Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Avaliação do atual sistema de tratamento de águas residuais de Mondim de Basto na flora ribeirinha do Tâmega

Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente

Mafalda Daniela Gonçalves Pires

Orientadores: Eunice Luís Vieira Areal Bacelar
José Alcides Silvestre Peres

Vila Real, 2018

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Avaliação do atual sistema de tratamento de águas residuais de Mondim de Basto na flora ribeirinha do Tâmega

Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente

Mafalda Daniela Gonçalves Pires

Orientadores: Eunice Luís Vieira Areal Bacelar

José Alcides Silvestre Peres

Composição do Júri:

Professor Doutor Carlos Afonso de Moura Teixeira

Professor Doutor Helder Teixeira Gomes

Professora Doutora Berta Maria de Carvalho Gonçalves Macedo

Professora Doutora Eunice Luís Vieira Areal Bacela

Vila Real, 2018

O presente trabalho foi desenvolvido mediante apoio financeiro do Município de Mondim de Basto, ao abrigo do protocolo de cooperação com a Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

MONDIM DE BASTO

MUNICÍPIO

Parte dos resultados desta dissertação foram apresentados nas XI Jornadas de Biologia integradas na semana da Ciência e Tecnologia – Ciência e Cidadania que decorreram na UTAD de 21 a 24 de novembro de 2017.

“Aprender é a única coisa de que a mente não se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende”

Leonardo da Vinci

Agradecimentos

A realização desta dissertação marca o final de uma etapa muito importante na minha vida. Este trabalho só foi possível com a colaboração e o apoio de diversas pessoas. Por este motivo quero deixar aqui o meu agradecimento a todos aqueles que de forma direta ou indireta ajudaram na concretização deste mesmo trabalho.

À Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, na pessoa do seu magnífico Reitor, Sr. Professor Doutor António Augusto Fontaínhas Fernandes, por me ter proporcionado todos os meios necessários à realização desta dissertação.

À Câmara Municipal de Mondim de Basto o meu muito obrigada. Sem a vossa colaboração, este trabalho não seria desenvolvido. Em especial às Engenheiras Isabel Carvalho e Susete Moura por toda a disponibilidade que tiveram para comigo na cedência de informação e aos restantes colaboradores para a recolha de material essencial para o desenvolvimento desta dissertação.

À orientadora, Professora Doutora Eunice Luís Vieira Areal Bacelar pela orientação e pela incansável colaboração, empenho e rigor com que sempre me apoiou. Obrigada pelo interesse, incentivo, dedicação, preocupação e disponibilidade a qualquer momento.

Ao co-orientador, Professor Doutor José Alcides Silvestre Peres pela orientação no que diz respeito à parte química e não só. Obrigada pela disponibilidade, pelo interesse, dedicação e ainda por todos os conhecimentos que me transmitiu ao longo do meu percurso académico.

À Professora Doutora Berta Gonçalves pelo apoio prestado na concretização de alguns testes práticos e pelos conselhos dados ao longo da evolução do trabalho.

Ao Professor Doutor António Crespi, por toda a disponibilidade que teve e pela cedência de documentos importantes para o progresso desta dissertação.

À Rupestris pela cedência do espaço para colocar as plantas.

À D. Lena, Ana Monteiro, Cristina e restante equipa do Laboratório de Fisiologia Vegetal pela ajuda e apoio na concretização de todas as tarefas de laboratório.

À D. Augusta pela constante disponibilidade no fornecimento de material necessário e por toda a ajuda.

À D. Ana e restante equipa do laboratório de Histologia pela ajuda e paciência para a concretização dos trabalhos de anatomia foliar.

Ao Sr. Carlos do Laboratório de Química e ao Sr. Fernando e à D. Donzília do Laboratório de Microbiologia por toda a ajuda prestada na concretização de alguns trabalhos em laboratório.

À Catarina Parada e à Vanessa Guimarães por toda a ajuda prestada no Laboratório de Tecnologias Agroambientais. Foi fundamental para a concretização dos ensaios químicos.

À Teresa Raquel Freitas pela amizade, simpatia, pelo companheirismo, pelas palavras de apoio e pelo incentivo. Foi preciosa toda a ajuda prestada.

À Izaura pelo apoio, palavras de incentivo e, sobretudo pela amizade. Obrigada também pela ajuda na concretização de algumas das tarefas.

Aos meus pais, o meu muito obrigada. Sem o apoio incondicional deles, nada disto seria possível concretizar. Obrigada pelo carinho, apoio e incentivo mesmo nos momentos mais difíceis.

À minha irmã e ao meu irmão pelo apoio, carinho e incentivo. Um agradecimento especial à minha irmã, pela paciência e ajuda constante em diversos trabalhos desta dissertação.

À restante família e amigos o meu muito obrigada. Cada um de vocês contribuiu de certa forma para a concretização deste trabalho.

Resumo

A presente dissertação teve como principal objetivo avaliar o efeito do atual sistema de tratamento de águas residuais (AR) de Mondim de Basto na flora ribeirinha do Tâmega e, ainda, a sua possível reutilização na rega dos espaços verdes nas proximidades da estação de tratamento de águas residuais (ETAR), através da realização de ensaios laboratoriais e com plantas envasadas.

No início do estudo foi realizada a caracterização físico-química do efluente em diferentes datas de recolha. Esta caracterização permitiu definir fatores de diluição do efluente para a realização de testes de fitotoxicidade por análise da germinação de sementes de *Cucumis sativum, Lepidium sativum*, uma mistura de relva e *Sinapis alba*. Estes ensaios permitiram verificar que a inibição da taxa de germinação foi muito reduzida ou até mesmo nenhuma no caso de *C. sativum*.

Posteriormente, realizaram-se estudos ecofisiológicos em plantas envasadas de duas espécies ribeirinhas, o freixo-comum (*Fraxinus angustifolia*) e o carvalho-negral (*Quercus pyrenaica*) e uma planta ornamental, a petúnia-comum (*Petunia×atkinsiana*) regadas com água potável e efluente da ETAR sem diluição, pois os valores dos parâmetros físico-químicos estavam praticamente todos abaixo dos legalmente recomendados.

Relativamente à vegetação ribeirinha, no que diz respeito à análise de crescimento, a espécie *Q. pyrenaica* revelou, de uma forma geral, melhor desempenho, associado ao facto de apresentar maior área foliar inicial. Relativamente ao teor de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais e perda de eletrólitos, a espécie *F. angustifolia* apresentou maiores valores. Esta espécie também apresentou melhores resultados ao nível do estado hídrico e revelou melhor desempenho nas trocas gasosas foliares, com valores mais elevados na condutância estomática e taxa fotossintética (*A*).

Relativamente às diferenças entre os tratamentos, verificou-se que a AR da ETAR influenciou positivamente o crescimento das plantas. No entanto, não se verificaram diferenças em relação aos teores de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais, estado hídrico e parâmetros estruturais foliares. Por outro lado, as plantas regadas com AR da ETAR revelaram maior perda de eletrólitos comparativamente às plantas controlo, o que nos leva a concluir que este tratamento afetou a integridade membranar. De qualquer das formas não se verificaram efeitos significativos do tratamento nas trocas gasosas foliares exceto na razão entre a concentração de CO_2 intercelular e atmosférico.

Relativamente à espécie ornamental *P.*×*atkinsiana*, verificaram-se diferenças no estado hídrico e trocas gasosas. Os restantes estudos não revelaram diferenças. Apesar das plantas controlo terem feito uma melhor gestão da água com valores mais elevados de eficiência do uso da água e conteúdo relativo de água, as plantas regadas com AR da ETAR apresentaram maior *A* quando as medições foram realizadas sob maior intensidade luminosa no exterior, podendo este resultado estar associado à maior espessura total da lâmina foliar das plantas deste tratamento.

Concluiu-se assim que as descargas da AR tratada no rio Tâmega parecem não ter influência negativa sobre as duas espécies ribeirinhas estudadas e a sua reutilização na rega dos espaços verdes no município poderá ser uma opção viável. Contudo, esta prática deverá ser acompanhada de um plano de monitorização da qualidade do solo e das plantas.

Palavras-Chave: Água residual, fitotoxicidade, rega, vegetação ribeirinha, vegetação ornamental, ecofisiologia.

Abstract

The main objective of this dissertation was to evaluate the effect of the actual wastewater treatment system of Mondim de Basto on the Tâmega's riverside flora and also the possible reuse of treated wastewater in the irrigation of the green spaces tear the Wastewater Treatment Plant (WWTP), through laboratory and field trials.

At the beginning of the study, the physical-chemical characterization of the effluent treated at the WWTP was carried out at different collection dates. This characterization allowed to define the dilution factors of the effluent to germination tests for phytotoxicity assessment in seeds of *Cucumis sativum*, *Lepidium sativum*, a mixture of grass and *Sinapis alba*. These tests allowed to verify that the inhibition of the germination rate was very reduced or even none in the case of *C. sativum*.

Afterwards, ecophysiological studies were carried out in potted plants of two riverside species, the common ash (*Fraxinus angustifolia*) and the black oak (*Quercus pyrenaica*) and an ornamental species, the common-petunia (*Petunia×atkinsiana*) irrigated with potable water and effluent from the WWTP without dilution since the values of physicochemical parameters were practically all below the legally recommended values.

Regarding the riparian vegetation, *Q. pyrenaica* generally showed a better performance in the growth analysis, associated with the fact that plants of this species present greater initial leaf area. Regarding the photosynthetic pigments, total phenols concentrations and electrolyte leakage, the species *F. angustifolia* presented higher values. This species also presented better water status and showed better performance in leaf gas exchange study, with high values of stomatal conductance and carbon net assimilation rate (*A*).

Concerning the differences between the treatments, it was verified that the irrigation with treated wastewater of the WWTP influenced positively the growth of the plants. However, there were no differences in the concentration of photosynthetic pigments, total phenols, water status and leaf structure parameters. Instead, this treatment induced greater electrolyte leakage in the plants comparatively with control plants, which leads us to conclude that this treatment affected membrane integrity. In any case, there were no significant effects of treatment on leaf gas exchange except the ratio of intercellular to atmospheric CO_2 concentration.

Regarding the ornamental species *P.×atkinsiana*, there were differences in water status and gas exchange. The other studies did not reveal differences among treatments. Although the control plants had better water management with higher values of water use efficiency and

relative water content, the plants irrigated with wastewater treated at the WWTP had a higher *A* when the measurements were performed under greater light intensity outdoors. This result may be associated to the fact that the leaves of the plants of this treatment have a greater leaf thickness.

It was concluded that the treated wastewater discharges on the Tâmega river do not seem to have a negative impact on the two studied riparian species and its reuse in the irrigation of green spaces in the municipality may be a viable option. However, this practice should be accompanied by a monitoring plan for soil and plant quality.

Keywords: Treated wastewater, phytotoxicity, irrigation, riparian vegetation, ornamental vegetation, ecophysiology.

Índice Geral

Agradecimentos xi

Resumo xiii

Abstract xv

Índice de Figuras xxi

Índice de Tabelas xxiii

Lista de Abreviaturas xxvii

1. Introdução 1

1.1. Qualidade da Água e Vegetação Ripícola 1

1.2. Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) 3

1.2.1. Caracterização das Águas Residuais (AR) 3

1.2.2. Sistemas de Tratamento de AR 3

1.3. Reutilização de AR Tratadas 9

1.3.1. Importância da Reutilização 9

1.3.2. Reutilização na Rega de Espaços Verdes 12

1.4. Vegetação 14

1.4.1. Vegetação Ripícola 14

1.4.2. Vegetação Ornamental 15

2. Objetivos do Estudo 17

3. Material e Métodos 19

3.1. Caracterização do Local em Estudo 19

3.1.1. Enquadramento Geográfico 19

3.1.2. Caracterização da ETAR 21

3.1.3. Caracterização da Vegetação 23

3.2. Caracterização Físico-Química do Efluente da ETAR 29

3.2.1. Componente inorgânica 29

3.2.2. Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO_5) 30

3.2.3. Condutividade 30
3.2.4. Carência Química de Oxigénio (CQO) 30
3.2.5. pH 31
3.2.6. Sólidos Suspensos Totais (SST) 31
3.3. Testes de Germinação 32
3.4. Ensaios em Vasos 36
3.5. Parâmetros Ecofisiológicos 38
3.5.1. Análise de Crescimento 39
3.5.2. Análises Bioquímicas 40
3.5.2.1. Pigmentos Fotossintéticos 40
3.5.2.2. Fenóis Totais 42
3.5.3. Perda de Eletrólitos 42
3.5.4. Estado Hídrico e Parâmetros Estruturais Foliares 43
3.5.5. Trocas Gasosas 44
3.5.1. Anatomia Foliar 45
3.6. Análise Estatística 46
4. Resultados e Discussão 47
4.1. Parâmetros Físico-Químicos 47
4.2. Testes de Germinação 48
4.3. Parâmetros Ecofisiológicos - Ensaio com Freixos e Carvalhos 52
4.3.1. Análise de Crescimento 52
4.3.2. Análises Bioquímicas 55
4.3.3. Perda de Eletrólitos 58
4.3.4. Estado Hídrico e Parâmetros Estruturais Foliares 59
4.3.5. Trocas Gasosas 61
4.4. Parâmetros Ecofisiológicos - Ensaio com Petúnias 63
4.4.1. Análise de Crescimento 63

4.4.2. Análises Bioquímicas 63
4.4.3. Perda de Eletrólitos 63
4.4.4. Estado Hídrico e Parâmetros Estruturais Foliares 65
4.4.5. Trocas Gasosas 65
4.4.6. Anatomia foliar 68
5. Conclusões 71
6. Propostas de Futuro Trabalho 75
7. Bibliografia 77
8. Anexos 87

Índice de Figuras

Figura 1 - Esquema de tratamento da Água Residual 4

Figura 2 - Mapa de Portugal e do concelho de Mondim de Basto. 20

Figura 3 - ETAR de Mondim de Basto. 22

Figura 4 - A) Desarenador e tamisador; B) Leito percolador; C) Decantador secundário; D) Canal Parshall à saída (local de recolha do efluente). 23

Figura 5 - Galeria ripícola do município de Mondim de Basto 24

Figura 6 - A) *Fraxinus angustifolia* e B) *Quercus pyrenaica.* 25

Figura 7 - Espaço verde urbano no município de Mondim de Basto onde é destacada a presença de petúnias em plena floração. 28

Figura 8 - Pormenor de *Petunia×atkinsiana* florida. 29

Figura 9 - Sementes no início do teste de germinação. 34

Figura 10 - *Fraxinus angustifolia* e *Quercus pyrenaica* no local onde decorreu a experiência. 37

Figura 11 - *Petunia×atkinsiana* no início da experiência, após transplantação. 38

Figura 12 - Análise da condutividade elétrica no condutivímetro. 43

Figura 13 - Medição de trocas gasosas em *Petunia×atkinsiana*. 45

Figura 14 - Resultados dos ensaios de germinação e desenvolvimento das sementes após 15 dias da aplicação de concentrações crescentes de efluente. 49

Figura 15 - Perda de eletrólitos de *Q. pyrenaica* e *F. angustifolia* entre tratamentos (AR ETAR e controlo). 58

Figura 16 - Cortes transversais das folhas na região da lâmina dos dois tratamentos em estudo. A) ETAR e B) Controlo (Escala=500 μm). 68

Figura A.1 - Representação gráfica da reta de calibração usada para determinar o valor da CQO……..87

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Origens da poluição e parâmetros de degradação da qualidade da água. 2

Tabela 2 - Áreas de aplicação da água residual reutilizada e seus respetivos usos. ..... .10

Tabela 3 - Exemplos no mundo de reutilização de AR tratada 12

Tabela 4 - Vantagens, desvantagens e riscos associados à aplicação de AR tratadas em rega. 13

Tabela 5 - Concelhos abrangidos pela sub-bacia do rio Tâmega. 20

Tabela 6 - Tipo de tratamentos e equipamentos/métodos usados na ETAR. 22

Tabela 7 - Preparação da diluição da solução final. 34

Tabela 8 - Nº de sementes de cada espécie e respetivo volume total de cada diluição ao longo do estudo. 35

Tabela 9 - Qualificação dos níveis de fitotoxicidade. 36

Tabela 10 - Características químicas do efluente tratado da ETAR de Mondim de Basto. 47

Tabela 11 - Percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG), percentagem relativa média de germinação (RSG) e percentagem do índice de germinação (GI) de *Cucumis sativum*.. 50

Tabela 12 - Percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG), percentagem relativa média de germinação (RSG) e percentagem do índice de germinação (GI) de *Lepidium sativum*.. 50

Tabela 13 - Percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG), percentagem relativa média de germinação (RSG) e percentagem do índice de germinação (GI) de mistura de relva.. 51

Tabela 14 - Percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG), percentagem relativa média de germinação (RSG) e percentagem do índice de germinação (GI) de *Sinapis alba*. . 51

Tabela 15 - Resultados da análise quantitativa de crescimento (taxa média de assimilação - NAR, razão de área foliar - LAR, área foliar específica - SLA, razão do peso foliar - LWR, taxa de crescimento relativo - RGR, razão entre o peso seco da raiz e o peso seco da parte aérea - R:S e área foliar total por planta) de *F. angustifolia* e *Q. pyrenaica.*. 54

Tabela 16 - Teor de pigmentos fotossintéticos (clorofila a - Cl_a, clorofila b - Cl_b, clorofila total - $Cl_{(a+b)}$, razão clorofila a /clorofila b - Cl_a/Cl_b, carotenoides - Car, razão entre clorofila total e carotenoides - $Cl_{(a+b)}$/Car) e fenóis totais de *F. angustifolia* e de *Q. pyrenaica*..... ...57

Tabela 17 - Análise do estado hídrico e parâmetros estruturais foliares (conteúdo relativo em água - RWC, conteúdo de água em folhas saturadas - WCS, densidade do tecido foliar - D, défice de saturação de água - DSA e grau de suculência - S) de *F. angustifolia* e de *Q. pyrenaica*. 60

Tabela 18 - Análise das trocas gasosas (taxa fotossintética - A, condutância estomática - g_s, eficiência intrínseca do uso da água - A/g_s, taxa de transpiração - E e razão da concentração do CO_2 intercelular e atmosférico - C_i/C_a) de *F. angustifolia* e de *Q. pyrenaica*. 62

Tabela 19 - Resultados da análise quantitativa de crescimento (taxa média de assimilação - NAR, razão de área foliar - LAR, área foliar específica - SLA, razão do peso foliar - LWR, taxa de crescimento relativo - RGR e razão entre o peso seco da raiz e o peso seco da parte aérea - R:S) de *P.×atkinsiana.* 64

Tabela 20 - Teor de pigmentos fotossintéticos (clorofila a - Cl_a, clorofila b - Cl_b, clorofila total - $Cl_{(a+b)}$, razão clorofila a /clorofila b - Cl_a/Cl_b, carotenoides - Car, razão entre clorofila total e carotenoides - $Cl_{(a+b)}$/Car) e fenóis totais de *P.×atkinsiana*.. 64

Tabela 21 - Análise do estado hídrico e parâmetros estruturais foliares (conteúdo relativo em água - RWC, conteúdo de água em folhas saturadas - WCS, densidade do tecido foliar - D, défice de saturação de água - DSA e grau de suculência - S) de *P.×atkinsiana*..... 65

Tabela 22 - Análise das trocas gasosas (taxa fotossintética - A, condutância estomática - g_s, eficiência intrínseca do uso da água - A/g_s, taxa de transpiração - E e razão da concentração do CO_2 intercelular e atmosférico - C_i/C_a) de *P.×atkinsiana* (20 de julho)..... 67

Tabela 23 - Análise das trocas gasosas (taxa fotossintética - *A*, condutância estomática - g_s, eficiência intrínseca do uso da água - A/g_s, taxa de transpiração - *E* e razão da concentração do CO_2 intercelular e atmosférico - C_i/C_a) de *P.*×*atkinsiana* (21 de julho)..... 67

Tabela 24 - Anatomia foliar (espessura da lâmina; tecido vascular - altura e largura; altura da nervura central) das petúnias..... 69

Lista de Abreviaturas

A - Taxa fotossintética

Abs - Absorvância

AF - Área foliar

$\overline{AF}$ - Área foliar média

A/gs - Eficiência intrínseca do uso da água

AR - Água(s) residual(ais)

Car - Carotenoides

CBO - Carência Bioquímica de Oxigénio

CBO_5 - Carência Bioquímica de Oxigénio ao fim de 5 dias

CE - Condutividade elétrica

C_i/C_a - Razão entre a concentração de CO_2 intercelular e atmosférico

Cl_a - Clorofila *a*

Cl_b - Clorofila *b*

$Cl_{(a+b)}$ - Clorofila total

CQO - Carência Química de Oxigénio

D - Densidade

DAS - Défice de saturação de água

E - Taxa de transpiração

ETAR - Estação de tratamento de águas residuais

GI - Índice de germinação

g_s - Condutância estomática

L_R - Comprimento das raízes

LAR - Razão de área foliar

LWR - Razão do peso seco foliar

MO - Matéria orgânica

N_{SG} - Número de sementes germinadas

NAR - Taxa média de assimilação

P - Peso seco do disco

Pf - Peso fresco

PNAL - Parque Natural do Alvão

PNUEA - Programa Nacional para o Uso Eficiente da Água

POPNAL - Plano de Ordenamento do Parque Natural do Alvão

PROF - Plano Regional de Ordenamento Florestal

Ps - Peso seco

Pt - Peso turgido

RGR - Taxa de crescimento relativo

RRG - Comprimento relativo das raízes

RSG - Germinação relativa de sementes

RWC - Conteúdo relativo de água

S - Suculência

SLA - Área foliar específica

SST - Sólidos suspensos totais

t - Número de dias do período experimental

V - Volume da amostra

VLE - Valor limite de emissão

VMA - Valor máximo admissível

VMR - Valor máximo recomendado

Vol - Volume final do extrato acetónico

WCS - Conteúdo de água em folhas saturadas

W_f - Peso seco das folhas

W_t - Peso seco total da planta

1. Introdução

1.1. Qualidade da Água e Vegetação Ripícola

A água é uma das substâncias mais importantes na Terra. Todas as plantas e animais necessitam de água para sobreviver. Se não houvesse água, não haveria vida na Terra. Ela cobre cerca de 71% da superfície do planeta e é fundamental para todas as formas de vida conhecidas; mas apenas 2,5% da água da Terra é água doce (Rajasulochana e Preethy, 2016).

Para a Humanidade a água apresenta um duplo significado: o primeiro como fator ambiental e gerador do sistema ecológico e, o segundo, como matéria-prima para diferentes usos, como água potável, água industrial, agricultura, pesca, recreação, etc. (Morar *et al*., 2016). No entanto, é um recurso frágil, finito e vulnerável, sendo cada vez mais evidente a sua importância enquanto componente do ecossistema global (Oliveira, 2011).

As atividades diárias do ser humano contribuem para a poluição das massas de água com uma variedade considerável de elementos tóxicos. O contraste entre os interesses económicos e sociais, e a necessidade de manter os ecossistemas como recurso natural inegavelmente valioso é, muitas vezes, evidente (Carapeto, 1999). Deste modo, torna-se evidente a importância da aplicação das melhores técnicas/tecnologias disponíveis para um melhor controlo do efluente drenado e, consequentemente, minimizar o impacto desse no meio recetor. Um dos critérios aplicados para a classificação da poluição hídrica são o tipo e origem de efluente. Na tabela 1 apresentam-se as principais origens de poluição e os respetivos parâmetros de degradação da qualidade da água.

Tabela 1 - Origens da poluição e parâmetros de degradação da qualidade da água (adaptado de Mendes e Oliveira, 2004).

Tipo e origem do efluente	Parâmetros com impacto na qualidade da água
Efluentes domésticos	Carência bioquímica de oxigénio (CBO), sólidos em suspensão, azoto amoniacal, nitratos, fosfatos, microrganismos
Efluentes agrícolas	Nitratos, fosfatos, CBO
Efluentes de processamento de produção de animais	CBO, sólidos em suspensão, gorduras, azoto amoniacal
Efluentes de pedreiras	Sólidos em suspensão, óleos
Efluentes de processamento de produção de vegetais	Sólidos em suspensão, cor, CBO
Efluentes de indústrias químicas de síntese	CBO, CQO, amoníaco, produção de orgânicos não biodegradáveis, fenóis
Efluentes de mineralização de carvão	Ferro, pH, metais em solução, sólidos em suspensão
Efluentes de refinarias	Fenóis, hidrocarbonetos, sulfuretos, azoto amoniacal

Um curso de água constitui um ecossistema ribeirinho riquíssimo, com capacidade de suporte de populações vegetais e animais, com dinamismo e complexidade próprias.

Na análise de um curso de água é importante não minimizar a função das margens as quais constituem zonas de transição entre a área permanentemente submersa – o leito de estiagem – e aquela que durante a maior parte do ano permanece fora de água. Estas zonas funcionam como filtros específicos, *habitats* para determinadas espécies, induzindo efeitos ambientais e biológicos positivos sobre os terrenos envolventes. Para além das funções globais comuns que desempenham, as margens apresentam um papel primordial no controle do escoamento hídrico, dos sedimentos, interceção de nutrientes, redução dos processos erosivos, aumento da biodiversidade e valorização estética da paisagem.

As margens, pelo seu carácter de interface, apresentam múltiplas funções, devendo ser objeto de especial atenção sempre que se intervenha numa linha de água (Amorim, 2004).

1.2. Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR)

1.2.1. Caracterização das Águas Residuais (AR)

As ETAR podem receber Águas Residuais (AR) com diferentes composições, o que implica a adoção de diferentes tipos de operações e processos de tratamento adequados em função do tipo de AR a tratar (Simões *et al.*, 2008).

De acordo com as definições presentes no Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de agosto, as AR podem ser classificadas como:

- Domésticas - águas residuais de instalações residenciais e serviços, essencialmente provenientes do metabolismo humano e de atividades domésticas;
- Industriais - todas as águas residuais provenientes de qualquer tipo de atividade que não possam ser classificadas como águas residuais domésticas nem sejam águas pluviais;
- Urbanas - águas residuais domésticas ou a mistura destas com águas residuais industriais ou com águas pluviais.

A principal razão para o tratamento de AR é contornar o efeito da poluição e proteger a saúde pública através da salvaguarda das origens de água contra a propagação de doenças (Rajasulochana e Preethy, 2016).

A caraterização das AR a tratar é essencial para o adequado dimensionamento da ETAR e respetivo funcionamento. Os dois parâmetros mais importantes na caraterização de AR afluentes à ETAR, e essenciais para o dimensionamento, são o caudal e a quantidade de carga poluente (Simões *et al*., 2008).

1.2.2. Sistemas de Tratamento de AR

O tratamento de AR é constituído, essencialmente por duas fases distintas:

- Fase líquida - cujo objetivo é o tratamento da AR de forma a cumprir as condições exigidas na licença de descarga, para posteriormente rejeição no meio recetor.
- Fase sólida - constitui o tratamento adequado aos sólidos removidos da AR na fase líquida.

A figura 1 representa as etapas de tratamento de uma AR com os métodos mais comuns.

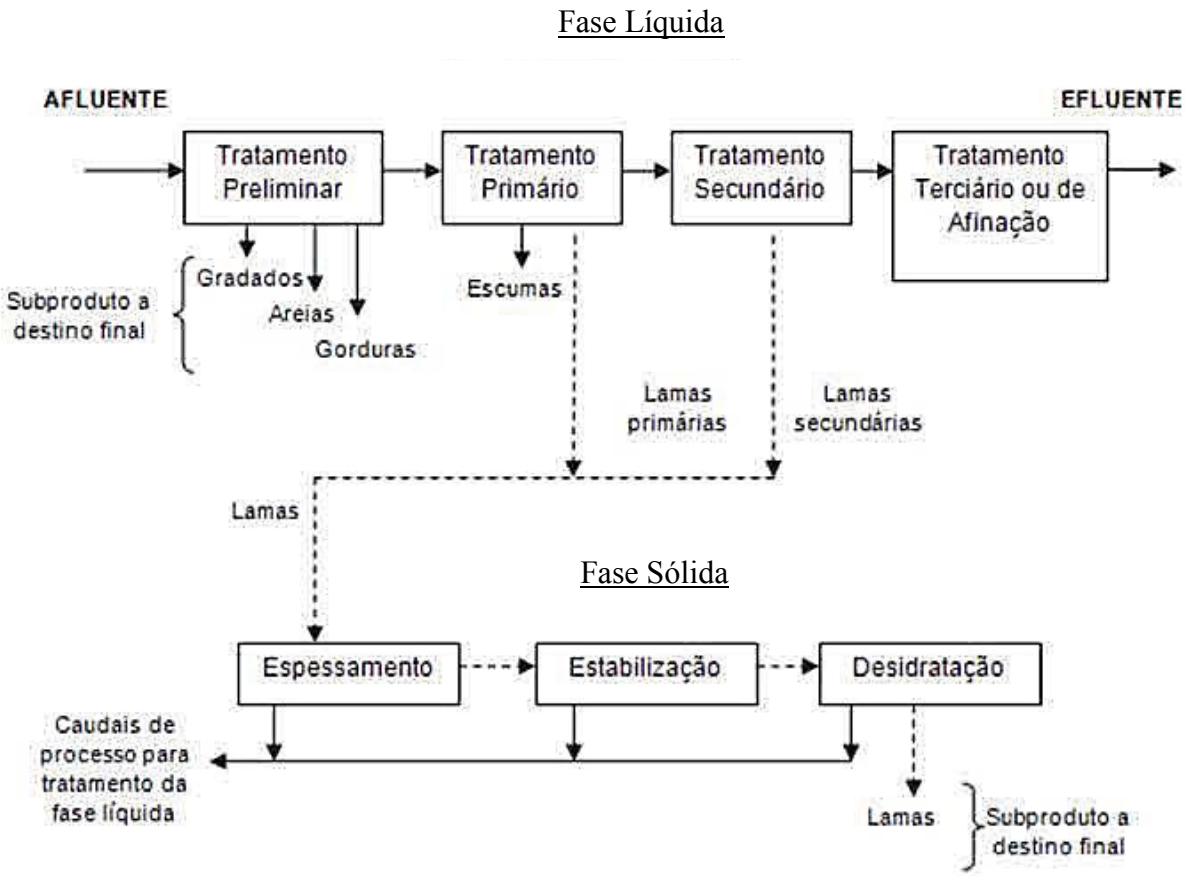

Figura 1 - Esquema de tratamento da Água Residual (Adaptado de Cunha, 2014)

Fase Líquida

Tratamento Preliminar

Nesta primeira etapa estão geralmente incluídas as operações de gradagem e tamisação, desarenamento (remoção de areias) e desengorduramento (remoção de óleos e gorduras).

O objetivo desta etapa é remover da água residual, por exemplo, materiais grosseiros, areias e gorduras, que podem danificar os órgãos e tratamentos que se encontram a jusante, como também, evitar obstruções dos circuitos hidráulicos e contaminações das águas e lamas. Ainda se evitam problemas de fermentações indesejáveis a nível do processo biológico com a remoção dos óleos e gorduras, resultando numa maior eficiência. Os processos e órgãos utilizados nesta fase são, entre outros (Cunha, 2014):

Gradagem - permite remover os sólidos de maiores dimensões (ex. papéis, paus, folhas, etc.), sendo utilizado um sistema de grelhas, instalado num ou mais canais por onde circula a água residual. Os sólidos grosseiros ("gradados") são temporariamente armazenados em contentores e posteriormente encaminhados a destino final adequado.

Tamisação - é um complemento ao sistema anterior, porque utiliza-se uma malha mais fina, que retém os sólidos de menores dimensões, apresentando desta forma, uma maior eficiência de remoção.

Desarenação - corresponde a um tanque onde o efluente passa a uma velocidade reduzida permitindo que as areias assentem por gravidade, sendo removidas e encaminhadas para um classificador de areias. Para além da remoção das areias pode ocorrer a remoção de óleos e gorduras no mesmo órgão (desarenadores/desengorduradores).

Remoção de Óleos e Gorduras - as partículas sólidas numa suspensão líquida ligam-se a minúsculas bolhas de gás (geralmente ar) dando assim a este complexo gás-sólido flutuável. Este aglomerado ascende à superfície e liga-se a outras partículas podendo assim ser removido de forma mecânica. Após a sua remoção, os óleos e gorduras são geralmente encaminhados para um concentrador de gorduras e, posteriormente, encaminhadas a destino final adequado.

Tratamento Primário

O objetivo do tratamento primário é remover os sólidos facilmente sedimentáveis e a matéria flutuante e assim reduzir o conteúdo em sólidos suspensos. Convencionalmente o tratamento primário é eficiente na remoção de partículas superiores 50 μm. Nesta etapa, são removidos da água residual cerca de 50 a 70% de SST e 25 a 40% de CBO_5. Podem ainda ser removidos nutrientes, constituintes hidrofóbicos, metais e microrganismos. Cerca de 10 a 20% do azoto orgânico e cerca de 10% de fósforo são removidos num tratamento primário convencional. A incorporação de um processo de coagulação/floculação a montante da sedimentação gravítica e/ou utilização de filtração após sedimentação pode aumentar a eficiência de remoção do tratamento primário.

Para várias aplicações de reutilização, o tratamento primário fornece o tratamento necessário para se tingir os valores de qualidade pretendidos (Pereira, 2009).

O tratamento primário é efetuado genericamente através de sedimentação/decantação, ou flotação (Simões *et al*., 2008).

Decantação - tem como objetivo principal retirar os sólidos em suspensão decantáveis (por ação da gravidade). Esta operação é realizada num decantador onde a água permanece o tempo suficiente para permitir que as partículas suspensas sedimentem no fundo, sendo também removidas as escumas que se acumulam à superfície dos decantadores. Existem sistemas de decantação lamelar e decantação assistida através de coagulação e floculação, com a adição de reagentes químicos, de forma a aumentar a sua eficiência, permitindo a redução da área de ocupação dos decantadores. Este tipo de órgãos pode ser de planta circular, quadrada ou retangular, e enterrados ou semienterrados. A água clarificada passa para o tratamento secundário, enquanto as lamas primárias são recolhidas para posterior tratamento na fase sólida e as escumas são encaminhadas para o concentrador de gorduras do tratamento preliminar.

Flotação - é uma operação destinada a remover sólidos de dimensões tão reduzidas que não é viável a sua separação por ação da gravidade. Consiste na injeção de um fluxo de ar ascendente no interior do tanque, sendo arrastados os sólidos, juntamente com as bolhas de ar, para a superfície, onde são recolhidos e encaminhados para tratamento na fase sólida.

Tratamento Secundário

O tratamento secundário é constituído essencialmente por processos biológicos e visa retirar a matéria orgânica (MO) biodegradável existente no efluente, na forma coloidal, dissolvida ou suspensa, que não foi retirada através de tratamento primário. O tratamento secundário pode ser dimensionado igualmente para remover nutrientes como fósforo e azoto. A água residual é colocada em contacto com um meio "rico" em microrganismos que vão metabolizar essa matéria orgânica, retirando-a da fase líquida e incorporando-a na sua biomassa. Os processos biológicos podem ser aeróbios (na presença de oxigénio), anaeróbios (sem oxigénio), anóxicos (sem oxigénio dissolvido e na presença de nitritos e/ou nitratos) e processos mistos. Esta é a fase de tratamento para a qual existe a maior variedade de sistemas, podendo ser de biomassa fixa, suspensa, híbridos e sistemas combinados.

Nos sistemas de tratamento biológico por biomassa suspensa os microrganismos responsáveis pela metabolização da matéria orgânica encontram-se em suspensão na água residual (Simões *et al*., 2008). Estes sistemas podem ser:

Lamas Ativadas - O sistema de tratamento por lamas ativadas consiste num processo biológico de biomassa suspensa que tem por objetivo transformar matéria solúvel em matéria decantável.

O efluente proveniente do tratamento primário é encaminhado para um tanque de arejamento (com a adição de ar ou oxigénio), onde é fornecido o oxigénio necessário para que os microrganismos metabolizem a matéria orgânica. De seguida, estes são removidos num decantador secundário, onde ocorre a separação da fase líquida (efluente tratado) e da fase sólida (lamas secundárias). A concentração ideal de microrganismos no tanque de arejamento é garantida através da recirculação das lamas recolhidas no fundo do decantador secundário.

Num sistema de lamas ativadas convencionais há uma produção de lamas em excesso que são removidas e encaminhadas para a fase sólida. Nos sistemas de lamas ativadas com arejamento prolongado, a quantidade de lamas produzidas é menor.

O sistema mais utilizado em Portugal, em ETAR de grandes dimensões, é o sistema de biomassa suspensa, por lamas ativadas, que pode apresentar várias configurações, como tanques de arejamento convencionais, valas de oxidação e *Sequencing Batch Reactor* (*SBR*).

Lagoas - No tratamento por lagunagem, a água residual atravessa um conjunto de lagoas onde ocorrem processos idênticos aos que ocorreriam em meio natural. O efluente é encaminhado graviticamente e em contínuo para lagoas com diferentes profundidades e dimensões, onde ocorrem processos de degradação através de microrganismos e microalgas.

Existem lagoas anaeróbias, que se destinam ao pré-tratamento de efluentes com elevada carga orgânica, lagoas facultativas, para efluentes de carga orgânica intermédia e para a afinação de efluentes de outras lagoas, e lagoas de maturação, onde ocorre a remoção de microrganismos patogénicos e de nutrientes. Podem também existir lagoas arejadas, onde é fornecido oxigénio através de arejadores mecânicos, de forma a aumentar a eficiência do tratamento.

Nos sistemas de biomassa fixa, os microrganismos crescem num substrato inerte fixo, que pode ser de pedras, areia ou plástico, criando um bio-filme por onde a água residual passa,

permitindo aos microrganismos a degradação da matéria orgânica da água residual. Os sistemas mais utilizados são:

Leitos Percoladores - Estes sistemas são compostos por tanques circulares onde é colocado um material de enchimento que serve de meio de suporte à biomassa. O meio de enchimento pode ser constituído por pedras ou material sintético granulado. O efluente é injetado pela parte superior do leito e, à medida que passa através do enchimento, os microrganismos captam os nutrientes e decompõem a matéria orgânica. O efluente escoado e recolhido na zona inferior do leito, pode ser recirculado. Para assegurar as necessidades de oxigénio e o crescimento dos microrganismos, é promovida a circulação do ar. À medida que a espessura da camada de bio-filme vai aumentado, as camadas inferiores entram em anaerobiose, possibilitando a desnitrificação do efluente.

O efluente tratado que sai do leito percolador é encaminhado para um decantador secundário, de forma a assegurar a separação dos fragmentos de bio-filme, que se descolaram da superfície das partículas de enchimento.

Discos Biológicos - Os discos biológicos consistem num conjunto de discos circulares, dispostos paralelamente e unidos por um eixo horizontal. Esta configuração permite um grande aumento da área de contacto. Devido à rugosidade da superfície dos discos, os microrganismos aderem, constituindo um bio-filme. Os discos giram em torno do eixo e mergulham parcialmente num canal com o efluente a tratar, o que garante que os microrganismos estão alternadamente em contacto com o ar e com a matéria orgânica.

De um modo geral, estas unidades de discos biológicos são cobertas, para evitar a incidência de radiação solar e o desenvolvimento de algas, e as perdas de calor.

Biofiltros - Os biofiltros são tanques com enchimento de pequenas esferas (meio filtrante) mantidas em contacto com o efluente e arejadas com ar introduzido através de uma rede distribuidora existente na secção inferior. A água residual a tratar circula por gravidade e o ar atravessa o meio filtrante com um movimento ascendente (ar e água em contra-corrente). Assim, a eliminação de carbono solúvel e a filtração de sólidos em suspensão, bem como a retenção simultânea de fósforo, são possíveis graças à flora bacteriana existente no material filtrante.

Tratamento Terciário

O tratamento terciário não é efetuado em todas as ETAR, uma vez que depende das características do efluente de saída do tratamento secundário e da sua aplicação final. Nesta etapa o efluente, dependendo do que se pretende remover, é submetido a processos e operações unitárias como, por exemplo, a desinfeção por meio de radiação ultravioleta e nalguns casos também sistemas de ozonização. A utilização deste tratamento possibilita o aumento da qualidade do efluente final. Posteriormente realiza-se a descarga do efluente tratado para o curso de água (Vaz, 2016).

Fase Sólida

Do processo de tratamento das AR anteriormente descrito resultam os sólidos que foram removidos ao longo das diferentes etapas, nomeadamente, tratamento primário e tratamento secundário. O primeiro tratamento a que as lamas são submetidas é o espessamento que tem como principal objetivo reduzir o volume de lamas afluentes aos órgãos subsequentes (Vaz, 2016).

Os principais processos existentes de espessamento de lamas são o espessamento gravítico, o espessamento por flotação com ar difuso e o espessamento mecânico, recorrendo a equipamentos eletromecânicos como mesas de espessamento, crivos e tambores rotativos e centrífugas. A água removida às lamas é encaminhada para o início do tratamento preliminar (Simões *et al*., 2008).

1.3. Reutilização de AR Tratadas

1.3.1. Importância da Reutilização

A reutilização da água, através do reaproveitamento de AR tratadas, provém da necessidade de dar resposta à escassez de água a nível mundial. Este foi um dos maiores desafios do século XX e que se prolonga pelo século XXI. Os efluentes têm vindo a ser considerados como um novo recurso hídrico que pode ser utilizado em atividades que exigem um menor padrão de qualidade, deixando assim maiores disponibilidades de água doce para fins que necessitam de maior qualidade, como é o caso do abastecimento de água para consumo humano.

As AR tratadas podem ser reutilizadas e aplicadas em áreas agrícolas, espaços verdes, indústria, recarga de aquíferos, utilizações recreativas e ambientais e utilizações urbanas não-potáveis (Cordeiro, 2012). A tabela 2 apresenta as diversas áreas de aplicação da AR tratada e alguns dos seus respetivos usos.

Tabela 2 - Áreas de aplicação da água residual reutilizada e seus respetivos usos (adaptado de Marecos do Monte e Albuquerque, 2010).

Áreas de Aplicação	Usos
Rega Agrícola	Viveiros de árvores e plantas
	Culturas alimentares, forragens, cereais e fibras
	Silvicultura
Rega Paisagística	Campos de golfe
	Faixas separadoras e margens de auto-estradas
	Parques públicos
	Campus escolares
	Cemitérios
	Jardins residenciais
Indústria	Água de arrefecimento
	Lavagem de equipamentos
	Construção pesada
	Água de processo
Recarga de aquíferos	Reforço dos aquíferos
	Controlo da salinidade
	Armazenamento
Usos recreativos e ambientais	Lagos e lagoas artificiais
	Reforço do caudal de cursos de água
	Reforço de zonas húmidas
Usos urbanos não potáveis	Descarga de autoclismos
	Lavagem de veículos
	Lavagem de ruas
	Lavagem de contentores de RSU
	Combate contra incêndios

A utilização de AR não contribui apenas para suprir a necessidade de água, também contribui para o aumento da fertilidade do solo e da sua correção orgânica e contribui como um tratamento adicional para água percolada, já que o solo é utilizado como filtro, retendo, absorvendo e decompondo produtos indesejáveis (Tavares, 2006).

A reutilização de AR não tratadas é uma prática tradicional nos países mais desenvolvidos do continente africano e asiático. No entanto, a reutilização de AR tratadas já é realizada nas regiões mais áridas de países desenvolvidos como a Austrália, Médio Oriente e sudoeste dos Estados Unidos da América (Serrão de Sousa, 2009). Na tabela 3 são apresentados alguns exemplos de países onde reutilizam as AR tratadas para rega.

A Norma Portuguesa NP 4434:2005 estabelece os requisitos de qualidade das AR urbanas tratadas a utilizar na rega e define critérios de escolha dos equipamentos e processos de rega, assim como a sua execução. Define ainda os procedimentos a adotar na proteção e monitorização ambiental nas zonas regadas com AR (Santos, 2008).

Em Portugal existem vários estudos que abordam a reutilização de AR tratadas. O foco do interesse da reutilização da água para rega paisagística em Portugal centra-se atualmente na rega de campos de golfe, com particular destaque nas regiões do Algarve e do Oeste (Gomes, 2011).

Em 2010, existiam 34 campos de golfe na região do Algarve, sendo que 8 destes já tinham implementado o sistema de reutilização de AR tratadas para rega (Cardoso, 2014). A ETAR do Ave é também um dos exemplos onde é reutilizada a AR tratada para rega e lavagens diversas (Gomes, 2011).

Tabela 3 - Exemplos no mundo de reutilização de AR tratada (Marecos do Monte e Albuquerque, 2010)

Exemplo	Aplicação
Monterey, Califórnia, EUA	1.500 m^3/d aplicados na rega de hortícolas, num projeto de Investigação e Desenvolvimento (I&D) de 10 anos.
Cidade do México, México	45 a 300 m^3/s de AR são reutilizados na rega de 35.000 ha de culturas agrícolas.
Clermont-Ferrand, França	500.000 m^3/d de efluente secundário afinado em lagoas de maturação e por desinfeção são reutilizados na rega de 750 ha de milho.
Emilia Romagna, Itália	1.250 m^3/d de efluente do tratamento das AR de Castiglione, Cesena, Casenatico, Cervia e Gatteo são reutilizadas na rega de 400 ha de área agrícola.
Vitoria, País Basco, Espanha	35.000 m^3/d de AR tratadas são reutilizadas para na agricultura.
Drarga, Marrocos	As AR de uma população de 10.000 habitantes são tratadas em lagoas de estabilização e reutilizadas para rega na agricultura.
Região Dan e Projecto Kishon, Israel	O volume de águas residuais reutilizadas representa 20% da água utilizada para rega na agricultura.
Kuwait	10% das AR tratadas (tratamento terciário) são reutilizadas na rega agrícola e paisagística. 25% da área agrícola é regada com água reutilizada.
Taiyuan, China	500.000 m^3/d de efluente secundário proveniente de 7 ETAR são reutilizados após recarga do aquífero nas lagoas do Rio Fen.
Virginia, Austrália	120.000 m^3/d de efluente armazenado no solo distribuídos a 250 agricultores para rega na agricultura.

1.3.2. Reutilização na Rega de Espaços Verdes

Segundo Cordeiro (2012), o Programa Nacional para o Uso Eficiente da Água (PNUEA) defende a necessidade de se reutilizar a água residual tratada, nomeadamente na rega de campos desportivos, campos de golfe e outros espaços verdes de recreio.

A utilização de AR, convenientemente tratadas, na rega de espaços verdes é uma vantagem competitiva a nível técnico-económico, além de ser uma opção ambientalmente recomendável. Contudo, esta atividade tem como condicionantes a saúde pública, o controlo da desinfeção, a aceitação pública e as ligações cruzadas com a rede de água potável.

Tendo em vista os benefícios da rega de espécies vegetais com AR tratada, torna-se prioritária a sua gestão eficaz, avaliando as suas características e levando em consideração o tipo de solo e a espécie a ser regada. Neste contexto, o uso de efluentes tratados na rega de plantas ornamentais possui grande potencial como alternativa viável ambiental e económica (Santos *et al*., 2012).

Na tabela 4 são apresentadas vantagens, desvantagens e riscos associados à utilização de AR tratadas em rega.

Tabela 4 - Vantagens, desvantagens e riscos associados à aplicação de AR tratadas em rega (adaptado de Cordeiro, 2012).

Vantagens	**Desvantagens**	**Riscos**
- Redução de custos na eliminação de AR; - Conservação dos recursos hídricos; - Aproveitamento dos nutrientes presentes nas águas residuais (ex: azoto e fósforo); - Redução na procura do abastecimento com água potável.	- Necessidade de conservação de AR, pois a sua "produção" é um processo contínuo ao longo do ano, enquanto que a rega é um processo limitado pela fase de crescimento da planta e pela época do ano; - Alguns elementos presentes nas AR, em concentrações elevadas, podem ser tóxicos para as plantas ou conduzir a danos ambientais.	- Risco de contaminação das águas subterrâneas; - Risco de contaminação do solo, principalmente pela acumulação de metais pesados; - Risco para a saúde pública, através do contacto direto com as plantas e água de rega.

1.4. Vegetação

1.4.1. Vegetação Ripícola

A vegetação ribeirinha, ou ripícola, contribui de forma marcante para a estabilidade morfológica e ecológica dos cursos de água (Amorim, 2004).

A vegetação ripícola é parte integrante do ecossistema fluvial e desempenha um papel muito importante que define o tipo de rio e sua conservação, sendo considerada uma estrutura determinante da paisagem e um elemento chave no funcionamento do ecossistema fluvial e na manutenção da qualidade da água (Portilho, 2013).

As zonas ripícolas são ecótonos aquático-terrestres com processos biofísicos complexos e dinâmicos que suportam muitas funções ecológicas tanto para ecossistemas aquáticos como para ecossistemas de bacias inteiras. No entanto, são constantemente afetados e alterados por atividades humanas, como construção de barragens e urbanização, onde foram chamadas de "ecologias construídas". Devido a gradientes complexos de perturbação, especialmente a alteração do fluxo humano, o solo ribeirinho torna-se periodicamente exposto quando a água recua e é propensa à colonização por espécies exóticas tolerantes a perturbações e com estratégias de recuperação rápida (Chen *et al*., 2017).

A composição florística e a estrutura da vegetação que se desenvolve ao longo dos cursos de água são condicionadas por vários fatores, nomeadamente o clima, o regime do curso de água, as características físico-químicas do solo e da água e a topografia (Duarte e Moreira, 2009). Desta forma, a vegetação ripícola contribui para a melhoria da qualidade físico-química da água, uma vez que pode reter uma parte muito importante dos nutrientes; é uma fonte de MO, alimento e refúgio para uma parte da fauna aquática; possui um papel chave na conservação da biodiversidade; proporciona uma grande quantidade de ambientes ou habitats entre o rio e o bosque adjacente à zona aluvial; desempenha uma ação eficaz de filtragem superficial de sedimentos; atua diretamente na reciclagem de nutrientes; interceta e absorve a radiação solar, proporcionando a estabilidade térmica dos pequenos cursos de água e desempenha um papel muito importante na atenuação da erosão fluvial acelerada e na regularização de vazões ao longo dos cursos de água (Portilho, 2013).

1.4.2. Vegetação Ornamental

É do conhecimento geral que os espaços verdes aumentam o bem-estar dos residentes das zonas urbanas, fornecendo muitas vezes o único acesso à natureza e ocasiões para interagir com ele (Palliwoda *et al*., 2017).

Compostos por várias formas e materiais, os jardins contêm muitos fatores sociais e humanos (Abbas *et al*., 2016). Com efeito, o cultivo de plantas ornamentais é uma atividade que acompanha o Homem desde a antiguidade. Todavia, grande parte das plantas ornamentais cultivadas nos mais diversos locais do Mundo não é nativa dessas regiões, o que pode acarretar consequências negativas tanto nos ambientes naturais quanto nos cultivados. O paisagismo com espécies não nativas (alóctones) contribui para a uniformização das paisagens, enquanto o uso de espécies nativas (autóctones), ao mesmo tempo em que colabora para a preservação da flora local, é capaz de reforçar identidades regionais. Além disso, a inserção de plantas nativas com potencial ornamental na cadeia produtiva e a sua disponibilização para a comercialização representam um diferencial num mercado altamente competitivo, ávido por novidades e com tendência a tornar-se cada vez mais inclinado a produtos considerados de impacto ambiental reduzido (Heiden *et al*., 2006).

2. Objetivos do Estudo

A presente dissertação tem como principal objetivo realizar um diagnóstico do funcionamento da ETAR de Mondim de Basto para verificar se a descarga de AR tratada provoca alterações na qualidade da água do rio Tâmega e, a *posteriori,* na floresta ribeirinha. Como objetivo secundário, mas não menos importante, pretende-se verificar se o efluente tratado da ETAR pode ser reutilizado para rega dos jardins nas proximidades da ETAR.

O trabalho desenvolveu-se em diferentes etapas:

1. Análise do diagrama processual da ETAR, ou seja, verificação das operações unitárias e as unidades processuais envolvidas no sistema de tratamento utilizado (primário, secundário ou terciário);
2. Recolhas de efluente final tratado;
3. Em laboratório: determinação de diversos parâmetros físico-químicos ao efluente antes de ser usado na rega das plantas;
4. Realização de testes de fitotoxicidade onde será avaliado o índice de germinação (GI), baseado na germinação de sementes e no crescimento inicial das raízes de diferentes espécies de plantas herbáceas, nomeadamente:
    - *Cucumis sativum* (pepino);
    - *Lepidium sativum* (agrião-de-jardim);
    - Mistura de relva;
    - *Sinapis alba* (mostarda branca);
5. Realização de dois ensaios com plantas envasadas. Um com freixos (*Fraxinus angustifolia*) e carvalhos (*Quercus pyrenaica*) e, um outro, com petúnias (*Petunia×atkinsiana* (Sweet) D. Don ex W. H. Baster). O primeiro ensaio será realizado para avaliar o efeito do efluente da ETAR na fisiologia das plantas. Já o último terá como objetivo verificar se esse mesmo efluente pode ser reutilizado para rega nos jardins do município, através da resposta fisiológica das petúnias.

3. Material e Métodos

3.1. Caracterização do Local em Estudo

3.1.1. Enquadramento Geográfico

Mondim de Basto é uma vila transmontana do distrito de Vila Real, localizada no Norte de Portugal (figura 2), possuindo características predominantemente minhotas, que advém do facto de apenas o rio Tâmega a separar do Minho.

Segundo a base de dados PORDATA (2015), é um município com 172,1 km^2 que está atualmente subdividido em 6 freguesias: freguesia de Atei, freguesia de Bilhó, união de freguesias de Campanhó e Paradança, união de freguesias de Ermelo e Pardelhas, freguesia de Mondim de Basto e freguesia de Vilar de Ferreiros. A população do concelho estima-se em 7196 habitantes.

É uma terra com história, rica em valores naturais e que tem no monte da Sr.ª da Graça e no Parque Natural do Alvão as suas evidências paisagísticas mais marcantes (Município de Mondim de Basto, 2017).

O concelho estende-se entre os maciços montanhosos do Alvão, Velão e Marão, e as bacias do rio Tâmega, com destaque para os rios: Ôlo e Cabril, seus principais afluentes.

Num domínio de vales encaixado, destaca-se o monte da Nossa Senhora da Graça, com um relevo residual de 941 metros, elevando-se com as suas escarpas abruptas e forma cónica a partir da zona plana. A falha geológica conhecida por "Fisgas de Ermelo" é o outro monumento natural notável, que caracteriza e projeta o concelho, para além dos seus limites físicos.

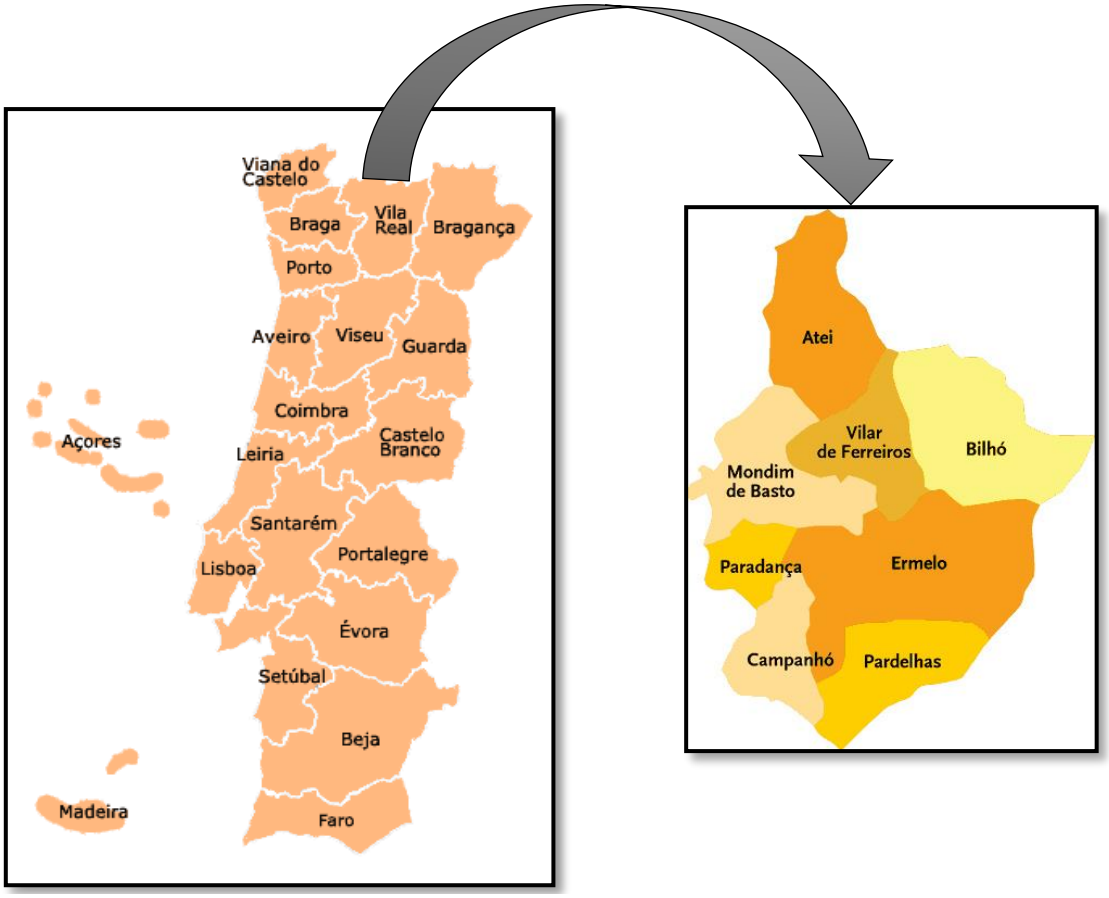

Figura 2 - Mapa de Portugal e do concelho de Mondim de Basto.

O rio Tâmega nasce na "Sierra de San Mamed", a 960 metros de altitude (Alto de Albergueria, Laza, Província de Ourense, Galicia, Espanha). Desagua no rio Douro entre Torrão (Marco de Canavezes) e Entre-os-Rios, freguesia de Eja, em Portugal, percorrendo desde a Nascente à Foz 145 km, dos quais, 51,9 km em Espanha (Guia, 2014).

A tabela 5 apresenta os concelhos que são abrangidos pela sub-bacia do rio Tâmega, em Portugal.

Tabela 5 - Concelhos abrangidos pela sub-bacia do rio Tâmega (Adaptado de APA, 2016).

	Área (km^2)	**Concelhos abrangidos**
Sub-bacia do Tâmega em Portugal	2648	Amarante, Boticas, Cabeceiras de Basto, Celorico de Basto, Chaves, Fafe, Felgueiras, Marco de Canavezes, Mondim de Basto, Montalegre, Penafiel, Ribeira de Pena, Vila Pouca de Aguiar e Vila Real.

A Estrutura Ecológica Municipal é constituída parcialmente por sistemas da Reserva Ecológica Nacional, por áreas que integram a Reserva Agrícola Nacional, por áreas que integram as categorias de Espaço Natural, de Espaço Florestal de Conservação, de Espaços Verdes e pela área agrícola e florestal que integra o corredor ecológico do Rio Tâmega definido pelo Plano Regional de Ordenamento Florestal (PROF) do Tâmega, pelas áreas de proteção parcial definidas no Plano de Ordenamento do Parque Natural do Alvão (POPNAL) e pelos valores naturais protegidos, nomeadamente os da Rede Natura 2000 (Câmara Municipal de Mondim de Basto, 2015).

O Parque Natural do Alvão (PNAL), com 7220 ha, é uma zona essencialmente granítica com algumas manchas de xisto, possuindo ainda inúmeros afloramentos rochosos. Das linhas de água, muito encaixadas, destaca-se o rio Olo associado à queda de água das Fisgas de Ermelo.

3.1.2. Caracterização da ETAR

A ETAR de Mondim de Basto foi construída em 1985 e serve a parte urbana de Mondim de Basto, situa-se junto a uma linha de água afluente ao Rio Tâmega (figura 3).

Apenas uma parte urbana de Mondim de Basto e parte da freguesia de Atei, são atualmente servidos por sistemas de drenagem de AR. Na restante área do município predominam as fossas sépticas individuais ou coletivas, como ocorre no sistema de Atei (Câmara Municipal de Mondim de Basto, 2016).

As AR domésticas são encaminhadas para a ETAR a fim de receberem o tratamento adequado e posteriormente serem encaminhadas para o curso de água.

Por outro lado, as águas pluviais (provenientes de telhados e pátios, estradas e pavimentos) são descarregadas diretamente para as linhas de água naturais mais próximas, em locais selecionados, sem outro tratamento além da gradagem (Câmara Municipal de Mondim de Basto, SD)

As concentrações dos efluentes são indicadas em função das populações servidas, uma vez que não se considera efluentes industriais (Câmara Municipal de Mondim de Basto, 2016).

Figura 3 - ETAR de Mondim de Basto.

Na tabela 6 verifica-se o tipo de tratamento e os métodos utilizados na ETAR de Mondim de Basto.

Tabela 6 - Tipo de tratamentos e equipamentos/métodos usados na ETAR.

Fases de tratamento	**Equipamentos/Processos utilizados**
Tratamento preliminar	• Desarenador • Tamisador • Removedor de óleos e gorduras
Tratamento primário	• Decantador primário
Tratamento secundário	• Leito percolador • Decantador secundário
Tratamento de lamas	• Leitos de secagem

A figura 4 representa alguns dos equipamentos/processos da ETAR.

Figura 4 - A) Desarenador e tamisador; B) Leito percolador; C) Decantador secundário; D) Canal Parshall à saída (local de recolha do efluente).

3.1.3. Caracterização da Vegetação

Nos espaços florestais do Município, nos quais se incluem as galerias ripícolas (figura 5), pode encontrar-se um variado coberto arbóreo com várias espécies como o amieiro (*Alnus glutinosa*), vidoeiro (*Betula alba*), freixo (*Fraxinus angustifolia*), carvalho-negral (*Quercus pyrenaica*), carvalho-alvarinho (*Quercus robur*) e salgueiros (*Salix atrocinerea* e *Salix salviifolia*). No estrato arbustivo podemos encontrar o sanguinho (*Frangula alnus*), o pilriteiro (*Crataegus monogyna*), a urze-branca (*Erica arborea*) e a rosa-de-cão (*Rosa canina*).

A flora herbácea associada a estes sistemas húmidos é muito variada e está estritamente ligada ao caudal, tipo de margem e declive. Assim, o estrato herbáceo é composto por muitas herbáceas higrófilas, em grande parte comuns à flora dos lameiros. As margens podem alojar espécies endémicas como a *Omphalodes nitida* e *Galium broterianum*, *Saxifraga lepismigena*, *Saxifraga spathularis* (espécie vulnerável) e *Veronica micrantha* (endemismo Lusitânico protegido pela União Europeia). Das espécies herbáceas mais representativas destas

comunidades podemos salientar a presença da hortelã-da-água (*Mentha aquatica*), o agrião (*Rorippa nasturtium-aquaticum*), *Myosotis discolor* subsp. *discolor* e *Myosotis debilis*, *Lycopus europeus*, *Carex* spp. e *Juncus* spp. (Coelho e Alves, 2004). Plantas raras, caso da orvalhinha ou rorela (*Drosera rotundifolia*), espécie carnívora que cresce em terrenos encharcados e margens dos cursos de água enriquecem a flora local (NATURALPT, 2017).

Figura 5 - Galeria ripícola do município de Mondim de Basto

Este estudo incidiu sobre o freixo (*Fraxinus angustifolia*) e o carvalho-negral (*Quercus pyrenaica*), representados na figura 6. Inicialmente estava previsto o estudo do amieiro (*Alnus glutinosa*). No entanto, esta espécie é de difícil aquisição e, por isso, optou-se em alternativa pelo carvalho-negral (*Quercus pyrenaica*) também bastante comum na região, e que aliás é referido no PROF do Tâmega para a sub-região Homogénea Alvão/Marão como uma das espécies a privilegiar nas ações de arborização, rearborização e reconversão florestal (PDM, 2015).

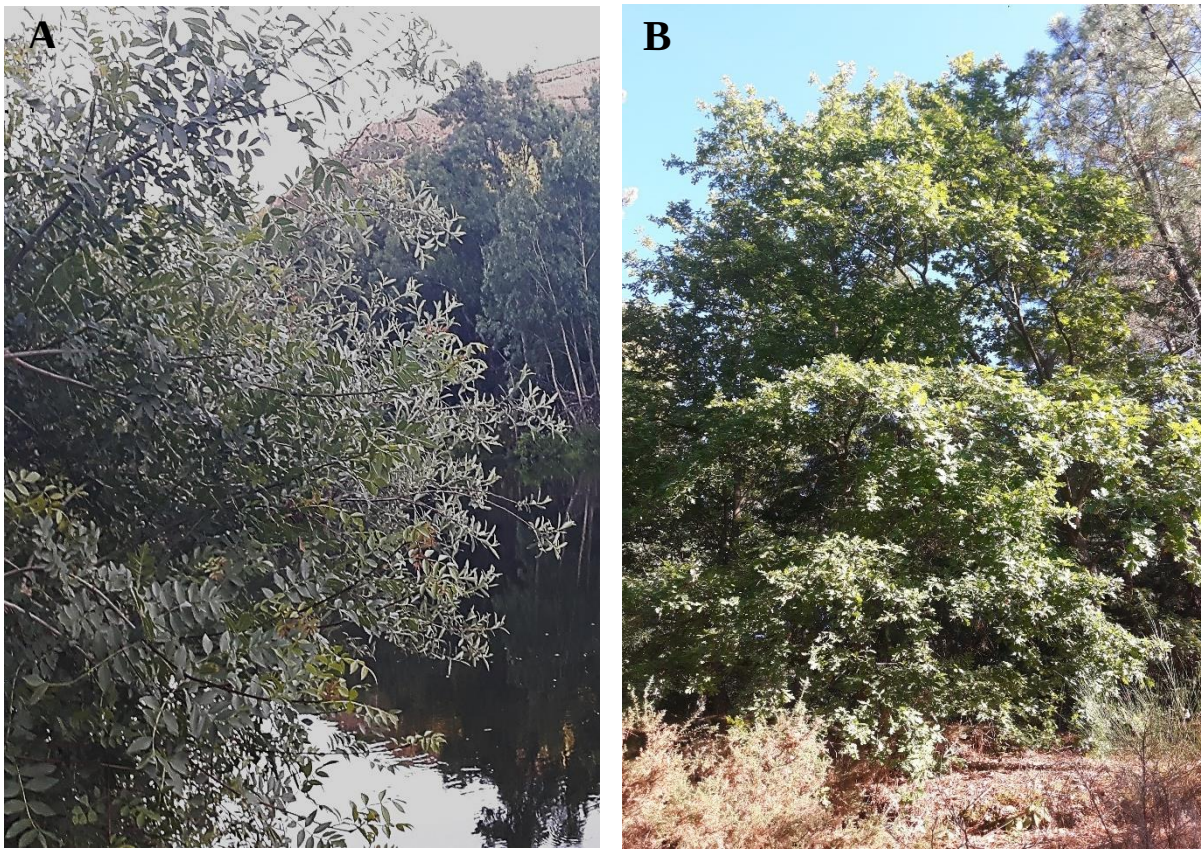

Figura 6 - A) *Fraxinus angustifolia* e B) *Quercus pyrenaica.*

- ***Fraxinus angustifolia***

Caracterização:

O freixo-comum ou freixo-de-folhas-estreitas (*Fraxinus angustifolia* Vahl) é uma árvore de tamanho médio, com 20 a 40 m de altura. O tronco é ereto e a sua casca é cinzenta e torna-se finamente e profundamente reticulada-fissurada. Os seus ramos são cinzentos, glabros com gemas negras e aveludadas. As folhas são ovais, serradas e pecioladas, imparipinuladas, com 7 a 15 folíolos sésseis, de cor verde-escuras na página superior e mais claras na página inferior. Apresenta flores acastanhadas, em panículas, reduzidas a 1 estigma e 2 estames com anteras quase sésseis. Os frutos são sâmaras simples, em feixes pendentes (Selecções do Reader's Digest, 1983).

Distribuição:

A sua distribuição abrange o Sul e centro este da Europa e o noroeste de África e Próximo Oriente (Crespi *et al*., 2005). Em Portugal atinge quase toda as regiões sendo também, por vezes, cultivado (Selecções do Reader's Digest, 1983). É uma espécie típica da nossa mata ribeirinha, vegetando espontaneamente nas margens dos cursos de água de todo o País (Loureiro, 1992).

Habitat e Ecologia:

É uma árvore de rápido crescimento frequente junto dos rios e nos bosques, que ocorre principalmente em climas moderadamente temperados, com uma precipitação anual entre 400 e 800 mm. Ele cresce bem em solos húmidos, em planícies temporariamente inundadas, mas também em solos bem drenados, embora haja mais concorrência de outras espécies de árvores. Prefere os solos arejados ou apenas moderadamente compactados, com uma faixa de pH entre 5 e 8. É particularmente suscetível a geadas, que danificam as flores e sementes de inverno na primavera, limitando a sua distribuição no Norte. No entanto, ele pode sobreviver em áreas mais frias do que o seu alcance natural quando plantado, embora seja difícil dispersar sementes nessas condições (Caudullo e Houston Durrant, 2016).

- ***Quercus pyrenaica***

Caracterização:

O carvalho-negral (*Quercus pyrenaica* Willd.) é uma árvore de porte médio, raramente superior a 25 m. Tem um tronco reto e delgado com uma casca cinza e grossa. A coroa é larga, lobada e irregular com muitas ramificações. Os principais ramos são flexíveis e bastante desenvolvidos. O sistema radicular é forte, com inúmeras raízes secundárias pouco profundas. Este carvalho é uma árvore decídua e marcescente. As folhas são simples e alternas, com lóbulos profundos e irregulares (4-8 pares), aveludadas com tricomas estreitados nos lados, conferindo uma cor cinza e aumentando a resistência à seca periódica (Nieto Quintano *et al.*, 2016). Pode atingir uma longevidade entre 150 a 300 anos (Mendes, 2011).

Distribuição:

A área natural do carvalho-negral é relativamente limitada, circunscrevendo-se sobretudo à Península Ibérica, expandindo-se, ainda, ao Norte de África, a Marrocos, e à parte ocidental de França. Esta espécie é autóctone em Portugal, encontrando-se em todo o país, exceto nas regiões do Baixo Alentejo e Algarve (Mendes, 2011).

Habitat e Ecologia:

Este carvalho habita normalmente áreas de transição entre as condições semi-húmidas temperadas semi-áridas e mediterrâneas. É menos comum em relação ao limite sul da sua área de distribuição, refugiando-se em áreas de montanhas húmidas e frescas. Tem uma estação de crescimento curta, que pode determinar a sua distribuição (Nieto Quintano *et al.*, 2016). Cresce com uma precipitação média anual, em geral, superior a 500 mm, ultrapassando, por vezes, os 2000 mm (Mendes, 2011). A seca do verão é um dos seus fatores limitantes, e evita as áreas mais secas. Os requisitos de água e de solo são intermédios entre os de carvalhos puros do Atlântico e Mediterrâneo. Este carvalho suporta frio e calor, mas requer uma certa quantidade de humidade. Prefere a sombra, para moderar a sua transpiração. Como a maioria dos carvalhos, não forma um banco de sementes persistente no solo (Nieto Quintano *et al.*, 2016).

Vegetação Ornamental

No que diz respeito à vegetação ornamental, o concelho tem várias espécies de plantas nos seus espaços verdes, nomeadamente: petúnias (*Petunia×atkinsiana* (Sweet) D. Don ex W.H. Baxter), amores-perfeitos (*Viola tricolor*), roseiras (*Rosa hybrida* L.), camélias (*Camelia japonica* L.) entre outras (figura 7).

Figura 7 - Espaço verde urbano no município de Mondim de Basto onde é destacada a presença de petúnias em plena floração.

Como referido anteriormente, com o objetivo de avaliar se o efluente tratado pode ser reutilizado para rega nos jardins do município, foi realizado um ensaio com petúnias.

- ***Petunia×atkinsiana* (Sweet) D. Don ex W. H. Baster**

O género *Petunia*, estabelecido por Jussieu em 1803, é originário da América do Sul e pertence à família *Solanaceae* (Vandenbussche *et al.*, 2016).

A petúnia-de-jardim comum, *Petunia×atkinsiana* (Sweet) D. Don ex W. H. Baster (figura 8), é atualmente uma das plantas ornamentais mais populares do mundo. A petúnia apresenta floração abundante desde o início da primavera até ao final do outono. Dependendo da variedade, as flores exibem uma grande diversidade de cores (Regalado *et al*., 2017).

Gerats e Vandenbussche (2005) definiram algumas qualidades importantes da petúnia, que justificam a escolha desta espécie para estudos científicos:

- Crescimento fácil;
- Ciclo de vida relativamente curto (cerca de 4 meses da germinação à produção de sementes);
- Facilidade de propagação vegetativa;
- Flores e folhas grandes que permitem estudos de citogenética e bioquímica;
- Produção de frutos e sementes abundantes.

Figura 8 - Pormenor de *Petunia×atkinsiana* florida.

Para além dessas características esta espécie é frequentemente utilizada em ensaios de modelação de sistemas de rega para torná-los mais eficientes (Isern *et al*., 2012), o que se enquadra nos objetivos do presente trabalho.

3.2. Caracterização Físico-Química do Efluente da ETAR

Para a concretização deste projeto recorreu-se a 2 recolhas, em momentos diferentes, de efluente tratado da ETAR de Mondim de Basto para se proceder à rega das espécies anteriormente descritas. Para tal, foi necessário realizar uma caracterização físico-química de cada uma das recolhas.

As recolhas foram efetuadas em alturas diferentes do ano sendo que, a primeira foi realizada a 20 de março (primavera) e a segunda a 17 de julho (verão).

As amostras do efluente tratado foram caracterizadas relativamente a alguns iões, CBO_5, CQO, condutividade, SST e pH.

3.2.1. Componente inorgânica

Relativamente à componente inorgânica, foram analisados alguns iões, nomeadamente, alumínio, cádmio, cobre, crómio, ferro, fosfatos, magnésio, nitratos, sulfatos e zinco. Estes parâmetros foram analisados por cromatografia iónica no Laboratório de Química da UTAD.

3.2.2. Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO_5)

Para determinar a Carência Bioquímica de Oxigénio durante 5 dias (CBO_5), utilizou-se o método manométrico que consiste na medição de variação de pressão no interior de um frasco contendo a água residual tratada utilizado um sensor eletrónico de pressão (*Oxi-Top*).

O sistema *Oxi-Top* funciona automaticamente e consiste em conjuntos de 6 ou 12 frascos, com capacidade de 500 mL, de cor âmbar, colocados numa base que promove a respetiva agitação individual.

No interior de cada frasco deita-se um volume apropriado da amostra a analisar. Na boca do frasco coloca-se um pequeno recetáculo de borracha com várias lentilhas de hidróxido de sódio no seu interior com o objetivo de reter o dióxido de carbono libertado durante a incubação.

O frasco fecha-se com uma tampa especial dotada de sensor eletrónico de pressão e memória. Este sistema *Oxi-Top* regista, em cada um dos 5 dias, a CBO através da variação dos valores de pressão. A CBO_5 da água analisada expressa-se na forma de mg de O_2/L (Peres, 2009).

3.2.3. Condutividade

Para a determinação da condutividade, recorreu-se a um condutivímetro da marca *Crison*, modelo *Basic* (intervalo 0,01–19,999 μS/cm, erro ≤ 0,02 μS/cm) através de uma leitura direta. Antes de se proceder à leitura da condutividade da amostra, foi necessário calibrar-se o condutivímetro utilizando uma solução tampão de 1413 μS/cm.

3.2.4. Carência Química de Oxigénio (CQO)

A Carência Química de Oxigénio (CQO) é frequentemente utilizada para avaliar a carga poluente existente nos efluentes domésticos e industriais. Este parâmetro caracteriza-se pela quantidade equivalente de oxigénio, em mg de O_2/L, que é consumido na oxidação das substâncias orgânicas e inorgânicas presentes numa amostra de efluente. A determinação pode ser efetuada através de um método colorimétrico. Este teste utiliza o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) como oxidante, em meio fortemente ácido (com H_2SO_4), na presença de um catalisador (sulfato de prata) e de sulfato de mercúrio, para anular a interferência de ião cloreto.

Este método é bastante utilizado na caracterização de águas residuais devido à sua rapidez de resultados.

Para quantificar a CQO presente no efluente tratado realizou-se o seguinte procedimento, baseado no *Standard Methods* 5210 D (APHA, 1999). Primeiramente, recolheram-se 2,5 mL do efluente tratado em estudo e colocaram-se em tubos previamente preparados. De seguida, colocaram-se os tubos num reator a uma temperatura de 150ºC durante 2 horas. Após o processo, é observado o valor da absorvância no espectrofotómetro UV/Vis, com o comprimento de onda de 600 nm. O valor de CQO é obtido através da inserção do valor da absorvância numa reta de calibração (a partir de soluções padrão), previamente preparada (Peres, 2009).

3.2.5. pH

Este parâmetro resulta da medição da concentração do ião hidrogénio [H^+], através da seguinte equação:

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

Normalmente os valores são medidos por potenciometria com recurso a um elétrodo de pH previamente calibrado com padrões de pH 4 e pH 7. A medição do pH foi efetuada por leitura direta, através de um elétrodo pH 209 Meter da Hanna Instruments, de acordo com a metodologia *Standard Methods*.

3.2.6. Sólidos Suspensos Totais (SST)

A determinação de Sólidos Suspensos Totais (SST) na amostra foi realizada através do método gravimétrico, utilizando membranas filtrantes em fibra de vidro (*Whatman GF/C*). Este método baseia-se na filtração da amostra através do filtro, previamente seco numa estufa durante, pelo menos, 1 hora a 105°C. Após a filtração da amostra, o resíduo que fica retido no filtro é seco numa estufa a 105ºC, até peso constante.

O cálculo dos SST foi realizado através da seguinte equação:

$$SST\ (mg/L) = \frac{P_2 - P_1}{V}$$

Sendo,

P_1 = peso do filtro (mg)

P_2 = peso do filtro + peso sólidos suspensos (mg)

V = volume da amostra (mL)

3.3. Testes de Germinação

A avaliação da fitotoxicidade de um composto é muito importante, dado que permite determinar se existem no material substâncias que possam inibir a germinação de sementes, o crescimento das raízes ou o desenvolvimento das plantas (Belo, 2011). Os testes de germinação têm sido os mais usados para avaliar a fitotoxicidade. Esses bioensaios são simples e baratos e requerem apenas uma quantidade relativamente pequena de amostra (Priac *et al*., 2017).

Nos testes de germinação de sementes em extrato aquoso do composto (diluído ou não) quantifica-se o número de sementes germinadas e o comprimento das raízes.

Segundo Priac *et al*. (2017), os testes de fitotoxicidade usando sementes apresentam as seguintes vantagens:

- Metodologia simples e reprodutível;
- Aplicável *in situ* e *in vitro*;
- Uso de material de laboratório e equipamentos pouco dispendiosos;
- Custos mínimos de manutenção;
- As sementes são auto-suficientes e sem necessidade de adicionar nutrientes;
- Tamanho de amostra requerido pequeno;
- Sem efeito da sazonalidade pois são feitos em condições controladas;
- As sementes podem facilmente ser compradas em grande quantidade devido ao seu baixo preço em comparação com o preço de plantas jovens ou adultas;
- As sementes permanecem viáveis por muito tempo;
- Rápida germinação.

A sensibilidade das sementes à toxicidade depende da quantidade de reservas que possuem, por essa razão, as sementes de leguminosas, com muitas reservas, têm baixa sensibilidade à toxicidade pelo que devem ser evitadas para estes testes (Belo, 2011). De referir ainda que existem várias espécies que melhor se adequam a este tipo de testes, no entanto, a *Lepidium sativum* é a mais usada devido à sua rápida resposta, sensibilidade e pelo facto de ser economicamente viável (Pinho *et al*., 2017).

No presente trabalho foram realizados testes de germinação de sementes de quatro espécies: *Cucumis sativum*, *Lepidium sativum*, mistura de relva (A. Pereira Jordão - GreenKeeper Prado Florido): 47% *Festuca rubra*; 50% *Festuca ovina*; 3% mistura de flores campestres) e *Sinapis alba* (figura 9).

Este procedimento foi realizado em placas de petri (previamente autoclavadas para a sua esterilização) e teve 5 réplicas de cada tratamento para cada espécie. Em cada placa, colocou-se um papel de filtro e as sementes em questão, foram uniformemente distribuídas. Humedeceu-se o papel com 4 mL de cada diluição a testar (tabela 7). Colocaram-se as placas na estufa, com ausência de luz solar, a 25°C, durante 7 dias. Após os 7 dias, colocou-se as placas sobre luz artificial (11 h - presença de luz e 13 h - ausência de luz), a 25°C, durante 7 dias. Posteriormente, registou-se o número de sementes germinadas (N_{SG}) em cada placa de petri e realizou-se a medição do comprimento das raízes germinada em mm (L_R) com um paquímetro digital (Mitutoyo Reino Unido).

Os testes de germinação foram realizados apenas com o efluente da primeira recolha pois foram realizados durante o mês de abril (antes da segunda data de recolha e previamente aos ensaios com plantas envasadas).

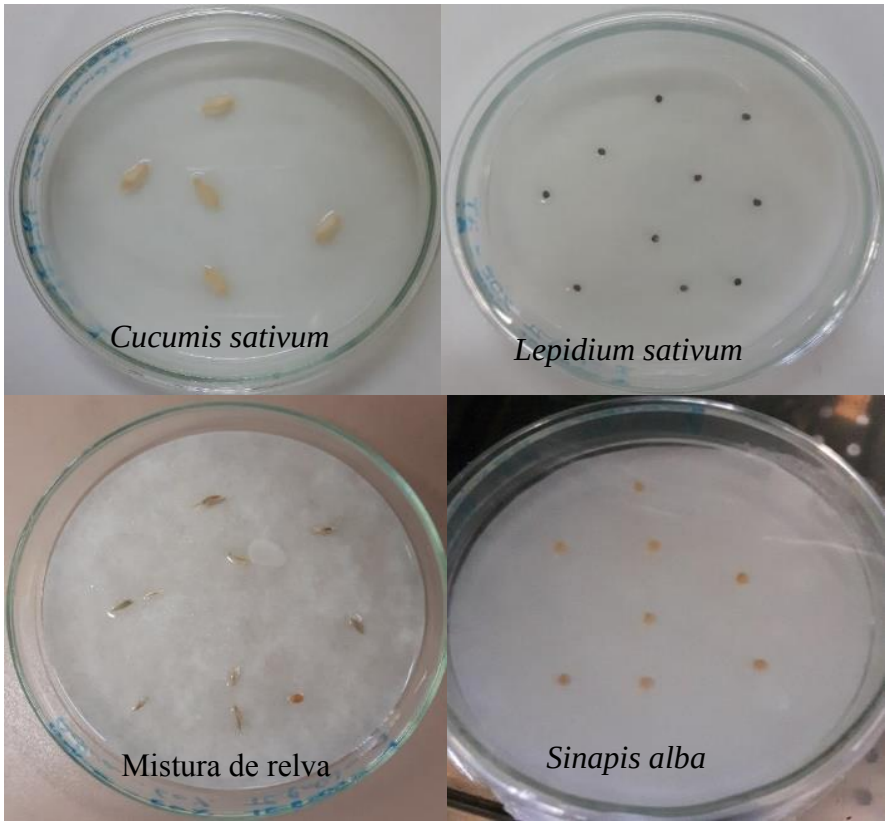

Figura 9 - Sementes no início do teste de germinação.

Tabela 7 - Preparação da diluição da solução final.

Diluição da solução final	**0%**	**20%**	**40%**	**60%**	**80%**	**100%**
Água (mL)	4,0	3,2	2,4	1,6	0,8	0,0
AR da ETAR (mL)	0,0	0,8	1,6	2,4	3,2	4,0

A tabela 8 apresenta o número de sementes e o volume total de cada diluição (mL) para cada uma das sementes utilizadas neste estudo.

Tabela 8 - Nº de sementes de cada espécie e respetivo volume total de cada diluição ao longo do estudo.

Espécie	***Cucumis sativum***	***Lepidium sativum***	**Mistura de relva**	***Sinapis alba***
Nº de sementes	5	10	10	8
Volume total de cada diluição a testar (mL)	5	4	4	4

Nota: Todas as sementes ficaram apenas com os 4 mL de cada diluição, com exceção do *Cucumis sativum* que após os 7 dias na estufa colocou-se mais 1 mL.

A avaliação da germinação e desenvolvimento das sementes foi calculada através das seguintes fórmulas, propostas por Selim et al. (2012):

- RSG - Percentagem relativa média de germinação

$$\mathrm{RSG}(\%) = \frac{\mathrm{N_{SG,T}}}{\mathrm{N_{SG,B}}} \times 100$$

Onde,

$N_{SG,T}$ é o número de sementes germinadas em cada extrato (diluições do efluente);

$N_{SG,B}$ é a média do número de sementes germinadas na solução padrão (água destilada - controlo).

- RRG - Percentagem relativa do comprimento das raízes

$$RRG(\%) = \frac{\mathrm{L}_{R,T}}{L_{R,B}} \times\ 100$$

Onde,

$\mathrm{L}_{R,T}$ é o comprimento médio das raízes no extrato aquoso;

$L_{R,B}$ é o comprimento médio das raízes do controlo.

- GI - Índice de germinação

$$\mathrm{GI} = \frac{\mathrm{RSG}(\%) \times \mathrm{RRG}(\%)}{100}$$

Para qualificar os níveis de fitotoxicidade, revelou-se útil a classificação de índices de germinação (GI). A tabela 9 apresenta essa mesma classificação, de acordo com Pinho *et al*. (2017).

Tabela 9 - Qualificação dos níveis de fitotoxicidade.

GI (%)	Classificação
< 40	inibição severa
40 - 60	inibição forte
60 - 80	inibição leve
> 80	sem inibição

3.4. Ensaios em Vasos

Foram realizados 2 ensaios em vasos (um com duas espécies ribeirinhas e outro com uma planta ornamental) com a finalidade de avaliar o crescimento e resposta fisiológica das espécies em estudo, anteriormente referidas ao efluente da ETAR.

Ensaio com Espécies Ribeirinhas

Este ensaio foi realizado numa estufa de vidro em condições ambientais controladas de luz, temperatura e humidade localizada no *campus* da UTAD (41º 19'N, 7º 44'W; 450m de elevação) com 30 plantas das espécies *F. angustifolia* e *Q. pyrenaica* (figura 10).

As plantas de *F. angustifolia* com 17 meses de idade e de *Q. pyrenaica* com 19 meses foram adquiridas a um viveirista local ainda em cuvetes e posteriormente foram transplantadas para vasos de 2 L com substrato 100% natural (GreenPlants - Sustrato de Mezcla, Espanha).

O ensaio teve uma duração de 45 dias. Antes de se proceder ao ensaio de rega, as plantas passaram por uma fase de aclimatação às novas condições de crescimento durante 3 semanas.

A espécie *Q. pyrenaica* revelou-se bastante sensível e com alguns problemas de aclimatação pelo que 5 das plantas iniciais acabaram por não resistir à mudança das condições de crescimento. Subsequentemente foram compradas mais 5 para igualar ao número inicial de plantas.

Após o período de aclimatação, a rega passou a ser diferenciada: metade das plantas de cada espécie foram regadas com água potável (controlo) e as restantes foram regadas com efluente da ETAR. Antes de se iniciar os dois tratamentos de rega, foram selecionadas 4 plantas de cada espécie para a análise de crescimento inicial.

De acordo com determinações prévias e de acordo com as características de retenção do substrato foram aplicados por semana cerca de 250 mL para os 2 tratamentos, em horas de menor calor (fim da tarde) de forma a garantir uma boa hidratação das plantas.

A distribuição das plantas foi alterada semanalmente para evitar diferenças de exposição dentro da própria estufa.

Figura 10 - *Fraxinus angustifolia* e *Quercus pyrenaica* no local onde decorreu a experiência.

Ensaio com Espécie Ornamental

Para este ensaio foram adquiridas 60 plantas da espécie *P.×atkinsiana* com apenas 24 dias a um viveirista. Durante 2 semanas foram regadas apenas com água até atingirem um tamanho considerável para serem transplantadas para vasos de 200 mL com substrato 100% natural (GreenPlants - Sustrato de Mezcla, Espanha).

Após esse período, 25 passaram a ser regadas com água potável (controlo) e outras 25 passaram a ser regadas com efluente. As restantes 5 petúnias foram usadas para análise de crescimento inicial.

As plantas foram regadas com o efluente da primeira recolha e o ensaio teve uma duração de 35 dias.

Durante o estudo, estas plantas permaneceram numa sala de crescimento de plantas do Departamento de Biologia e Ambiente da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, à temperatura média de 25-30ºC, com fotoperíodo de 13 horas de luz natural (irradiância de 600-700 $\mu mol.m^{-2}. s^{-1}$) e humidade relativa moderada (figura 11).

De acordo com determinações prévias, e de acordo com as características de retenção do substrato foram aplicados 1200 mL semanalmente em cada um dos tratamentos, em horas de menor calor (fim da tarde) para garantir que as plantas se encontravam bem hidratadas.

A distribuição das plantas foi alterada semanalmente para evitar diferenças de exposição dentro da sala de crescimento de plantas.

Figura 11 - *Petunia×atkinsiana* no início da experiência, após transplantação.

3.5. Parâmetros Ecofisiológicos

A ecofisiologia é uma ciência experimental que procura explicar os mecanismos fisiológicos que estão associados com as observações ecológicas, ou seja, é o estudo das respostas fisiológicas das plantas ao meio ambiente. O que se procura é entender como processos fisiológicos como o crescimento, reprodução, sobrevivência e distribuição geográfica das plantas são afetados pelos fatores bióticos e abióticos (Sbrissia *et al.*, 2007).

3.5.1. Análise de Crescimento

Este estudo dividiu-se em vários passos, nomeadamente: medição do comprimento da raiz e caule (mm) com um paquímetro digital (mm), medição da área foliar e radicular (cm^2) com um sistema de análise de imagem WinDIAS 2.0 (Delta-T Devices Ltd., Cambrige, Reino Unido). Posteriormente foram colocadas numa estufa ventilada a 60-70ºC durante 48h. Seguidamente procedeu-se à determinação do peso seco das folhas, do caule e da raiz numa balança digital de precisão.

No final da experiência foram repetidas as determinações em 4 plantas das espécies ribeirinhas e 5 petúnias de cada tratamento (controlo e efluente da ETAR) para a determinação das seguintes fórmulas, propostas por Hunt (1982).

- NAR - Taxa média de assimilação aparente

$$NAR\ (g.cm^{-2}.dia^{-1}) = \frac{W_{t2}-W_{t1}}{t_2-t_1} \times \frac{l}{\overline{AF}}$$

Onde,

W_{t1} e W_{t2} = Peso seco total da planta no início e no fim do período experimental;

t_2-t_1 = Número de dias do período experimental;

$\overline{AF}$ = Área foliar média no período de tempo considerado.

- LAR - Razão de área foliar

$$LAR\ (cm^2.g^{-1}) = \frac{AF}{W_t}$$

Onde,

AF = Área foliar;

W_t = Peso seco total da planta.

- SLA - Área foliar específica

$$\text{SLA } (cm^2.g^{-1}) = \frac{AF}{W_f}$$

Onde,

AF = Área foliar;

W_f = Peso seco das folhas.

- LWR - Razão do peso foliar

$$\text{LWR } (g.g^{-1}) = \frac{W_f}{W_t}$$

Onde,

W_f = Peso seco das folhas;

W_t = Peso seco total da planta.

- RGR - Taxa de crescimento relativo

$$\text{RGR } (mg.g^{-1}.dia^{-1}) = \frac{\ln W_{t_2} - \ln W_{t_1}}{t_2 - t_1}$$

Onde,

W_{t1} e W_{t2} = Peso seco total da planta no início e no fim do período experimental;

t_2-t_1 = Número de dias do período experimental.

3.5.2. Análises Bioquímicas

3.5.2.1. Pigmentos Fotossintéticos

O teor de pigmentos fotossintéticos foi determinado segundo o protocolo proposto por Sesták *et al.* (1971) com algumas modificações. Triturou-se um disco foliar (com diâmetro de 8 mm) de cada um dos tratamentos em azoto líquido num almofariz gelado. De seguida foram adicionados 2 mL de acetona a 80% para completar o esmagamento do disco. O homogeneizado foi escorrido num tubo de centrífuga (colocado em gelo). Seguidamente foram adicionados

novamente 2 mL de acetona a 80% no almofariz, agitou-se e juntou-se ao tubo com o extrato. Seguidamente, passou-se para o processo de centrifugação a 4000 rpm durante 5 minutos a 4ºC. Retirou-se o sobrenadante para uma proveta graduada (em gelo) e mediu-se e registou-se o volume de cada uma delas.

Por fim, realizou-se a leitura da absorvância num espetrofotómetro (Carry 100 Uv-Vis, Varian Palo Alto, EUA).

Para a determinação das respetivas concentrações ($mg.dm^{-2}$) aplicaram-se as seguintes equações de cálculo, propostas por Mackinney (1941):

$$Cl_a = [(0{,}00269 \times Abs_{645}) - (0{,}0127 \times Abs_{663})] \times \frac{Vol}{P}$$

$$Cl_b = [(0{,}00269 \times Abs_{645}) - (0{,}00468 \times Abs_{663})] \times \frac{Vol}{P}$$

$$Cl_{(a+b)} = [(0{,}0202 \times Abs_{645}) - (0{,}00802 \times Abs_{663})] \times \frac{Vol}{P}$$

Onde,

Abs_{663} e Abs_{645} corresponde às absorvâncias a 663 e 645 nm, respetivamente;

Vol = volume final de extrato acetónico em mL;

P = peso seco do disco em $mg.g^{-1}$.

Na quantificação dos carotenoides totais ($mg.dm^{-2}$) foi utilizado o mesmo extrato. No entanto, as leituras foram efetuadas com um comprimento de onda de 470 nm e, aplicou-se a seguinte equação apresentada por Lichtenthaler. (1987):

$$Carotenoides = \frac{[(1000 \times Abs_{470} - 1{,}82 \times Cl_a \times 85{,}02 \times Cl_b)]}{198} \times \frac{(Vol \times 0{,}001)}{P}$$

Onde,

Abs_{470} é a absorvância a 470 nm;

Cl_a e Cl_b são as concentrações das clorofilas a e b;

198 é o coeficiente de absorção dos carotenoides totais a 470 nm;

Vol = volume final do extrato acetónico em mL;

P = peso seco do disco $mg.g^{-1}$.

O processo de extração e quantificação foi realizado o mais possível ao abrigo da luz.

Após a medição, o extrato foi conservado em *eppendorfs* a -80ºC para posteriormente se proceder à quantificação dos compostos fenólicos totais.

3.5.2.2. Fenóis Totais

O conteúdo de fenóis totais foi determinado de acordo com o procedimento adaptado do método de Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965). A 200 µL de extrato usado nos pigmentos fotossintéticos adicionou-se 1mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 800µL de Na_2CO_3 a 7,5%. Posteriormente foram efetuadas leituras da absorvância a 765 nm. Para a conversão do valor de absorvância, efetuou-se uma curva-padrão, cujo padrão foi o ácido gálico.

3.5.3. Perda de Eletrólitos

A perda de eletrólitos é um processo de avaliação por condutividade elétrica e foi realizada de acordo com Lutts *et al*. (1996).

Colocaram-se discos foliares de cada tratamento, previamente lavados com água desionizada para remover todos os eletrólitos aderidos à superfície, em tubos com 10 mL de água desionizada. Os tubos foram então a incubar em banho-maria num agitador a 25ºC durante 24 horas. Ao fim deste período determinou-se a condutividade elétrica da solução (CE1). De seguida levou-se os tubos a autoclave a 120°C durante 20 minutos de modo a ocorrer a libertação total de eletrólitos. Esperou-se até as amostras atingirem um equilíbrio a 25°C e determinou-se novamente a condutividade elétrica (CE2) (figura 12). A perda de eletrólitos foi dada pela razão CE1/CE2 (%).

Figura 12 - Análise da condutividade elétrica no condutivímetro.

3.5.4. Estado Hídrico e Parâmetros Estruturais Foliares

Para o estudo do estado hídrico, as amostras foliares foram recolhidas com um bisturi e colocadas imediatamente em copos hermeticamente fechados de modo a evitar perdas por transpiração. No laboratório foram examinados os seguintes parâmetros: área foliar (AF, cm^2), utilizando um medidor de área foliar de bancada ligado a um computador com o programa de tratamento de imagem WinDIAS 2.0 (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Reino Unido); peso fresco (Pf; g); peso túrgido (Pt; g), medido depois da imersão dos pecíolos foliares em água destilada por 24 horas, às escuras a uma temperatura de 4°C; e peso seco (Ps; g), medido depois das folhas serem desidratadas numa estufa a 70°C, durante 48 horas.

Posteriormente foram calculados os seguintes índices, de acordo com Pereira *et al.,* (2010):

- RWC - Conteúdo relativo de água

$$RWC\ (\%) = \frac{Pf\text{-}Ps}{Pt\text{-}Ps} \times 100$$

- WCS - Conteúdo de águas em folhas saturadas

$$WCS\ (g\ H_2O.g^{-1}_{DM}) = \frac{Pt\text{-}Ps}{Ps}$$

- D - Densidade do tecido foliar

$$D\ (g.kg^{-1}) = \frac{Ps}{Pf}$$

- DSA - Défice de saturação de água

$$DSA\ (\%) = \frac{Pt\text{-}Pf}{Pt} \times 100$$

- S - Grau de suculência

$$S\ (mg\ H_2O.cm^{-2}) = \frac{Pf\text{-}Ps}{AF}$$

3.5.5. Trocas Gasosas

O cálculo da taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (g_s), a eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), taxa de transpiração (*E*) e a razão da concentração de CO_2 intercelular e atmosférico (C_i/C_a) foram realizadas a partir de equações desenvolvidas por Von Caemmerer *et al*., (1981) com um analisador de gás por radiação infravermelha (IRGA LCpro - SD, ADC, Hoddesdon, Reino Unido), num modo diferencial e em circuito aberto (figura 13).

As medições em *F. angustifolia* e *Q. pyrenaica* foram feitas entre as 10-12h num dia de céu limpo (28 de julho) sob condições ambientais e de irradiância natural, em folhas adultas, em bom estado sanitário e bem expostas.

Relativamente ao ensaio com *P.×atkinsiana*, as medições foram realizadas em 2 dias em folhas adultas, em bom estado sanitário e bem expostas. No primeiro dia (20 de julho) os vasos foram transportados para o exterior onde as plantas passaram por um período de aclimatação às condições naturais do exterior durante 30 min (num dia de céu limpo). No segundo dia (21 de julho) as medições foram realizadas sob as condições do local onde as plantas cresceram. Em ambos os dias, as determinações foram realizadas entre as 10-12 h.

Figura 13 - Medição de trocas gasosas em *Petunia×atkinsiana*.

3.5.1. Anatomia Foliar

O processamento iniciou-se com as técnicas usuais de inclusão em parafina após desidratação em série alcoólica etílica (Johansen, 1940; Berlyn e Miksche, 1976). Foram usadas 5 folhas de cada tratamento onde foram inicialmente fixadas durante 48 h no fixador FAA (90% de álcool a 70%; 5% de formol; 5% ácido acético glacial). Após este período as amostras foram retiradas do fixador e de seguida, foram submetidas a uma desidratação com concentrações crescentes de álcool durante uma hora (70%, 80%, 90%, 95% e 100%) e, por último, em xilol, para clareamento do material. O material vegetal foi impregnado em parafina fundida numa estufa a 60°C durante 24 h. De seguida foi efetuada a inclusão do material em blocos de parafina no aparelho de inclusão Leica EG 1160 (Leica Microsystems GmbH, Nussloch, Alemanha). Após a solidificação dos blocos, foi efetuado o corte do material no micrótomo rotativo Leica RM 2135 (Leica Microsystems GmbH, Nussloch, Alemanha) com 5-8 µm de espessura e, a

colagem em lâminas em banho-maria (54°C). A secagem das lâminas contendo os cortes em parafina decorreu durante 48 h. No fim do período de secagem, procedeu-se à desparafinação do material em xilol. Os cortes desparafinados foram hidratados em concentrações decrescentes de álcool (100%-70%) e, por último, foi efetuada uma passagem por água corrente de modo a promover a afinidade do material ao corante utilizado. A coloração dos cortes foi feita com o corante azul de toluidina 0,1% durante 7 min (O'Brien *et al*., 1964), tendo-se de seguida procedido a uma lavagem com água corrente para remover o excedente do corante. O material foi novamente desidratado em concentrações crescentes de álcool (70%-100%) e clareado em xilol. O processo terminou com a montagem definitiva do material vegetal em lâminas com *Entellan* (Merck KCGaA, Darmstadt, Alemanha), como meio de montagem.

Por fim, recorreu-se a um microscópio ótico invertido Olympus IX51 (Olympus Biosystem, Munich, Alemanha) acoplado a uma câmara digital (ColorViewIII, Soft Imaging System GmbH, Münster, Alemanha) através do programa de tratamento de imagem Olympus Cell^A (Olympus Soft Imaging Systems GmbH, Hamburg, Alemanha) para observar e analisar as imagens das preparações histológicas. Foi efetuada a determinação da espessura total da lâmina (μm), altura e largura do tecido vascular (μm) e altura da nervura central (μm).

Dada a grande morosidade da técnica de preparação e análise do material, os estudos da anatomia foliar foram apenas efetuados em *P.×atkinsiana*.

3.6. Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi efetuada a partir do programa *SPSS Statistics* versão 24 (*Statistical Package for Social Sciences*). Foram efetuadas análises de variância para cada uma das variáveis dependentes estudadas, de acordo com o teste de Tukey, para um intervalo de confiança de 95%, onde se considerou os seguintes níveis de significância:

- Não significativo, para valores de $P>0,05$;
- Significativo, para um nível de probabilidade de $0,01<P\leq0,05$;
- Muito significativo, para um nível de probabilidade de $0,001<P\leq0,01$;
- Altamente significativo, para um nível de probabilidade de $P\leq0,001$.

Para a concretização dos gráficos existentes usou-se o programa GraphPadPrism versão 6 (GraphPad Software Inc., EUA).

4. Resultados e Discussão

4.1. Parâmetros Físico-Químicos

Para este trabalho de dissertação, a caracterização físico-química do efluente final tratado na ETAR de Mondim de Basto foi fundamental. Esta caracterização permitiu avaliar a sua composição, nomeadamente na quantificação de parâmetros físico-químicos essenciais à rega e, ainda, uma análise desses mesmos parâmetros para possíveis descargas diretas no rio.

A tabela 10 apresenta os resultados obtidos referentes aos diferentes parâmetros analisados no efluente, nas duas recolhas que foram realizadas em março e julho de 2017, e os respetivos valores de referência para rega (VMR e VMA) e para descargas do efluente diretamente no rio (VLE).

Tabela 10 - Características químicas do efluente tratado da ETAR de Mondim de Basto.

Parâmetros	Unidades	1ª Recolha	2ª Recolha	Decreto-Lei nº 236/98		
				VMR	VMA	VLE
pH	Escala Sörensen	6,7	7,0	6,5-8,4	4,5-9,0	6,0-9,0
Condutividade	µS/cm (a 20°C)	815	1089	-	-	-
CBO_5	mg O_2/L	177	204	-	-	40
CQO	mg O_2/L	331	252	-	-	150
SST	mg/L	1058	50	60	-	60
Alumínio total	mg/L (Al)	0,6	0,1	-	-	-
Cádmio	µg/L (Cd)	0,00006	0,00007	0,01	0,03	0,2
Cobre	mg/L (Cu)	0,03	0,03	0,2	5,0	1,0
Crómio	mg/L (Cr)	0,00086	0,00085	0,1	20	2,0
Ferro	mg/L (Fe)	1,3	0,55	5,0	-	2,0
Fosfatos	mg/L (P_2O_5)	17,9	28,0	-	-	-
Magnésio	mg/L (Mn)	0,077	0,0446	0,20	10	2,0
Nitratos	mg/L (NO_3^-)	n.d.	4,6	50	-	50
Sulfatos	mg/L (SO_4^{2-})	24,0	20,0	575	-	2000
Zinco	mg/L (Zn)	2,488	0,134	2,0	10	-

Nota: VMR - Valor Máximo Recomendado; VMA - Valor Máximo Admitido; VLE -Valor Limite de Emissão.

Da análise dos resultados obtidos verificam-se algumas diferenças da primeira (março de 2017) para a segunda recolha (julho de 2017): registam-se valores superiores em março de 2017 relativamente ao alumínio total, CQO, crómio, ferro, magnésio, SST, sulfatos e zinco.

Relativamente aos parâmetros em geral, constata-se que os valores se encontram praticamente todos abaixo do valor máximo recomendado pelo Decreto-Lei n.º 236/98: cádmio, cobre, crómio, ferro, magnésio, nitratos, SST (recolha de julho de 2017), sulfatos e zinco. Estes dados revelam que o efluente, nos 2 momentos de recolha, se encontra em condições de ser usado para rega e/ou para descargas diretas no rio Tâmega.

No entanto, observa-se que em termos de MO, a CBO_5 e CQO apresentam valores ligeiramente superiores ao recomendado provavelmente devido aos valores de entrada serem bastante elevados e a possível menor eficiência consistente da ETAR tendo em conta o histórico que revela apresentando, em média, os valores de CBO_5 (177 e 204 mg O_2/L) e CQO (331 e 252 mg O_2/L) já se encontram acima do recomendado.

O valor dos SST na recolha de março de 2017 também se apresenta fora do recomendado (1058 mg/L), o que revela que o sedimentador secundário não estaria a funcionar na plenitude, tanto que na segunda recolha (julho de 2017) o valor registado (50 mg/L) já é inferior ao VLE.

4.2. Testes de Germinação

A fitotoxicidade é uma medida do atraso ou inibição da germinação das sementes, do crescimento da planta ou de qualquer efeito adverso nas plantas causado por substâncias específicas (Pinho *et al*., 2017).

A figura 14 apresenta os resultados no último dia de ensaio com sementes de *Lepidium sativum*, *Cucumis sativum*, *Sinapis alba* e mistura de relva nas placas de todas as diluições de efluente tratado da ETAR de Mondim de Basto (0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100%).

Cucumis sativum *Lepidium sativum*

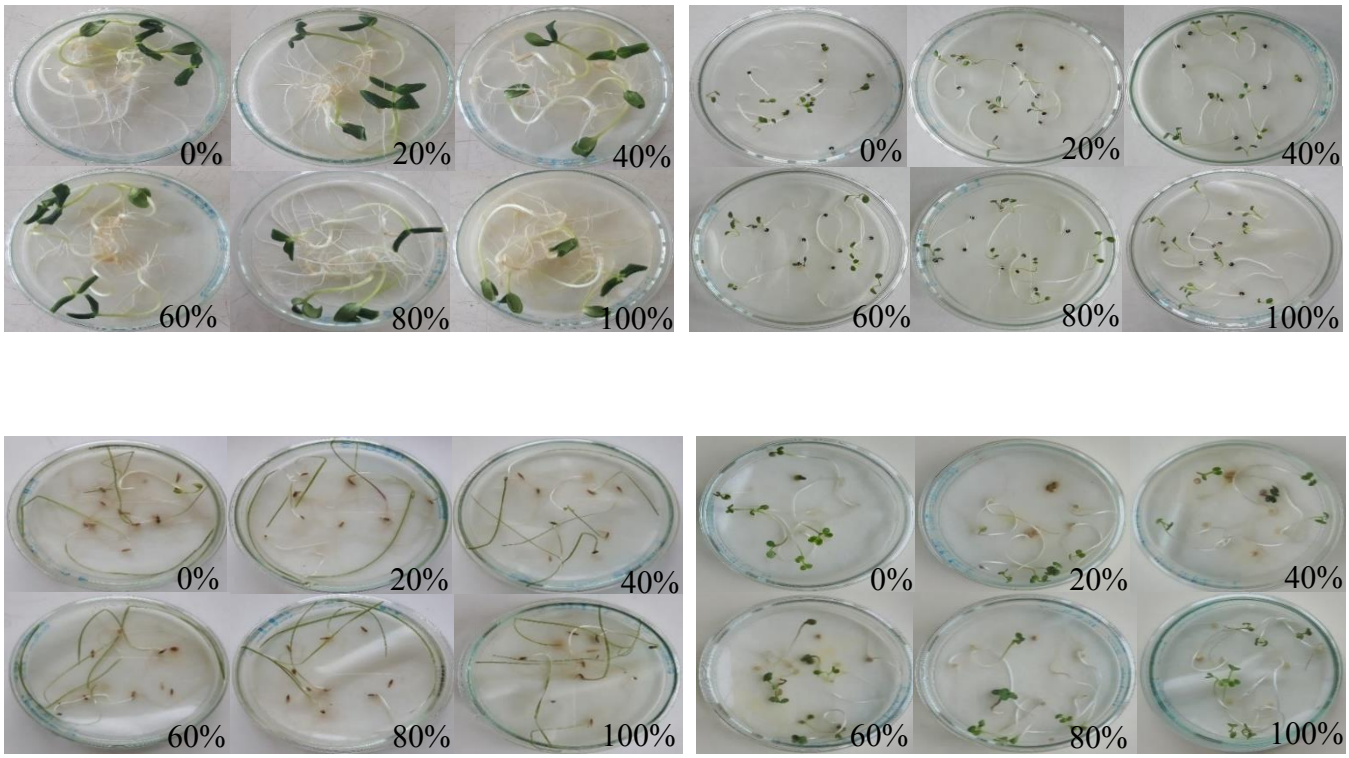

Figura 14 - Resultados dos ensaios de germinação e desenvolvimento das sementes após 15 dias da aplicação de concentrações crescentes de efluente.

Nas tabelas 11 a 14 podem ser observados os resultados para RRG, RSG e GI, de acordo com AR sem diluição e diferentes diluições (20%, 40%, 60% e 80%), em cada uma das sementes estudadas.

Na espécie *Cucumis sativum* (tabela 11), as percentagens de RRG e GI são bastante baixas comparativamente às obtidas para as outras sementes avaliadas. Em relação ao GI, verifica-se que para AR sem diluição e para as diluições 40%, 60% e 80% a inibição de germinação foi forte. Já para os 20% foi uma inibição leve. Em contrapartida teve uma percentagem relativa média de germinação de 100% em todas as placas. A ocorrência deste último significa que para todas as concentrações do efluente existiu um efeito positivo sobre a germinação.

Quanto à espécie *Lepidium sativum* (tabela 12) apresenta percentagens bastante elevadas, no entanto, sem diferenças significativas entre tratamentos.

A mistura de relva (tabela 13) expressa a significância no RRG onde se verifica um maior valor na diluição 80% e um menor valor na diluição 40%. Os parâmetros RSG e GI não apresentam diferenças significativas entre as diluições analisadas.

Para a espécie *Sinapis alba* (tabela 14) apenas se verificaram diferenças significativas para a RRG, com percentagens bastante elevadas, sendo que a maior percentagem foi registada na diluição 40% e a menor na de 80%. A taxa relativa média de germinação apresenta bons resultados e não se verificaram diferenças significativas entre tratamentos. Em relação ao GI, também não se verificaram diferenças significativas entre os tratamentos. As percentagens são elevadas, contudo, em AR sem diluição verificou-se uma inibição leve na germinação.

Tabela 11 - Percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG), percentagem relativa média de germinação (RSG) e percentagem do índice de germinação (GI) de *Cucumis sativum*. Valor médio ± erro padrão. Médias seguidas de letras iguais não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey (P < 0,05).

Fonte de Variância	**RRG** (%)	**RSG** (%)	**GI** (%)
AR sem diluição	41,522±5,410 a	100,000±0,000	41,522±5,410 a
Diluição 20%	71,845±3,352 b	100,000±0,000	71,845±3,352 b
Diluição 40%	45,340±2,954 a	100,000±0,000	45,340±2,954 a
Diluição 60%	45,470±4,790 a	100,000±0,000	45,470±4,790 a
Diluição 80%	50,529±4,586 a	100,000±0,000	50,529±4,586 a
P-Value	0,001	-	0,001

Tabela 12 - Percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG), percentagem relativa média de germinação (RSG) e percentagem do índice de germinação (GI) de *Lepidium sativum*. Valor médio ± erro padrão.

Fonte de Variância	**RRG** (%)	**RSG** (%)	**GI** (%)
AR sem diluição	100,689±6,293	87,500±2,552	87,643±4,195
Diluição 20%	109,168±4,606	97,917±4,167	106,269±2,881
Diluição 40%	110,910±5,080	93,750±5,705	104,506±9,860
Diluição 60%	108,321±4,362	87,500±5,311	95,394±8,741
Diluição 80%	101,402±3,844	85,417±3,898	86,674±5,246
P-Value	0,476	0,280	0,160

Tabela 13 - Percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG), percentagem relativa média de germinação (RSG) e percentagem do índice de germinação (GI) de mistura de relva. Valor médio ± erro padrão. Médias seguidas de letras iguais não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey (P < 0,05).

Fonte de Variância	**RRG** (%)	**RSG** (%)	**GI** (%)
AR sem diluição	106,500±12,887 ab	90,244±8,271	96,424±15,228
Diluição 20%	90,840±5,918 ab	87,805±7,111	81,223±11,826
Diluição 40%	78,487±9,534 a	100,000±2,439	78,390±9,290
Diluição 60%	121,799±8,217 b	97,561±8,623	121,567±17,982
Diluição 80%	106,522±7,519 ab	87,805±9,756	91,406±7,134
P-Value	0,031	0,697	0,174

Tabela 14 - Percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG), percentagem relativa média de germinação (RSG) e percentagem do índice de germinação (GI) de *Sinapis alba*. Valor médio ± erro padrão. Médias seguidas de letras iguais não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey (P < 0,05).

Fonte de Variância	**RRG** (%)	**RSG** (%)	**GI** (%)
AR sem diluição	102,934±9,772 ab	66,667±10,256	65,931±9,025
Diluição 20%	117,448±13,762 abc	79,487±2,564	93,851±12,265
Diluição 40%	157,958±25,673 bc	71,795±6,537	110,330±14,958
Diluição 60%	170,183±4,626 c	64,103±12,163	106,382±21,986
Diluição 80%	96,774±5,097 a	92,308±4,797	90,017±8,705
P-Value	0,004	0,135	0,211

4.3. Parâmetros Ecofisiológicos - Ensaio com Freixos e Carvalhos

4.3.1. Análise de Crescimento

A análise quantitativa de crescimento descreve as condições morfofisiológicas das plantas em diferentes intervalos de tempo, permitindo acompanhar a dinâmica da produtividade, avaliada por meio de índices de crescimento. É um método a ser utilizado na investigação do efeito dos fenómenos ecológicos sobre o crescimento, como a adaptabilidade das espécies em ecossistemas diversos, efeitos de competição, diferenças genotípicas da capacidade produtiva e influência das práticas agronómicas sobre o crescimento (Barreiro *et al.*, 2006).

Na análise das alterações no crescimento vegetal, a acumulação de matéria seca é o parâmetro mais significativo, uma vez que resulta da associação de vários outros componentes (Peixoto *et al*., 2006).

É importante salientar que estudos de curta duração em condições controladas e em plantas jovens, como foi o caso do nosso estudo, podem não refletir os mesmos resultados de estudos de longa duração em plantas adultas e em condições de campo (Sack e Grubb, 2001). Após a análise dos resultados (tabela 15) observaram-se sempre valores médios positivos, provavelmente devido à turgescência foliar que permitiu a abertura estomática e favoreceu as trocas gasosas, com a entrada de CO_2, de forma a atender ao grande gasto de assimilados dos órgãos em crescimento (Peixoto *et al*., 2006).

Entre espécies verificaram-se diferenças altamente significativas para todos os parâmetros, com exceção da SLA que apresenta apenas uma tendência para a significância, sendo que *Q. pyrenaica* apresenta sempre os maiores valores, exceto para a RGR e razão R:S.

Em relação às diferenças entre tratamentos, verificou-se que as plantas regadas com AR da ETAR apresentaram maior crescimento que as plantas controlo. Com efeito, estas revelaram valores de NAR e LWR significativamente muito superiores às plantas controlo e um aumento altamente significativo nos valores de LAR (um aumento de 46% em relação ao controlo).

Os valores médios da NAR refletem a dimensão do sistema fotossintético que é envolvido na produção de matéria seca (Peixoto *et al*., 2006). Visto que as plantas regadas com AR da ETAR apresentaram valores superiores de NAR, podemos inferir uma maior eficiência fotossintética das mesmas.

Finalmente, os valores da razão R:S foram também significativamente diferentes, mas neste caso as plantas do tratamento controlo apresentaram valores mais elevados. Apenas na SLA e na RGR não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos.

Relativamente à interação E×T apenas se verificaram diferenças significativas relativamente à LAR. Em *Q. pyrenaica* o tratamento teve um efeito altamente significativo (aumento de 48% no tratamento AR ETAR comparativamente ao controlo). Já em *F. angustifolia* não se verificou um efeito significativo do tipo de água aplicada.

Comparando a área foliar final por planta também se observaram diferenças altamente significativas entre as espécies e os tratamentos. As plantas de *Q. pyrenaica* apresentaram valores muito superiores (324%) e a AR da ETAR também provocou um aumento de 47% na área foliar. Verificaram-se diferenças muito significativas relativamente à interação E×T onde em *Q. pyrenaica* o tratamento AR ETAR revelou diferenças muito significativas em relação ao controlo.

Tabela 15 - Resultados da análise quantitativa de crescimento de *F. angustifolia* e *Q. pyrenaica*. Valor médio ± erro padrão da taxa média de assimilação (NAR), razão de área foliar (LAR), área foliar específica (SLA), razão do peso foliar (LWR), taxa de crescimento relativo (RGR), razão entre o peso seco da raiz e o peso seco da parte aérea (R:S) e área foliar total por planta.

Fonte de Variância		**NAR** ($g.cm^{-2}.dia^{-1}$)	**LAR** ($cm^2.g^{-1}$)	**SLA** ($cm^2.g^{-1}$)	**LWR** ($g.g^{-1}$)	**RGR** ($mg.g^{-1}.dia^{-1}$)	**R:S**	**Área foliar** (cm^2)
Espécie	*F. angustifolia*	2,040±0,276	10,583±1,045	111,633±5,007	0,094±0,007	0,172±0,001	1,866±0,133	47,715±5,852
	Q. pyrenaica	4,965±0,852	26,853±2,138	125,954±5,662	0,215±0,017	0,158±0,001	1,277±0,085	202,330±17,667
Tratamento	AR ETAR	4,648±0,850	22,239±3,806	120,422±5,531	0,181±0,028	0,166±0,002	1,403±0,159	148,951±17,667
	Controlo	2,357±0,561	15,197±2,558	117,165±6,358	0,129±0,020	0,164±0,003	1,740±0,129	101,094±24,629
P-Value	E	0,001	0,000	0,098	0,000	0,000	0,001	0,000
	T	0,004	0,000	0,691	0,002	0,317	0,033	0,001
	E×T	0,153	0,018	0,559	0,167	0,592	0,780	0,010

O facto da área foliar final por planta ser muito superior em *Q. pyrenaica* estará certamente relacionado com a maior idade (e a maior área foliar inicial) das plantas desta espécie no início da experiência e tal facto poderá também ter tido influência no crescimento das mesmas durante o ensaio.

4.3.2. Análises Bioquímicas

Os testes bioquímicos são aqueles em que se procuram diagnosticar alterações metabólicas nas plantas através da medida de alterações na atividade enzimática, na acumulação ou desaparecimento de certos metabolitos, no perfil proteico ou na resposta antioxidante da planta. Naturalmente, frente a uma situação desencadeada por fatores de stresse bióticos ou abióticos, a planta pode desencadear vários desses eventos ao mesmo tempo, pois geralmente estão interligados pelas vias metabólicas (Cazetta *et al*., 2010).

A tabela 16 apresenta os teores de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais obtidos em *F. angustifolia* e *Q. pyrenaica*. Verificaram-se diferenças altamente significativas entre as duas espécies para as clorofilas *a*, *b* e clorofila total, onde a espécie *Q. pyrenaica* apresenta menores concentrações e diferenças significativas para a razão entre clorofila total/carotenoides, onde neste caso apresenta maiores concentrações. No entanto, os valores da razão Cl_a/Cl_b foram similares em ambas as espécies.

As plantas verdes contêm principalmente clorofila *a*, que corresponde a aproximadamente 75% dos pigmentos verdes totais, e a clorofila *b* que é um pigmento acessório, na razão aproximada de 3:1, podendo ser encontradas na literatura razões de 2,5 a 4,0 (Gross, 1991). Neste caso os valores médios da razão Cl_a/Cl_b também estão dentro dos valores normalmente encontrados na literatura.

A redução da concentração de clorofilas possivelmente devido à foto-oxidação dos pigmentos é um sinal da existência de stresse oxidativo (Anjum *et al*., 2011). Contudo pode também ser interpretado como um mecanismo de aclimatação para prevenir a absorção de energia em excesso (Baquedano e Castillo, 2006; Bacelar *et al*., 2007).

Os carotenoides são um grupo de pigmentos com uma diversificada classe de substâncias naturais distribuídos amplamente em plantas, algas, fungos e bactérias. Desempenham papéis essenciais na fotossíntese e fotoproteção (Sun *et al*., 2017). Verificaram-se diferenças altamente significativas, onde a espécie *F. angustifolia* revelou valores superiores em relação a *Q. pyrenaica*.

Também se verificaram diferenças altamente significativas na concentração de fenóis totais entre espécies, sendo que *F. angustifolia* apresenta um aumento de aproximadamente 49% de concentração de fenóis totais comparativamente ao *Q. pyrenaica*, revelando assim que esta espécie poderia estar perante a necessidade de uma maior proteção contra as condições desfavoráveis conferidas por estes compostos. As plantas produzem uma grande diversidade de metabolitos secundários, como é o caso dos compostos fenólicos, que têm papeis defensivos contra diferentes tipos de stresse biótico e abiótico e contra fenómenos oxidativos (Taiz e Zeiger, 2006).

Adicionalmente, não se verificou um efeito significativo do tipo de água aplicada nem se registaram interações E×T significativas nos teores de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais em ambas as espécies.

Tabela 16 - Teor de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais de *F. angustifolia* e de *Q. pyrenaica*. Valor médio ± erro padrão de clorofila a (Cl_a), clorofila b (Cl_b), clorofila total ($Cl_{(a+b)}$), razão clorofila a /clorofila b (Cl_a/Cl_b), carotenoides (Car), razão entre clorofila total e carotenoides ($Cl_{(a+b)}$/Car) e fenóis totais.

Fonte de Variância		Cl_a (mg.g^{-1})	Cl_b (mg.g^{-1})	$Cl_{(a+b)}$ (mg.g^{-1})	Cl_a/Cl_b	Car (mg.g^{-1})	$Cl_{(a+b)}$/Car	Fenóis Totais (mg.g^{-1})
Espécie	*F. angustifolia*	4,286±0,175	1,762±0,072	6,048±0,242	2,436±0,044	1,559±0,051	3,764±0,145	68,666±4,109
	Q. pyrenaica	3,223±0,204	1,303±0,087	4,526±0,281	2,504±0,092	1,078±0,064	4,209±0,099	35,274±5,896
Tratamento	AR ETAR	3,688±0,263	1,503±0,129	5,192±0,387	2,508±0,083	1,299±0,097	3,904±0,174	48,345±7,928
	Controlo	3,821±0,231	1,562±0,740	5,383±0,303	2,432±0,059	1,338±0,088	4,070±0,090	55,595±6,090
P-Value	E	0,001	0,001	0,001	0,501	0,000	0,023	0,000
	T	0,640	0,615	0,624	0,447	0,655	0,369	0,293
	E×T	0,768	0,319	0,939	0,104	0,150	0,738	0,331

4.3.3. Perda de Eletrólitos

A medição da perda de eletrólitos é um método clássico usado para estimar a integridade das membranas em resposta a vários stresses ambientais. A perda de eletrólitos é geralmente considerada um indicador de perda da integridade membranar associada à saída de eletrões e solutos para o exterior (Ronly *et al*., 2011).

A figura 15 representa a percentagem de perda de eletrólitos para as espécies *Q. pyrenaica* e *F. angustifolia* para os 2 tratamentos em estudo (AR ETAR e controlo).

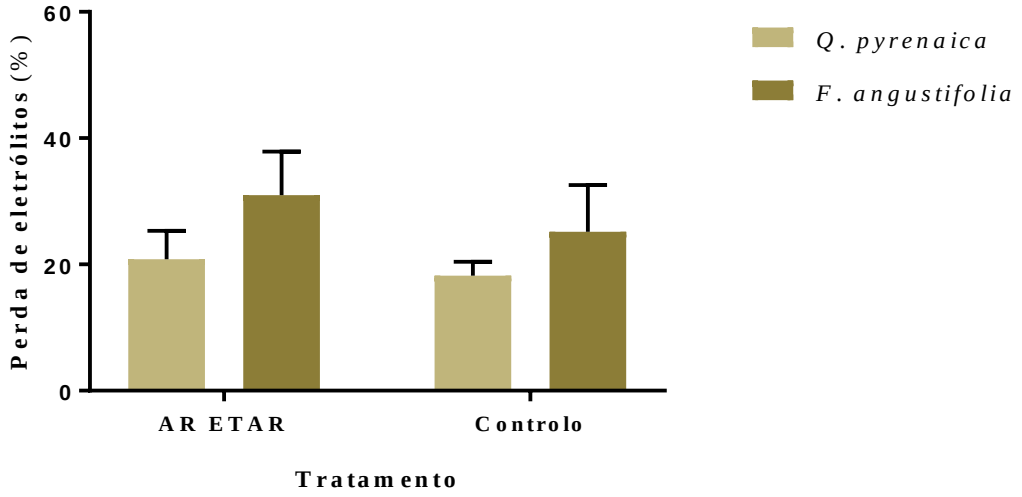

Figura 15 - Média ± erro padrão da perda de eletrólitos para *Q. pyrenaica* e *F. angustifolia* entre tratamentos (AR ETAR e controlo).

Os valores da perda de eletrólitos foram significativamente mais elevados em *F. angustifolia* em comparação com *Q. pyrenaica* ($P<0,001$). Uma vez que as membranas celulares são os primeiros alvos de muitos fatores de stresse (Bajji, *et al*., 2002), é possível que as plantas de *F. angustifolia* estivessem menos adaptadas às condições experimentais e daí mais expostas à ação deletéria de espécies reativas de oxigénio. Efetivamente, este resultado vai de encontro com o aumento na concentração de fenóis totais nesta espécie (tabela 16).

Também se verificam diferenças entre tratamentos, sendo que as plantas regadas com AR da ETAR apresentam valores significativamente mais elevados ($P=0,020$). Por outro lado, não se verificou uma interação E×T significativa ($P=0,232$).

4.3.4. Estado Hídrico e Parâmetros Estruturais Foliares

A água é o recurso mais abundante e ao mesmo tempo o mais limitante para o crescimento e funcionamento das plantas (González e Roger, 2001). O estado hídrico das folhas está intimamente relacionado com a condutância estomática e como tal, são por norma descritas boas correlações entre estes dois parâmetros (Nunes, 2007),

Na tabela 17 constata-se que não existiam diferenças significativas no RWC entre espécies e tratamentos. No entanto, verificam-se diferenças altamente significativas entre espécies para os parâmetros WCS, D e S, apresentando as plantas de *Q. pyrenaica* valores mais baixos em todos os parâmetros analisados exceto na D. A maior D em *Q. pyrenaica* está provavelmente relacionada com a presença de numerosos tricomas, uma camada cuticular mais espessa e um menor volume de espaços intercelulares e pode também estar associada a uma maior presença de tecidos de suporte ou espessura das paredes celulares (Bacelar *et al*., 2004). No entanto, tal só poderia ser confirmado pelo estudo histológico das suas folhas. Também se verificou que os valores de DSA foram significativamente mais baixos em *Q. pyrenaica* os quais podem estar relacionados com a menor S das suas folhas.

Entre tratamentos não se verificaram quaisquer diferenças significativas apesar de se ter verificado uma interação E×T muito significativa para os valores de RWC e DAS onde a espécie *Q. pyrenaica* revela um aumento de 6% de RWC nas plantas regadas com AR da ETAR e uma diminuição de 37% de DSA, não se verificando um efeito significativo do tratamento em *F. angustifolia*.

Tabela 17 - Análise do estado hídrico e parâmetros estruturais foliares de *F. angustifolia* e de *Q. pyrenaica*. Valor médio ± erro padrão do conteúdo relativo em água (RWC), conteúdo de água em folhas saturadas (WCS), a densidade do tecido foliar (D), défice de saturação de água (DSA) e grau de suculência (S).

Fonte de Variância		**RWC** (%)	**WCS** (g $H_2O.g^{-1}_{DM}$)	**D** ($g.kg^{-1}$)	**DSA** (%)	**S** (mg $H_2O.cm^{-2}$)
Espécie	*F. angustifolia*	87,289±0,952	2,036±0,064	0,362±0,008	8,496±0,635	0,013±0,000
	Q. pyrenaica	87,994±1,011	1,357±0,020	0,456±0,005	6,907±0,578	0,007±0,000
Tratamento	AR ETAR	88,343±1,105	1,710±0,113	0,405±0,014	7,388±0,817	0,010±0,001
	Controlo	86,940±0,710	1,683±0,112	0,413±0,017	8,014±0,409	0,010±0,001
P-Value	E	0,531	0,000	0,000	0,033	0,000
	T	0,219	0,700	0,415	0,378	0,822
	E×T	0,002	0,621	0,526	0,002	0,819

4.3.5. Trocas Gasosas

As moléculas heteroatómicas como a de CO_2 e a de H_2O absorvem radiação infra-vermelha a comprimentos de onda específicos, ao contrário das moléculas com dois átomos idênticos. Os aparelhos de análise de gases por infra-vermelhos (IRGA) permitem a determinação na folha *in vivo* de uma série de parâmetros, podendo inferir-se matematicamente o balanço das limitações bioquímicas e de difusão do CO_2 para a fotossíntese (Nunes, 2007).

A taxa de assimilação líquida de CO_2 (A) é afetada por um vasto leque de fatores como a nutrição da planta, o regime luminoso, o estado hídrico e a presença de outras limitações de natureza biótica e abiótica que se refletem em alterações na condutância estomática (g_s) e na capacidade fotossintética do mesófilo (Von Caemmerer e Farquhar, 1981).

No presente estudo, a plantas ribeirinhas apresentam diferenças altamente significativas para os valores de A (tabela 18), sendo que a espécie *F. angustifolia* apresenta um melhor comportamento que o *Q. pyrenaica*. A g_s também apresenta valores significativamente mais elevados em *F. angustifolia*. Contrariamente, os valores de A/g_s são mais elevados em *Q. pyrenaica*, o que indica que esta espécie realiza uma melhor gestão dos recursos hídricos disponíveis. Com efeito os valores de E foram também inferiores nesta espécie.

Por outro lado, o tratamento não teve efeitos significativos nas trocas gasosas foliares exceto na razão C_i/C_a que apresentou valores significativamente muito mais elevados nas plantas regadas com AR da ETAR. Também não se observaram interações E×T significativas.

Tabela 18 - Análise das trocas gasosas de *F. angustifolia* e de *Q. pyrenaica*. Valor médio ± erro padrão da taxa fotossintética (*A*), da condutância estomática (g_s), da eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), a taxa de transpiração (*E*) e a razão da concentração do CO_2 intercelular e atmosférico (C_i/C_a).

Fonte de Variância		***A*** ($\mu.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	***g_s*** ($m.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	***A/g_s*** ($\mu.mol.mol^{-1}$)	***E*** ($m.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	***C_i/C_a***
Espécie	*F. angustifolia*	10,123±0,760	168,004±18,205	14,871±4,794	4,952±0,294	0,640±0,010
	Q. pyrenaica	7,029±0,332	115,713±9,724	64,646±4,338	4,199±0,256	0,652±0,019
Tratamento	AR ETAR	8,728±0,889	158,309±18,660	34,172±7,731	4,626±0,297	0,674±0,015
	Controlo	8,423±0,573	125,407±12,362	45,345±9,433	4,525±0,298	0,618±0,010
P-Value	E	0,002	0,016	0,000	0,080	0,514
	T	0,722	0,115	0,090	0,806	0,007
	E×T	0,314	0,381	0,654	0,937	0,581

4.4. Parâmetros Ecofisiológicos - Ensaio com Petúnias

4.4.1. Análise de Crescimento

Quanto aos resultados da análise quantitativa do crescimento em *P.×atkinsiana* (tabela 19) verificou-se que as plantas não sofreram variações expressivas no tocante ao seu conteúdo de matéria seca em função do tipo de água aplicada. No entanto, os valores de LWR apresentam uma tendência para a significância (P=0,078). A menor LWR nas plantas controlo foi devida a uma menor translocação de biomassa para as folhas, o que poderá limitar a atividade fotossintética das mesmas.

4.4.2. Análises Bioquímicas

As concentrações de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais (tabela 20) não revelaram diferenças significativas entre os tratamentos. Estes resultados demonstraram que a rega de *P.×atkinsiana* com AR da ETAR não prejudicou o metabolismo destas plantas, como foi também verificado pelos resultados da análise de crescimento.

4.4.3. Perda de Eletrólitos

Relativamente à perda de eletrólitos, não se verificaram diferenças significativas entre os tratamentos (P=0,246), provando assim que a integridade membranar não foi afetada em nenhum dos tratamentos.

Tabela 19 - Resultados da análise quantitativa de crescimento de *P.×atkinsiana*. Valor médio ± erro padrão da taxa média de assimilação (NAR), razão de área foliar (LAR), área foliar específica (SLA), razão do peso foliar (LWR), taxa de crescimento relativo (RGR) e a razão entre o peso seco da raiz e o peso seco da parte aérea (R:S).

Fonte de Variância		**NAR** ($g.cm^{-2}.dia^{-1}$)	**LAR** ($cm^2.g^{-1}$)	**SLA** ($cm^2.g^{-1}$)	**LWR** ($g.g^{-1}$)	**RGR** ($mg.g^{-1}.dia^{-1}$)	**R:S**	**Área foliar** (cm^2)
Tratamento	AR ETAR	1,311±0,318	429,637±13,340	592,362±20,239	0,726±0,108	0,283±0,003	0,041±0,005	192,153±26,136
	Controlo	1,867±0,294	392,932±26,029	568,274±42,636	0,694±0,012	0,290±0,003	0,048±0,003	221,098±17,593
P-Value		0,228	0,238	0,621	0,078	0,111	0,302	0,380

Tabela 20 - Teor de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais de *P.×atkinsiana*. Valor médio ± erro padrão de clorofila a (Cl_a), clorofila b (Cl_b), clorofila total ($Cl_{(a+b)}$), razão clorofila a /clorofila b (Cl_a/Cl_b), carotenoides (Car), razão entre clorofila total e carotenoides ($Cl_{(a+b)}$/Car) e fenóis totais.

Fonte de Variância		***Cl*$_a$** ($mg.g^{-1}$)	***Cl*$_b$** ($mg.g^{-1}$)	***Cl*$_{(a+b)}$** ($mg.g^{-1}$)	***Cl*$_a$/*Cl*$_b$**	**Car** ($mg.g^{-1}$)	***Cl*$_{(a+b)}$/Car**	**Fenóis Totais** ($mg.g^{-1}$)
Tratamento	AR ETAR	13,785±0,979	5,844±0,602	19,629±1,521	2,407±0,099	4,051±0,232	4,777±0,142	29,546±1,708
	Controlo	12,030±0,404	4,606±0,287	16,636±0,675	2,644±0,817	3,655±0,116	4,547±0,080	27,108±1,718
P-Value		0,120	0,085	0,094	0,086	0,150	0,180	0,331

4.4.4. Estado Hídrico e Parâmetros Estruturais Foliares

Relativamente ao estudo do estado hídrico foliar, verificou-se que as plantas controlo apresentavam valores de RWC superiores às plantas regadas com AR da ETAR (aumento de 4%). Por outro lado, verificou-se que o DSA foi mais elevado nas plantas regadas com AR da ETAR (tabela 21). Estes resultados estão certamente relacionados com os diferentes comportamentos das plantas ao nível das trocas gasosas, mais concretamente ao nível da taxa de transpiração (tabela 23) e a diferenças na resistência à desidratação foliar.

Por outro lado, o tratamento não teve efeitos significativos para os parâmetros WCS, D e S.

Tabela 21 - Análise do estado hídrico e parâmetros estruturais foliares de *P.×atkinsiana*. Valor médio ± erro padrão do conteúdo relativo em água (RWC), conteúdo de água em folhas saturadas (WCS), a densidade do tecido foliar (D), défice de saturação de água (DSA) e grau de suculência (S).

Fonte de Variância		**RWC** (%)	**WCS** (g $H_2O.g^{-1}_{DM}$)	**D** ($g.kg^{-1}$)	**DSA** (%)	**S** (mg $H_2O.cm^{-2}$)
Tratamento	AR ETAR	85,645±0,893	21,584±0,577	0,052±0,001	13,084±0,469	0,016±0,001
	Controlo	88,654±1,043	22,753±0,631	0,048±0,002	10,062±0,393	0,019±0,001
P-Value		0,046	0,193	0,084	0,000	0,353

4.4.5. Trocas Gasosas

Relativamente às determinações das trocas gasosas realizadas no exterior em *P.×atkinsiana* (dia 20 de julho; tabela 22) verificaram-se diferenças significativas em *A* sendo os seus valores médios mais elevados nas plantas regadas com AR da ETAR. Este resultado poderá estar associado à maior espessura das folhas das plantas deste tratamento o que foi confirmado pelos resultados do estudo da anatomia foliar (figura 16; tabela 24).

Relativamente às determinações efetuadas no dia 21 de julho (no laboratório; tabela 23), os valores de *A* e g_s não apresentavam diferenças significativas. No entanto, existiam diferenças muito significativas nos valores de *E* e significativas para as razões A/g_s e C_i/C_a.

As plantas controlo apresentavam menor *E* (diminuição de 33% do controlo em relação à AR da ETAR). Relativamente à razão A/g_s foi mais elevada nas plantas controlo, revelando

estas uma maior eficiência do uso da água, o que também foi confirmado pelos valores mais elevados de RWC (tabela 21).

Tabela 22 - Análise das trocas gasosas de *P.*×*atkinsiana* (20 de julho). Valor médio ± erro padrão da taxa fotossintética (*A*), da condutância estomática (g_s), da eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), a taxa de transpiração (*E*) e a razão da concentração do CO_2 intercelular e atmosférico (C_i/C_a).

Fonte de Variância		A ($\mu.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	g_s ($m.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	A/g_s ($\mu.mol.mol^{-1}$)	E ($m.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	C_i/C_a
Tratamento	AR ETAR	6,484±0,448	121,277±12,916	55,998±3,980	3,339±0,300	0,701±0,017
	Controlo	4,831±0,473	95,108±12,221	53,919±3,466	3,178±0,434	0,717±0,013
P-Value		0,024	0,163	0,700	0,765	0,476

Tabela 23 - Análise das trocas gasosas de *P.*×*atkinsiana* (21 de julho). Valor médio ± erro padrão da taxa fotossintética (*A*), da condutância estomática (g_s), da eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), a taxa de transpiração (*E*) e a razão da concentração do CO_2 intercelular e atmosférico (C_i/C_a).

Fonte de Variância		A ($\mu.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	g_s ($m.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	A/g_s ($\mu.mol.mol^{-1}$)	E ($m.mol.m^{-2}.s^{-1}$)	C_i/C_a
Tratamento	AR ETAR	4,077±0,264	67,524±8,732	54,634±4,270	3,339±0,300	0,708±0,018
	Controlo	4,822±0,462	57,081±2,511	90,933±12,065	2,249±0,090	0,578±0,046
P-Value		0,182	0,270	0,013	0,004	0,021

4.4.6. Anatomia foliar

O estudo da anatomia foliar assume grande importância para a ecologia, fisiologia, fitopatologia e melhoramento genético das plantas (Segatto *et al.*, 2004). A folha é um órgão vegetativo cuja função principal é a síntese de substâncias orgânicas, usando a luz como fonte de energia, no processo conhecido por fotossíntese (Evans, 1999).

A aplicação de AR da ETAR durante o desenvolvimento de *P.×atkinsiana* induziu alterações anatómicas nas folhas. Através da análise dos cortes histológicos (figura 16; tabela 24), verificou-se que a espessura total do tecido foliar foi superior nas folhas do tratamento AR ETAR relativamente às folhas do tratamento controlo (aumento de 36%).

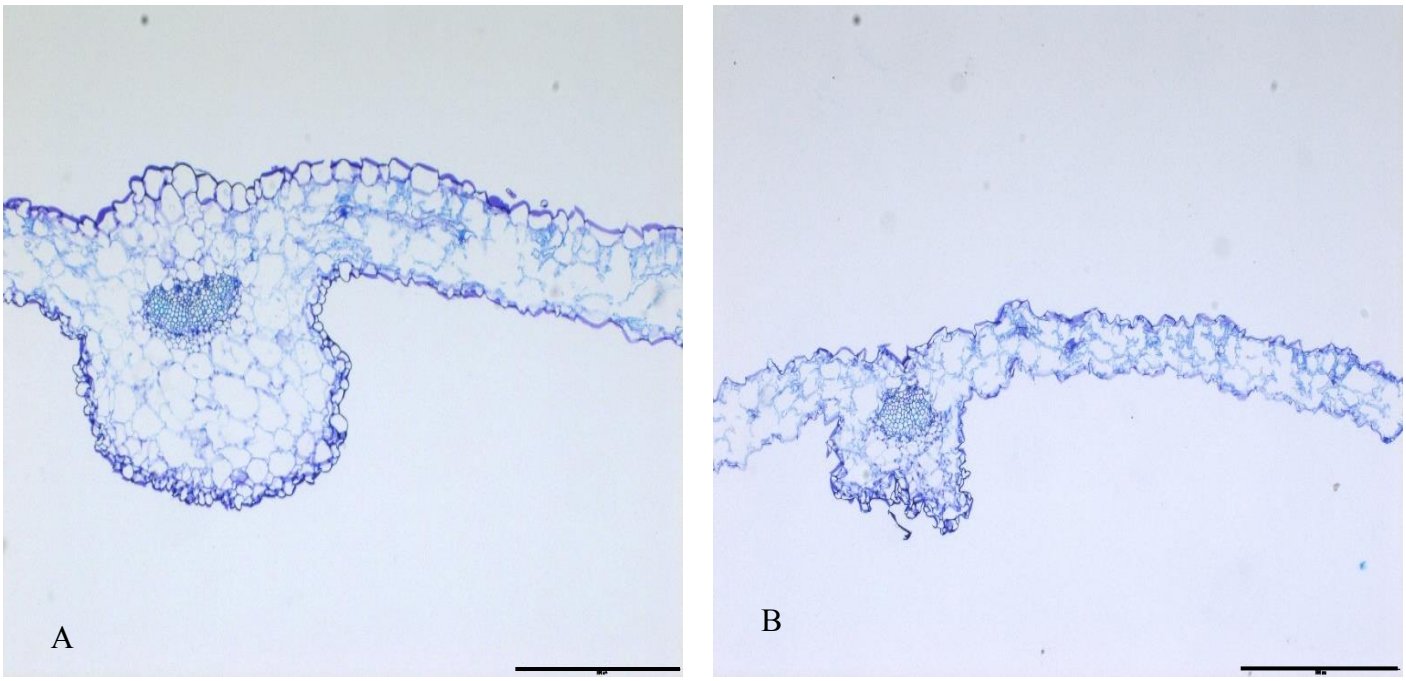

Figura 16 - Cortes transversais das folhas na região da lâmina dos dois tratamentos em estudo, A) ETAR e B) controlo. (Escala=500 µm).

A espessura da folha é dependente de vários fatores, tais como: anatomia da folha, o seu tamanho e forma, presença de tricomas, velocidade do vento, temperatura e concentração de água na folha e no ar (Pimentel, 2004).

Como vimos nos resultados do estudo das trocas gasosas foliares, a maior espessura das folhas das plantas regadas com AR da ETAR poderá ser uma vantagem para as mesmas, principalmente em condições de elevada intensidade luminosa. Em concreto, a maior espessura

da lâmina poderá estar associada a uma maior espessura da camada de células de parênquima clorofilino, o que corresponderá a um maior número de cloroplastos por unidade de área foliar, que assim poderá aumentar a eficiência fotossintética das folhas deste tratamento.

Tabela 24 - Anatomia foliar das petúnias. Valor médio ± erro padrão para a espessura da lâmina, tecido vascular (altura e largura) e altura da nervura central

Fonte de Variância	**Espessura total da Lâmina** (μm)	**Tecido Vascular**		**Altura da Nervura Central** (μm)
		Altura (μm)	**Largura** (μm)	
Tratamento AR ETAR	253,276±20,653	106,526±9,653	229,798±36,360	603,334±110,119
Controlo	153,657±9,560	110,784±4,803	192,805±48,821	361,376±48,705
P-Value	0,002	0,703	0,560	0,079

5. Conclusões

A existência de poucos estudos deste género motivou-nos à realização deste trabalho de investigação que se espera ser útil para a gestão dos recursos hídricos e florísticos do município de Mondim de Basto. Considera-se que os objetivos do trabalho inicialmente definidos foram alcançados, permitindo os resultados deste estudo tirar algumas conclusões sobre a influência na flora ribeirinha das descargas de AR da ETAR para o rio Tâmega e sobre a reutilização da AR tratada na rega dos jardins do município.

Em termos qualitativos, a água residual tratada na ETAR de Mondim de Basto apresentou parâmetros com valores, na generalidade, abaixo dos legalmente recomendados para descargas em meio hídrico e para rega pelo Decreto-Lei 236/98. Em geral, pode afirmar-se que a ETAR manifesta um desempenho com um bom grau de fiabilidade.

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios de germinação, a AR tratada da ETAR de Mondim de Basto favoreceu a germinação das espécies em estudo, não causando inibições totais em nenhuma espécie em qualquer uma das concentrações estudadas, sendo que a taxa de germinação mais baixa obtida foi de 64% em *S. alba* e a mais alta foi de 100% em *C. sativum*. Este facto pode justificar-se através dos resultados das análises físico-químicas, onde se verificou que os metais pesados estudados (cádmio, cobre, chumbo, crómio, ferro, magnésio e zinco) apresentam valores muito abaixo dos valores limite legalmente recomendados, não havendo a presença de elementos tóxicos no efluente final tratado e não provocando a toxicidade nas sementes.

No ensaio com plantas ribeirinhas foi possível fazer uma caracterização de diversos aspetos morfológicos de *F. angustifolia* e *Q. pyrenaica* e assinalar diferenças na resposta das duas espécies aos tratamentos (controlo e AR tratada). Com efeito, verificaram-se diferenças altamente significativas entre as duas espécies para todos os parâmetros da análise quantitativa de crescimento, com exceção da SLA que apresenta apenas uma tendência para a significância, sendo que *Q. pyrenaica* apresenta sempre os maiores valores, exceto para a RGR e razão R:S. O facto da área foliar final por planta ser muito superior em *Q. pyrenaica* também poderá ter tido alguma influência no crescimento das mesmas durante o ensaio.

Relativamente ao teor de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais e perda de eletrólitos, a espécie *F. angustifolia* apresentou valores superiores.

Não se identificaram diferenças no RWC, no entanto, a espécie *F. angustifolia* apresentou maiores valores de WCS, DAS e S. Ao nível das trocas gasosas foliares, a espécie *F. angustifolia* revelou melhor desempenho com valores mais elevados de A e g_s.

Relativamente às diferenças entre os tratamentos, verificou-se que a AR da ETAR influenciou positivamente o crescimento das plantas. No entanto, não se verificaram diferenças em relação aos teores de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais, estado hídrico e parâmetros estruturais foliares.

As plantas regadas com AR da ETAR revelaram maior perda de eletrólitos comparativamente às plantas controlo, o que nos leva a concluir que este tratamento afetou a integridade membranar, o que implica a realização de mais estudos ao nível fisiológicos e bioquímico para garantir que a AR da ETAR não tem efeitos negativos nestas espécies. De qualquer das formas não se verificaram efeitos significativos do tratamento nas trocas gasosas foliares exceto na razão C_i/C_a.

Relativamente ao ensaio realizado com plantas da espécie ornamental *P.×atkinsiana*, verificou-se que a rega com AR da ETAR não teve efeitos significativos na análise quantitativa de crescimento, teor de pigmentos fotossintéticos e fenóis totais e perda de eletrólitos. Por outro lado, as plantas controlo apresentaram um aumento de 4% no RWC e as plantas regadas com AR da ETAR revelaram maior DSA. Estes resultados poderão estar diretamente relacionados com as diferenças ao nível da taxa de transpiração e na resistência à desidratação foliar.

As plantas regadas com AR da ETAR apresentaram maior A, quando as medições foram realizadas sob maior intensidade luminosa no exterior, podendo este resultado estar associado ao facto das folhas das plantas deste tratamento apresentarem maior espessura total da lâmina. Por outro lado, quando as determinações foram efetuadas no laboratório, as plantas controlo apresentaram melhor A/g_s. No entanto, as plantas regadas com AR da ETAR obtiveram maior E e maior C_i/C_a.

Em suma, a composição química da AR tratada não parece ter sido prejudicial para nenhuma das espécies estudadas visto tratar-se de uma AR doméstica e apresentar baixa composição de metais pesados. As quantidades mais elevadas de MO presentes na CBO_5 e CQO em geral não causam problemas. Por este motivo, as descargas da AR tratada para o rio não aparentam influenciar negativamente a vegetação ribeirinha do rio Tâmega a montante e jusante da ETAR, e também parece ser viável a reutilização da mesma nos espaços verdes do município. No entanto, a sua utilização como água de rega deverá obedecer a uma gestão

ponderada e, como tal, propõe-se a realização de mais estudos complementares a este de forma a garantir uma reutilização segura do efluente tratado, a longo prazo e de forma bem sucedida.

6. Propostas de Futuro Trabalho

Com o decorrer da presente dissertação, verificaram-se alguns aspetos que podem ser aprofundados e complementados em investigações futuras. Um aspeto importante foca-se na necessidade de realização de ensaios por períodos de tempo mais alargados, de forma a verificar efeitos a longo prazo da AR tratada da ETAR de Mondim de Basto no crescimento e desenvolvimento das espécies ribeirinhas e ornamentais. Importa também referir a importância da realização de análises físico-químicas ao solo.

De forma a complementar o estudo sobre os efeitos da AR da ETAR de Mondim de Basto na flora local, seria também importante aumentar o número de réplicas bem como estudar outros aspetos ao nível foliar como a densidade estomática, anatomia interna, teor de ceras cuticulares, concentração de outros metabolitos (açúcares solúveis e amido, proteínas solúveis, oxidação de proteínas, peroxidação lipídica e flavonoides e antocianinas). Outras metodologias também poderão ser úteis para melhor compreender os efeitos da AR da ETAR nas plantas ribeirinhas e ornamentais como estudos da fluorescência da clorofila *a in vivo*, e estudos de citogenética e expressão génica.

Também seria importante a realização de estudos de monitorização da resposta ecofisiológica destas e outras espécies de plantas ribeirinhas do rio Tâmega a montante e a jusante da ETAR para melhor compreender os efeitos das descargas, e estudos com espécies ornamentais em condições ambientais naturais, ou seja, nos espaços verdes do município.

7. Bibliografia

Abbas, M.Y., Nafisi, N. e Nafisi, S. (2016). Persian garden, cultural sustainability and environmental design case study Shazdeh Garden. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*. **222**, 510-517.

Amorim, L. (2004). Intervenções em linhas de água: Contribuição para uma solução mais sustentável / CCDRN - Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Norte. 64 p. Disponível em: http://212.55.137.35/CDI/00002_0012_001_M.pdf, acedido a 24 de março de 2017.

Anjum, S.A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M.F., Man, C. e Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*. **6**(9), 2026-2032.

APA (2016). Plano de Gestão de Região Hidrográfica. Parte 2 - Caracterização e diagnóstico. Região hidrográfica do Douro (RH3) 213 p. Disponível em: http://www.apambiente.pt/_zdata/Politicas/Agua/PlaneamentoeGestao/PGRH/2016-2021/PTRH3/PGRH3_Parte2.pdf, acedido a 12 de março de 2017.

APHA (1999). Standard methods for the examination of water and wastewater. In 19th Edition.

Bacelar, E.A., Correia, C.M., Moutinho-Pereira, J.M., Goncalves, B.C., Lopes, J.I. e Torres-Pereira, J.M.G. (2004) Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions. *Tree Physiology*. **24**(2), 233-239.

Bacelar, E.A., Santos, D.L., Moutinho-Pereira, J.M., Lopes, J.I., Gonçalves, B.C., Ferreira, T.C. e Correia, C.M. (2007). Physiological behavior, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under diferente irrigation regimes. *Plant and Soil*. **292**, 1-12.

Bacelar, E.L.V.A., (2006). Ecophysiological responses of olive (*Olea europaea* L.) to restricted water availability - Limitations, damages and drought resistance mechanisms. Dissertação de Doutoramento em Engenharia Biológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, pp. 149.

Bajji, M., Kinet, J.-M. e Lutts, S. (2002). The use of electrolytic leakage method for assessing the cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation.* **36**, 61-70.

Baquedano, F.J. e Castillo, F.J. (2006). Comparative ecophysiological effects of drought on seedlings of the Mediterranean water-saver *Pinus halepensis* and water-spenders *Quercus coccifera* and *Quercus ilex*. *Trees*. **20**, 689–700.

Barreiro, A.P., Zucareli, V., Ono, E.O. e Rodrigues, J.D. (2006). Análise de crescimento de plantas de manjericão tratadas com reguladores vegetais. *Bragantia*. **65**, 563-567.

Belo, S. (2011). Avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* no âmbito de processos de compostagem. Dissertação de mestrado. Departamento de Engenharia Mecância da Universidade de Coimbra, Coimbra.

Berlyn, G.P. e Miksche, J.P. (1976). Botanical microtechnique and cytochemistry. Lowa University Press.

Câmara Municipal de Mondim de Basto, (SD). Diagnóstico Social de Mondim de Basto. 141 p.. Documento cedido pela C.M. de Mondim de Basto.

Câmara Municipal de Mondim de Basto, (2016). Memória Descritiva - "Estação de Tratamento de Águas Residuais de Mondim de Basto". 15 p.

Câmara Municipal de Mondim de Basto, (2015). PDM - "Plano Diretor Municipal de Mondim de Basto". 112 p.

Carapeto, C. (1999). Poluição das águas: causas e efeitos. Universidade Aberta, Lisboa. 243 p.

Cardoso, V.M.S. (2014). Avaliação do Potencial de Reutilização de Água Residual Tratada num Município de Aveiro. Dissertação de mestrado em Engenharia do Ambiente. Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro, Aveiro.

Caudullo, G. e Houston Durrant, T. (2016). "Fraxinus angustifolia in Europe: distribution, habitat, usage and threats."

Cazetta, J.O., Fonseca, I.M. e Prado, R.d.M. (2010). Perspectivas de uso de métodos diagnósticos alternativos: testes bioquímicos. Cap. 6, 25 p. Disponivel em: http://www.nutricaodeplantas.agr.br/site/downloads/unesp_jaboticabal/livro_diagnosefoliaremhortalicas_cap6.pdf, acedido a 12 de julho de 2017.

Chen, C., Wu, S., Meurk, C.D., Ma, M., Zhao, J., Lv, m. e Tong, X. (2017). Effects of local and landscape factors on exotic vegetation in the riparian zone of a regulated river: Implications for reservoir conservation. *Landscape and Urban Planning.* **157**, 45-55.

Coelho, C. e Alves, F. (2004). "Plano de Ordenamento do Parque Natural do Alvão." Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

Cordeiro, D. (2012). Estudo da reutilização de uma água residual tratada na rega paisagística. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

Crespi, A.L., Sampaio e Castro, A. e Bernardos, S. (2005). A Flora da Região Demarcada do Douro. João Azevedo Editor. Mirandela, Vol. II. 556p.

Cunha, A. (2014). Acompanhamento Analítico das Estações de Trtatamento de Águas Residuais (ETAR) do Sousa (Lousada) e de Senzedo (Guimarães). Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto.

Decreto-Lei nº 239/98, de 1 de agosto de 1998, estabelece normas, critérios e objetivos de qualidade. Diário da República I Série A, nº 178.

Duarte, C. e Moreira, I. (2009). Flora Aquática e Ribeirinha. Administração da Região Hidrográfica do Algarve, I.P. 98 p.

Evans, J.R. (1999) Leaf anatomy enables more equal access to light and CO_2 between chloroplasts. *New Phytologist.* **143**, 93-104.

Gerats, T. e Vandenbussche, M. (2005). A model system for comparative research: Petunia. *Trends in Plant Science.* **10**, 251-256.

Gomes, S.F.R. (2011). Análise da Viabilidade Económica da Reutilização de Águas Residuais Tratadas - O Caso da ETAR do Ave. Dissertação de mestrado em Engenharia Urbana/Ramo de Hidráulica Ambiental. Universidade do Minho, Escola de Engenharia.

González, L. e Roger, M.J.R. (2001). Plant water status. In: Handbook of plant ecophysiology techniques. Roger M.J.R., pp 185-191, Kluwer Academic Publishers, Netherlands. Disponível em https://ia600207.us.archive.org/32/items/springer_10.1007-0-306-48057-3/10.1007-0-306-48057-3.pdf, acedido a 21 de agosto de 2017.

Gross, J. (1991). Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids. Van Nostrand Reinhold. New York, 351 p. Disponível em: https://books.google.pt/books?id=gBDaBwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-PT&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false, acedido a 01 de Setembro de 2017.

Guia, M.M. (2014). Guia Martin dos Rios Ibéricos Internacionais. Disponível em: http://riosibericos.com/rio-tamega/, acedido a 15 de março de 2017.

Heiden, G., Barbieri, R.L. e Stumpf, E.R.T. (2006). Considerações sobre o uso de plantas ornamentais nativas**.** *Ornamental Horticulture*. **12**, 2-7.

Hunt, R. (1982). Plant growth curves. An introduction to the functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold Pub Lda, London.

Instituto Português da Qualidade (IPQ): "Norma Portuguesa sobre Reutilização de Águas Residuais Urbanas Tratadas na Rega", NP 4434, IPQ, Caparica, 2005.

Isern, D., Abelló S. e Moreno A. (2012). Development of a multi-agent system simulation platform for irrigation scheduling with case studies for garden irrigation. *Computers and Electronics in Agriculture.* **87**, 1-13.

Johansen, D. A. (1940). Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, Inc: London; 530 p.

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*. **148**, 350-382.

Loureiro, A.M. (1992). Dendrologia Florestal. Série Didática nº6 - Ciências Aplicadas. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real. 126 p.

Lutts, S., Kinet, J.M. e Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*. **78**, 389-398.

MacKinney, G. (1941). Absorption of light by chlorophyll solutions. *The Journal of Biological Chemistry*. **140**, 315-322.

Marecos do Monte, H. e Albuquerque, A. (2010). Reutilização de Águas Residuais. Série GUIAS TÉCNICOS nº14 - ERSAR e ISEL.

Mendes, B. e Oliveira, J.F.S. (2004). Qualidade da água para consumo humano. LIDEL - Edições Técnicas, Lda., Lisboa.

Mendes, A.F.C. (2011). Equações de Biomassa para *Pinus pinaster* e *Quercus pyrenaica* na Região Norte de Portugal. Dissertação de mestrado em Engenharia Florestal. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.

Morar, F., Rus, D. e Lung, B.-I. (2016). The Influence of Sugar-Processing Effects on Water in Treatment Plants. *Procedia Technology.* **22**, 486-492.

Município de Mondim de Basto, (2017). Disponível em: http://municipio.mondimdebasto.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=179&Itemid=73, acedido a 13 de junho de 2017.

NATURALPT (2017). Parque Natural do Alvão. Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, I.P. (ICNF, I.P.). Disponível em: http://www.natural.pt/portal/pt/AreaProtegida/Item/4, acedido a 18 de maio de 2017.

Nieto Quintano, P., Caudullo, G. e de Rigo, D. (2016). "*Quercus pyrenaica* in Europe: distribution, habitat, usage and threats."

Nunes, C.M.d.J. (2007). Caracterização da resposta ao deficit hídrico de linhas transgénicas de *Medicago truncatula cv. Jemalong* . Dissertação de mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia. Departamento de Biologia Vegetal. Universidade de Lisboa, Lisboa.

O'brien, T., Feder, N. e McCully, M. E. (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma.* **59**(2), 368-373.

Oliveira, N. (2011). Caracterização do impacte das descargas da ETAR de Proença-a-Nova na Ribeira da Pracana. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco.

Palliwoda, J., Kowarik, I. e von der Lippe, M. (2017). Human-biodiversity interactions in urban parks: The species level matters. *Landscape and Urban Planning* **157**, 394-406.

Peixoto, C.P., Cerqueira, E.C., Soares Filho, W.d.S., Castro Neto, M.T.d., Ledo, C.A.d.S., Matos, F.S. e Oliveira, J.G.d. (2006). Análise de crescimento de diferentes genótipos de citros cultivados sob déficit hídrico. *Revista Brasileira de Fruticultura* **28**, 439-443.

Pereira, A. (2009). Avaliação de desempenho operacional de estações de tratamento de águas residuais como instrumento associado à reutilização da água na rega de campos de golfe. Dissertação de mestrado em Engenharia do ambiente, na área de Tecnologias ambientais. Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente da Universidade do Algarve, Faro.

Pereira, J.M., Correia, C., Gonçalves, B., Bacelar, E. e Laranjo, J.G. (2010). Manual de trabalhos práticos em biologia vegetal. Série Didática nº 398 - Ciências Aplicadas. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.

Peres, J.A. (2009). Trabalhos práticos em Química Ambiental - Série Didática nº 368. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.

Pimentel, C. (2004). A relação da planta com a água. Departamento de Fitotecnia - Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 190 p.

Pinho, I.A., Lopes, D.V., Martins, R.C. e Quina, M.J. (2017). Phytotoxicity assessment of olive mill solid wastes and the influence of phenolic compounds. *Chemosphere* **185**, 258-267.

PORDATA, (2015). Base de Dados Portugal Contemporâneo. Disponível em: https://www.pordata.pt/Municipios/Quadro+Resumo/Mondim+de+Basto+(Munic%C3%ADpio)-9362, acedido a 15 de janeiro de 2017.

Portilho, E. (2013). Avaliação da Qualidade Ecológica do Rio Tâmega. Dissertação de mestrado em Biologia e Gestão da Qualidade da Água. Departamento de Biologia. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto.

Priac, A., Badot, P.-M. e Crini, G. (2017). Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: Focus on germination and root elongation test parameters. *Comptes Rendus Biologies* **340**, 188-194.

Rajasulochana, P. e Preethy, V. (2016). Comparison on efficiency of various techniques in treatment of waste and sewage water - A comprehensive review. *Resource-Efficient Technologies* **2**, 175-184.

Regalado, J.J., Carmona-Martín, E., Querol, V., Veléz, C.G., Encina, C.L. e Pitta-Alvarez, S.I. (2017). Production of compact petunias through polyploidization. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC).* **129**, 61-71.

Ronly, N., Costa, L., Carrión, C. e Guiamet, J.J. (2011). Is the electrolyte leakage assay an unequivocal test of membrane deterioration during leaf senescence? *Plant Physiology and Biochemistry.* **49**, 1220-1227.

Sack, L. e Grubb, P.J. (2001). Why do species of woody seedlings change rank in relative growth rate between low and high irradiance? *Functional Ecology*. **15**, 145-150.

Santos, M.M.C.d. (2008). Reutilização de águas residuais urbanas tratadas. Dissertação de mestrado em Engenharia do Ambiente. Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

Santos, O.S.N., Paz, V.P.d.S., Gloaguen, T.V., Teixeira, M.B., Fadigas, F.d.S. e Costa, J.A. (2012). Crescimento e estado nutricional de helicônia irrigada com água residuária tratada em casa de vegetação. *Agriambi*. **16**, 820-827.

Sbrissia, A.F., Da Silva, S.C. e Júnior, D.d.N. (2007). Ecofisiologia de plantas forrageiras e o manejo do pastejo. 27 p.

Segatto, F.B., Bisognin, D.A., Benedetti, M., Da Costa, L.C., Rampelotto, M.V. e Nicoloso, F.T. (2004). Técnica para o estudo da anatomia da epiderme foliar de batata. *Ciência Rural*. **34**, 1597-1601.

Selim, Sh.M., Zayed, M.S. e Atta H.M. (2012). Evaluation of phytotoxicity of compost during composting proces. *Nature and Science.* **10**(2), 69-77.

Serrão de Sousa, G.N.S. (2009). O diagnóstico de uma ETAR como suporte à decisão para a reutilização do efluente tratado – caso de estudo da ETAR de Coruche. Dissertação de mestrado em Engenharia do Ambiente. Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, Lisboa.

Selecções do Reader's Digest. (1983). Segredos e virtudes das plantas medicinais. 463 p.

Sesták, Z., Castky, J. e Jarvis, P.G. (1971). Plant photosynthetic production: Manual of methods. Dr. W. Junk Publs., The Hagge.818 p.

Simões, C., Rosmaninho, I. e Henriques, A. (2008). Guia para a Avaliação de Impacte Ambiental de Estações de Tratamento de Águas Residuais. Agência Portuguesa do Ambiente. 92 p.

Singleton, V.L. e Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-pohosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, ***16***, 144-158.

Sun, T., Yuan, H., Cao, H., Yazdani, M., Tadmor, Y. e Li, L. (2017). Carotenoid Metabolism in Plants: The Role of Plastids. *Molecular Plant*. 42 p.

Taiz, L. e Zeiger, E., (2006). Plant Physiology, fourth ed. Sinauer Associates, Inc., USA.764 p.

Tavares, I. (2006). Avaliação da qualidade do efluente da ETAR do Guadiana para reutilização. Relatório de projeto. Instituto Politécnico de Beja, Beja.

Vandenbussche, M., Chambrier, P., Rodrigues Bento, S. e Morel, P. (2016). Petunia, Your Next Supermodel? *Frontiers in Plant Science.* **7**, 11 p.

Vaz, A. (2016). Caracterização microbiológica e físico-química da ETAR da Ribeira de Frades e de uma instalação piloto como forma de avaliar o seu funcionamento. Dissertação de mestrado em Processos Químicos e Biológicos. Instituto Superior de Engenharia de Coimbra, Coimbra.

Von Caemmerer, S. e Farquhar, G.D. (1981). Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*. **153**, 376–387.

8. Anexos

Anexo 1 - Reta de Calibração da CQO

A figura A.1 indica a reta de calibração usada para determinar o valor da CQO obtida a partir da preparação de padrões de hidrogenoftalato de potássio. Esta reta permitiu a obtenção dos valores de CQO para as 2 amostras utilizadas neste estudo, a partir da leitura da absorvância a um comprimento de onde de 600 nm.

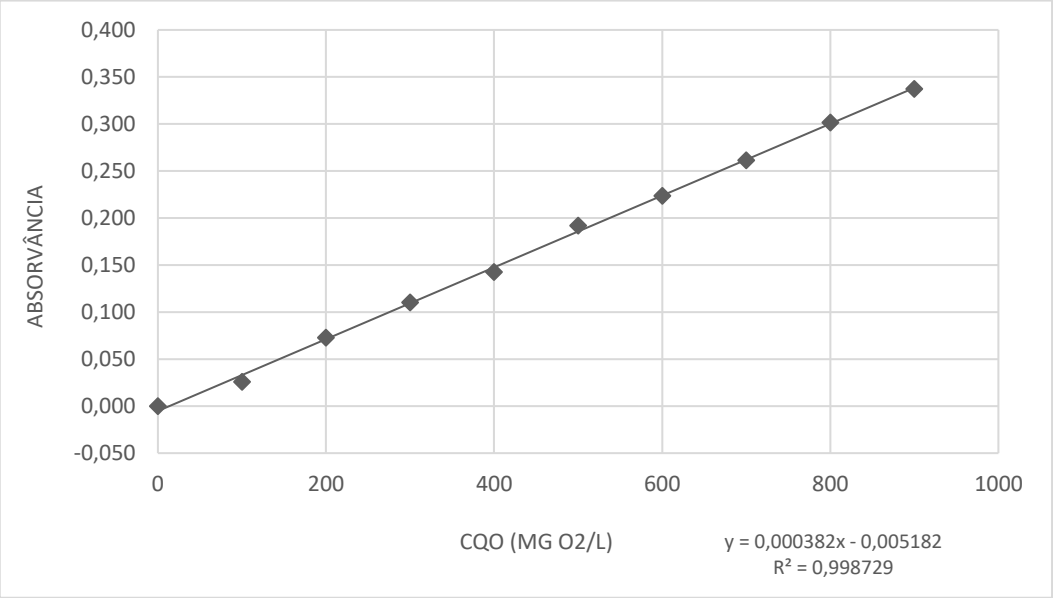

Figura A.1 - Representação gráfica da reta de calibração usada para determinar o valor da CQO.