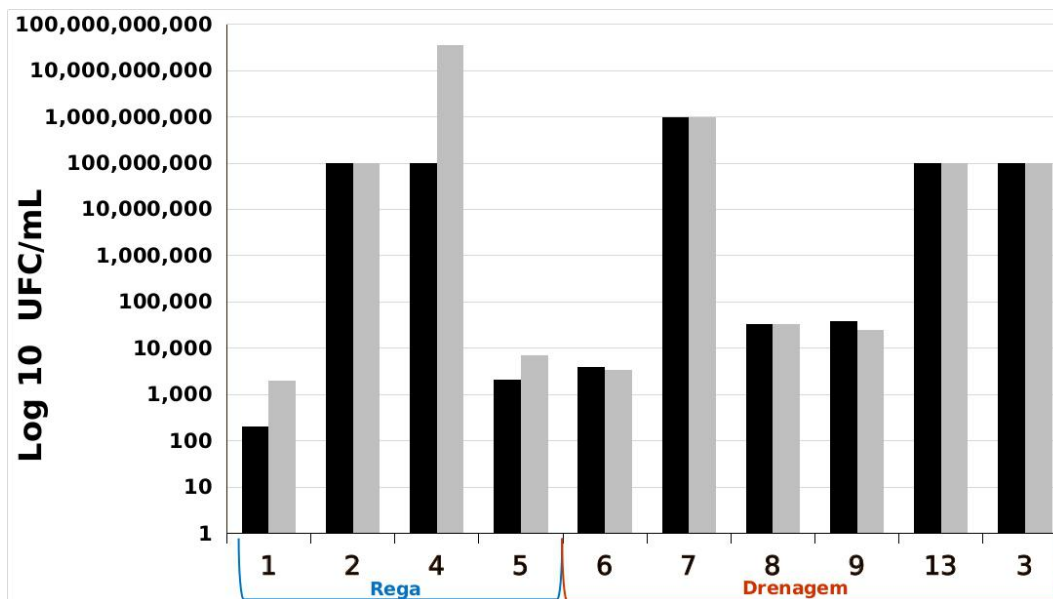


Figura 25. Valor médio de mesófilos aeróbios a 22°C e 37°C nas amostras de água (■), mesófilos aeróbios a 22°C; (▒), mesófilos aeróbios a 37°C.

Código dos locais: 1, Rio Lis, açude do Arrabalde; 2, Rio Lis, açude das Salgadas (insuflável); 4, Ribeira dos Milagres, perto da foz; 5, Ribeira da Aroeira, açude C4; 6, Vala do Seixal, confluência com o colector de Amor; 7, Vala Real; 8, Vala do Rio Negro, EE do Boco; 9, Vala da Pedra, final; 13, campo de arroz, água do canteiro; 3, Rio Lis, Ponte da Bajanca (cf. Tabela 3).

3.2.2 Amostras de plantas

Os resultados dos parâmetros microbiológicos das amostras vegetais estão apresentados nas **Figura 26**, **Figura 28** e **Figura 29**. As couves dos locais 11 e 12, que eventualmente podem ser consumidas cruas, cumprem os requisitos de higiene para consumo humano, de acordo com os valores guia para alimentos prontos a comer (INSA, 2019). Nível satisfatório de CT (inferior a 10^2 UFC/g) e de CF entre satisfatório (inferior a 10UFC/g) no local 11 e aceitável (inferior a 10^2 UFC/g) no local 12 (**Figura 28**).

O azevém, para alimentação animal contém valores elevados de CT, porém as contagens de CF e EF são inferiores às das folhas de couve do local 12.

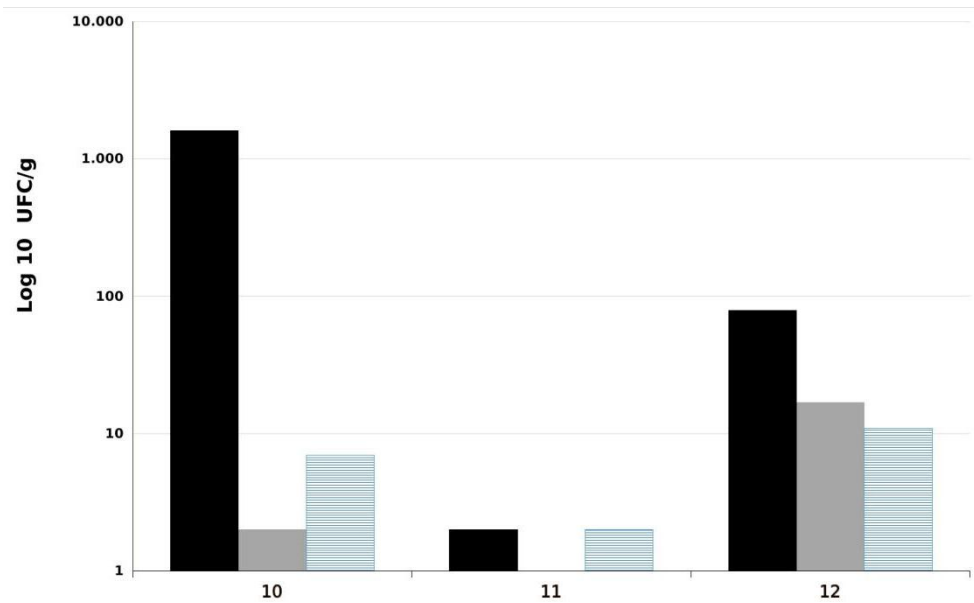


Figura 26. Coliformes Totais, Coliformes Fecais e Enterococos Fecais (UFC/g) das amostras de plantas.

(■), coliformes totais; (■), coliformes fecais; (■), enterococos fecais. UFC, unidades formadoras de colónias.

Código dos locais: 10, azevém de campo com rega de superfície; 11 e 12 folhas de couve regada por aspersão; cf. Tabela 3.

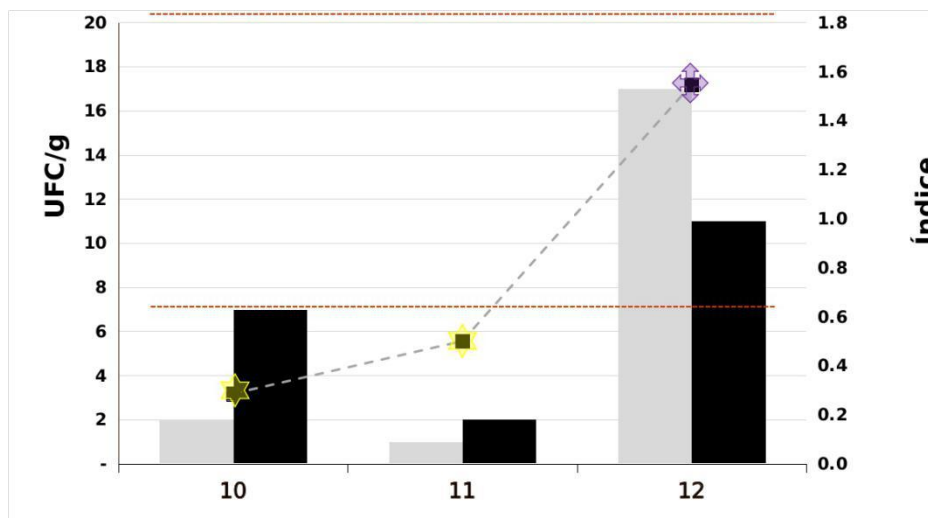


Figura 27. Coliformes Fecais, e Enterococos Fecais, UFC/g e índice fecal das amostras de plantas

(■), coliformes fecais; (■), enterococos fecais; (-.-), índice fecal (◆, entre 0,7 e 2,0; ★, inferior a 0,7).

UFC, unidades formadoras de colónias. Código dos locais: 10, azevém de campo com rega de superfície; 11 e 12 folhas de couve regada por aspersão; cf. Tabela 3.

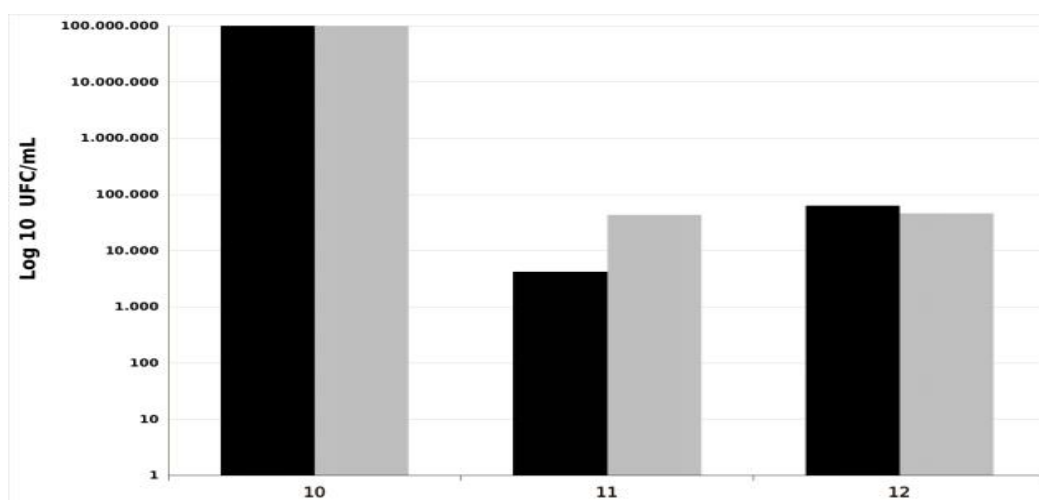


Figura 28. Valor médio de mesófilos aeróbios a 22°C e 37°C na água das amostras de plantas (UCF/g)

(■), mesófilos aeróbios a 22°C; (▣), mesófilos aeróbios a 37°C. Código dos locais: 10, azevém de campo com rega de superfície; 11 e 12 folhas de couve regada por aspersão; cf. Tabela 3.

3.3 Discussão. Propostas para melhoria da gestão

A qualidade físico-química e microbiológica das amostras de água revela: (i) Uma fonte significativa de problemas é externa ao AHVL, como várias medidas demonstram. Portanto, cabe à Associação de Regantes e aos agricultores adaptar o modo de operação e as tecnologias para minimizar os impactos negativos desses problemas (Oliveira et al., 2019). A monitorização da qualidade da água no AHVL é um procedimento muito importante para conhecer a realidade local ao longo do tempo e permitir que os ajustes sejam o mais eficazes possível, conforme destacado por Lothrop et al. (2018), Stine et al. (2005) e Winfield e Groisman (2003). (ii) A carga orgânica do gado aplicada ao solo em certas áreas do AHVL torna significativo o risco microbiológico emergente (Amador et al., 2019). (iii) A parte a jusante do AHVL possui características hidrogeológicas de salinidade significativa, que é um fator de risco para o solo devido ao aumento capilar ou reutilização da água de drenagem (Hoffman e Shalevet, 2007). A água de drenagem superficial, a água subterrânea e o monitorização do solo desempenham um papel importante na avaliação do problema para determinar a ação nos casos mais graves.

A baixa qualidade da água leva a vários problemas de risco, exigindo medidas de proteção, adaptação ou mitigação: (i) Uso criterioso de

estrume como fertilizante do solo, que deve ser adequadamente compostado (Cameira e Fangueiro, 2020). Cuidados devem ser reforçados quando aplicados a culturas hortícolas, ou manuseio de culturas, para proteger problemas ambientais e de saúde pública devido a micróbios e outros contaminantes como antibióticos (Amador et al., 2019). (ii) A escolha da tecnologia de rega deve levar em consideração a qualidade da água para rega e deve ser ajustada de acordo com a avaliação de risco para o agricultor e o consumidor do produto. Para as culturas frescas, deve dar-se preferência à rega por gotejamento; a rega por sulco ou canteiros não possui restrições especiais para outras culturas e a rega por aspersão é preferencialmente dedicada a culturas forrageiras ou culturas com processamento pós-colheita. Os agricultores devem ser informados sobre as precauções especiais de higiene e segurança, onde a contaminação microbiológica está em maior risco (Ricart et al., 2019).

4. Conclusões

A qualidade da água do ponto de vista microbiológico é um factor de grande importância para a gestão da água nos aproveitamentos hidroagrícolas. Por um lado, quando se analisa a água para rega, a sua qualidade pode afectar em termos sanitários os agricultores, os trabalhadores do processamento pós-colheita da produção e os consumidores, e em termos ambientais o solo, o biota e o meio hídrico. Por outro lado, em relação à água de drenagem, a sua qualidade microbiológica vai afetar o meio hídrico recetor, com potenciais impactes ambientais negativos no próprio sistema de rede de drenagem. É, portanto, muito relevante o conhecimento da qualidade microbiológica da água para que se possa adequar o seu uso e gestão para otimizar o seu benefício na produção agrícola e controlar os efeitos negativos na saúde de pessoas e animais e meio ambiente.

O estudo desenvolvido no AHVL permitiu analisar a sua complexidade relativamente às origens de água para rega, sujeitas a diversos riscos de contaminação microbiológica derivados da pressão urbana e pecuária. Também se registou a existência da prática da incorporação de estrumes de pecuária, potenciando aqueles riscos. Este AH tem uma característica algo singular de utilizar uma parte significativa da rede de drenagem constituída por valas com a função de armazenamento temporário e de abastecimento para rega, o que torna ainda mais sensível e complexa a análise microbiológica da água. Em face de toda esta informação estabeleceu-se uma rede de amostragem de água para análise microbiológica que procurou ser representativa do efeito dos principais factores condicionantes da sua qualidade, exteriores e interiores ao aproveitamento. A densidade desta rede de amostragem ficou naturalmente limitada pelas condições laboratoriais na análise das amostras. O processo de amostragem no campo incidiu no período de verão, no decurso da época de rega. A coleta das amostras teve lugar no início da manhã e o seu transporte imediato para o laboratório. O processo em laboratório decorreu no cumprimento dos protocolos estabelecidos. Este trabalho demonstrou ser muito exigente no rigor das medições e procedimentos, exigindo muita organização e cuidado registo de dados.

Os resultados da análise microbiológica expressos pelos CT e CF mostraram que, em geral, os valores na água de rega foram inferiores aos da água de drenagem, como é normal. Registou-se um rácio rega-drenagem médio de 0,0057 nos CT, 0,30 nos CF e de 0,15 nos EF. Assim, leva-se a concluir que existe contaminação a montante da área agrícola do AHVL, por fontes externas, e que comparando a água do rio Lis à entrada e à saída do aproveitamento não há um agravamento da

indicadores de qualidade microbiana (diminuem os CT e EF, e aumentam os CF), embora se registre o aumento significativo dos mesófilos aeróbios que indicam um aumento da matéria orgânica. O agravamento da carga microbiana na rede drenagem pode explicar-se pela prática comum de incorporação de estrumes pecuários no solo. A máxima diminuição ocorreu em rega de arroz, explicada pelo facto de não se efetuar estrumação nesta cultura.

Os valores de CT excedem os limites referidos no DL 236/1998, situação frequente nos regadios nacionais. A análise dos dados de rega e drenagem ao nível dos sub-perímetros I e II (jusante e montante, respetivamente) permitiu concluir há uma diminuição de carga microbiológica de montante para jusante (exceto os EF na água de rega). Por sua vez, a análise do material vegetal levou a concluir que os valores de CT e EF são mais elevados na cultura regada por aspersão (couve, bloco IV), ao invés da mesma cultura e mesmo método de rega no bloco V, ou do azevém no bloco II regado por superfície.

As análises físico-químicas da água permitiram concluir que o pH tem, em geral, valores aceitáveis, um pouco abaixo da normalidade no rio Aroeira. Quanto à salinidade da água do rio Lis, os resultados mostram um aumento significativo em direção à foz do rio. Está identificada uma área particularmente salina próxima às Termas de Monte Real, sendo o efeito agrícola negativo deste problema controlado pela drenagem direta dessa área no rio, a jusante da última derivação para rega. Os valores de oxigénio dissolvido na saturação das amostras de água não registaram problemas significativos, tendo sido em geral superiores a 50% para a drenagem e, superiores a 90% para a rega. Quanto ao teor em nitratos, os resultados permitiram concluir que a rega no AHVL não tem efeito negativo significativo sobre a carga de nitratos no meio hídrico recetor.

Concluiu-se também da importância da monitorização ambiental, em especial da microbiologia da água, sendo recomendável aumentar a rede de locais a amostrar e a respectiva frequência, para aumento da representatividade dos resultados.

5. Referências bibliográficas

- Amador, P.; Fernandes, P.; Prudêncio, C.; Duarte, I. 2019. Prevalence of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* on Portuguese livestock manure. *Antibiotics*, 8, 23.
- APA-ARHCentro - Planos de Gestão de Bacia Hidrográfica dos rios Vouga, Mondego e Lis Integradas na Região Hidrográfica 4. Disponível em: <<https://apambiente.pt/index.php?ref=16&subref=7&sub2ref=9&sub3ref=1521>> (acesso em 10 janeiro 2020).
- Ashbolt, N.J., 2004. Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions. *Toxicology*, 198(1-3), pp.229-238.
- Baumli, G.R. (Ed.). 1982. Principles of Project Formulation for Irrigation and Drainage Projects, ASCE, New York, 132p.
- Caldeira, F. 2014. Introdução às Questões Ambientais: Cultura, Ciência, Tecnologia. Ed. Univ. Fernando Pessoa, ISBN 978-989-643-123-5, Porto.
- Cameira, M.R.; Li, R.; Fangueiro, D. 2020. Integrated modelling to assess N pollution swapping in slurry amended soils. *Science of the Total Environment*, 713, 136596.
- Campar, A.; Gama, A.; Cunha, L.; Jacinto, R.; Boura, I.; Medeiros, J.; Brandão, J. 1989. The Lis River Watershed—Contribution to the Study of Territory Organization and Environmental Problems; Câmara Municipal de Leiria, CCDR-Centro: Coimbra, Portugal.
- CEN (Comité Europeu de Normalização): Avenue Marnix 17, B-1000, Bruxelas, (<http://www.cen.eu>)
- DGADR (Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural), <http://www.dgadr.gov.pt>, ARBVL, (acesso em 10 janeiro 2020).
- CLIMATE-DATA.ORG. Clima Leiria. Available online: <https://pt.climate-data.org/europa/portugal/leiria/leiria-140/> (acesso em 12 Dezembro 2019).
- COBA, 2001. Estudo de impacte ambiental do Projeto de Emparcelamento do Vale do Lis. IHERA, Lisboa.
- Coelho, J.C., Pinto, P.A. 1994. Sistemas de Agricultura Sustentáveis Ensaio para a clarificação de alguns conceitos. *Revista de Ciências Agrárias*, Vol. XVII, 3, 71-84.
- Da Silva, N., Taniwaki, M.H., Junqueira, V.C., Silveira, N., Okazaki, M.M. and Gomes, R.A.R., 2018. Microbiological examination methods of food and water: a laboratory manual. CRC Press.
- Decreto-Lei nº 236/98 de 1 de Agosto - Normas de Qualidade da Água - Artº 58º Águas destinadas à rega.
- DL 238/1998. Decreto-Lei n 236/98 de 1 de Agosto de 1998- Normas de Qualidade da Água - Art 58, Águas destinadas à rega.
- DL 306/2007. Decreto-Lei n.º 306/2007. Diário da República n.º 164/2007, Série I de 2007-08-27, do Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, 5747 - 5765. (<https://data.dre.pt/eli/dec-lei/306/2007/08/27/p/dre/pt/html>)

- EIP-AGRI. Disponível em: <<https://ec.europa.eu/eip/agriculture/en>> (acesso em 10 janeiro 2020).
- FAOSTAT, 2016. FAOSTAT *Online Database*. Food and Agriculture Organization, Rome. Disponível em: <http://faostat3.fao.org>.
- Ferreira S., Oliveira F., Silva, F.G., Teixeira M., Gonçalves M., Eugénio R., Damásio H., Gonçalves J.M. 2020. Assessment of Factors Constraining Organic Farming Expansion in Lis Valley, Portugal. *AgriEngineering*, 3, 111-127; doi:10.3390/agriengineering2010008.
- Fisher, K.; Phillips, C., 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155(6), 1749-1757.
- Gonçalves J.M., Ferreira S., Nunes M., Eugénio R., Amador P., Filipe O., Duarte I.M., Teixeira M., Vasconcelos T., Oliveira F., Gonçalves M., Damásio H. 2020. Developing Irrigation Management at District Scale Based on Water Monitoring: Study on Lis Valley, Portugal. *AgriEngineering*, 2, 78-95; doi:10.3390/agriengineering2010006.
- Henriques, A.G. 1984. Avaliação de Impactos Ambientais de Empreendimentos Hidráulicos. Análise de Metodologias. Informação Técnica Hidráulica, LNEC, Lisboa.
- Hipólito, J.R. e Vaz, A.C. 2011. Hidrologia e Recursos Hídricos. Coleção Ensino da Ciência e Tecnologia, ISTPress, Lisboa.
- Hoffman, J.; Shalevet, J. 2007. Controlling salinity. In: Design and Operation of Farm Irrigation Systems, 2nd ed.; Hoffman, G.J., Evans, R.G., Jensen, M.E., Martin, D.L., Elliot, R.L., Eds.; ASABE: St. Joseph, MI, USA; pp. 160-207.
- INSA (Instituto Nacional de Saúde) Dr Ricardo Jorge. 2019. Interpretação dos resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de produção e distribuição alimentar: valores-guia. Lisboa: INSA IP. Disponível em: <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/5610>
- ISO 19458:2006, 2006. Water quality — Sampling for microbiological analysis. International Organization for Standardization.
- ISO 4831:2006, 2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms — Most probable number technique, . International Organization for Standardization.
- ISO 6222:1999, 1999. Water quality — Enumeration of culturable micro-organisms — Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium. . International Organization for Standardization.
- ISO 8199:2018, 2018. Water quality — General requirements. International Organization for Standardization.
- ISO 9308-2:2012, Water quality — Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria — Part 2: Most probable number method.
- Lothrop, N.; Bright, K.R.; Sexton, J.; Pearce-Walker, J.; Reynolds, K.A.; Verhougstraete, M.P. 2018. Optimal strategies for monitoring irrigation water quality. *Agricultural Water Management*, 199, 86-92.
- Ministério da Agricultura e do Mar - Gabinete de Planeamento e Políticas (MAM-GPP) 2014. Programa de Desenvolvimento Rural do Continente para 2014-2020.

- Monte H, Albuquerque A. 2010. Reutilização de Águas Residuais. Série Guias Técnicos, ISEL-ERSAR, Lisboa.
- OEN: Organização europeia de normalização. ETSI: 650, route des Lucioles, F-06921 Sophia Antipolis, (<http://www.etsi.eu>).
- Oliveira, I. 2011. Técnicas de regadio. Teoria e prática. Ed. Autor, 2ª Ed. Beja.
- Oliveira, M.F.; Silva, F.G.; Ferreira, S.; Teixeira, M.; Damásio, H.; Ferreira, A.D.; Gonçalves J.M. 2019. Innovations in Sustainable Agriculture: Case Study of Lis Valley Irrigation District, Portugal. *Sustainability*, 11, 331; doi:10.3390/su11020331.
- OMS (Organização Mundial de Saúde), 2016. Quantitative microbial risk assessment: application for water safety management.
- Pereira, L.S.; Cordery, I.; Iacovides, I. 2009. Coping with water scarcity. Addressing and challenges. Ed. Springer, ISBN 978-1-4020-9578-8.
- Pínilla, C.C. 1998. Indicadores de contaminação fecal en la reutilización de agua residual regenerada en suelos. Tese de Doutoramento. Universidad de Barcelona.
- Raposo, J.R. 1996. A rega - dos primitivos regadios às modernas técnicas de rega. Ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- Ricart, S.; Rico, A.M.; Ribas, A. 2019. Risk-yuck factor nexus in reclaimed wastewater for irrigation: Comparing farmers' attitudes and public perception. *Water*, 11, 187.
- Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S., 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington: APHA, AWWA, WPCR, 1496. ISBN: 9780875532875
- RRN. Disponível em: <<https://inovacao.rederural.gov.pt/2/81-grupo-operacional-para-a-gestao-da-agua-no-vale-do-lis>> Acesso em 10 de janeiro de 2020
- Santos, M.I.; Correia, C.; Cunha, M.I.; Saraiva, M.M.; Novais, M.R., 2005. Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos*, 64, 66-68.
- Shukla, A.; Shukla, S.; Hodges, A.W. 2018. Recovering nitrogen from farm-scale drainage: Mechanism and economics. *Transactions of the ASABE*, 61, 197-206, doi:10.13031/trans.12277.
- Slanetz, L.W.; Bartley, C.H., 1957. Numbers of enterococci in water, sewage, and feces determined by the membrane filter technique with an improved medium. *Journal of Bacteriology*, 74(5), 591.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1998. APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) e WEF (Water Environment Federation), 20th ed., eds Greenberg, A.H., Clesceri, L.S. e Eaton, A.D., APHA; Washington, DC.
- Stine, S.W.; Song, I.; Choi, C.Y.; Gerba, C.P. 2005. Application of microbial risk assessment to the development of standards for enteric pathogens in water used to irrigate fresh produce. *Journal of Food Protection*, 68, 913-918.
- Tapias, J.C., 1997. Estratégias de gestion de los recursos hídricos en los campos de golf. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona, Espanha, 432 p.

- United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. 1992. Agricultural waste management field handbook. National Engineering Handbook, Part 651. <http://www.nrcg.nrcs.usda.gov/awmfh.html>
- USDA-NRCS, 2000. Agricultural Waste Management Field Handbook. *National Engineering Handbook (NEH)*, part 651.
- Vieira, J.; Fonseca, A.; Vilar, V.J.P.; Boaventura, R.A.R.; Botelho, C.M.S. 2012. Water quality in Lis River, Portugal. *Environmental monitoring and assessment*, 184, 7125-7140.
- Water, S.; Organização Mundial de Saúde, 2006. *Guidelines for drinking-water quality* [electronic resource]: incorporating first addendum. Vol. 1, Recommendations.
- WCED (World Commission on Environment and Development). 1987. Our Common Future. Oxford University Press, Oxford.
- WHO (World Health Organization). 2016. Quantitative microbial risk assessment: application for water safety management. ISBN: 978 92 4 156537 0.
- Winfield, M.D.; Groisman, E.A. 2003. Role of nonhost environments in the lifestyles of Salmonella and Escherichia coli. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 3687-3694.