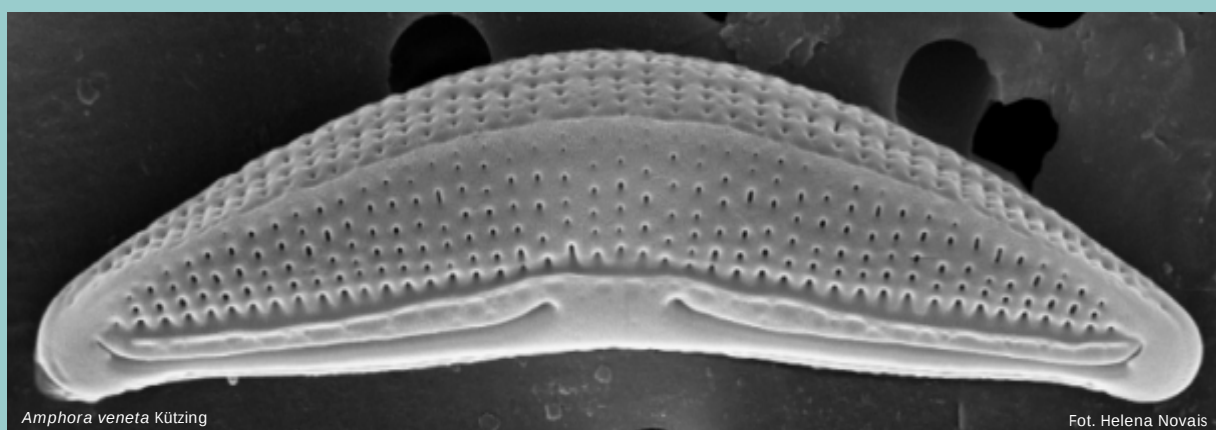




INSTITUTO
DA ÁGUA, I.P.

MANUAL PARA A AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DA QUALIDADE DA ÁGUA EM SISTEMAS FLUVIAIS SEGUNDO A DIRECTIVA QUADRO DA ÁGUA

Protocolo de amostragem e análise para o FITOBENTOS - DIATOMÁCEAS



Amphora veneta Kützting

Fot. Helena Novais

JANEIRO DE 2008

MINISTÉRIO DO AMBIENTE, DO ORDENAMENTO DO TERRITÓRIO
E DO DESENVOLVIMENTO REGIONAL

MANUAL PARA A AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DA QUALIDADE DA ÁGUA EM SISTEMAS FLUVIAIS SEGUNDO A DIRECTIVA QUADRO DA ÁGUA

Protocolo de amostragem e análise para o fitobentos-diatomáceas

Grupo de Trabalho:

Maria Manuela Morais (Coordenação)
Helena Novais
Ana Pedro
Susana Nunes
Teresa Rafael
Salomé Almeida
Sandra Craveiro
Francisco Barreto Caldas
António Rodrigues
Luísa Castro

Laboratório da Água, Universidade de Évora
Bolsista FCT - Laboratório da Água, Universidade de Évora
Laboratório da Água, Universidade de Évora
Laboratório da Água, Universidade de Évora
Bolsista FCT/UNL - Instituto da Água, I.P.
Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro
Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro
Departamento de Botânica, Universidade do Porto
Depto. de Ciências e Enga. Ambiental, Univ. Nova de Lisboa
Depto. de Ciências e Enga. Ambiental, Univ. Nova de Lisboa

Este documento deve ser citado do seguinte modo:

INAG, I.P. 2008. *Manual para a avaliação biológica da qualidade da água em sistemas fluviais segundo a Directiva-Quadro da Água-Protocolo de amostragem e análise para o fitobentos-diatomáceas*. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água, I.P.

Janeiro de 2008

MINISTÉRIO DO AMBIENTE, DO ORDENAMENTO DO TERRITÓRIO
E DO DESENVOLVIMENTO REGIONAL

Edição
Instituto da Água, I.P.

Coordenação
Maria Helena Alves

Produção gráfica
Carla Santos

Impressão e acabamento
Núcleo de Documentação
Divisão de Informação e Tecnologias
Departamento de Serviços Gerais
Instituto da Água, I.P.

Janeiro, 2008

ÍNDICE

1.	Introdução	1
1.1	Enquadramento	1
1.2	Valor indicador das diatomáceas bentónicas	2
2.	Amostragem	3
2.1	Época de amostragem	3
2.2	Material e equipamento	4
2.3	Seleccção de locais de amostragem	5
2.4	Procedimento de amostragem	7
2.4.1	Escolha do substrato	7
2.4.2	Recolha de amostras	8
3.	Tratamento laboratorial das amostras	14
3.1	Remoção do fixador	15
3.1.1	Material e equipamento	15
3.1.2	Procedimento	15
3.2	Oxidação da matéria orgânica	16
3.2.1	Método peróxido de hidrogénio	17
3.2.2	Método do permanganato de potássio	19
3.2.3	Método do ácido nítrico	20
3.3	Montagem de preparações definitivas	21
3.3.1	Material e equipamento	22
3.3.2	Reagentes	23
3.3.3	Procedimento	23
4.	Identificação taxonómica e quantificação	24
4.1	Material e equipamento	24
4.2	Aspectos preliminares à identificação	24
4.3	Procedimento de identificação e quantificação	26
5.	Armazenamento de preparações e de amostras	26
6.	Controlo de qualidade	27
6.1	Garantia da qualidade durante a amostragem	27
6.2	Garantia da qualidade em laboratório	28
6.3	Garantia da qualidade no tratamento de dados	29
7.	Referências bibliográficas	30
8.	Glossário	32
Anexo I - Ficha de Campo		
Anexo II - Ficha de Laboratório		
Anexo III - Bibliografia de Identificação		
Anexo IV - Lista de <i>taxa</i>		

1. Introdução

1.1 Enquadramento

No âmbito da Directiva nº 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Outubro de 2000 (Directiva Quadro da Água), transposta para a legislação nacional pela Lei da Água, Lei nº 58/2005, de 29 de Dezembro, e pelo Decreto-Lei nº77/2006, de 30 de Março, a qualidade das águas superficiais deixará de ser avaliada em função dos usos (Decreto-Lei nº236/98, de 1 de Agosto) e passará a ser avaliada por comparação com um estado ecológico de referência, baseado no conceito de "bom estado das águas de superfície".

O "bom estado" é determinado pelo "bom estado ecológico" e pelo "bom estado químico". O estado ecológico de uma massa de água superficial é expresso com base no "desvio ecológico" relativamente às condições de referência para o mesmo tipo de rio.

A classificação do estado ecológico de referência, em sistemas lóticos, será baseada nas condições hidromorfológicas, nas condições físico-químicas e nas condições biológicas. Estas últimas serão estabelecidas com base nos elementos de qualidade biológica, que incluem o fitoplâncton, o fitobentos, os macrófitos, os invertebrados bentónicos e a fauna piscícola.

Em Portugal, os organismos fitobentónicos têm apenas sido considerados em estudos universitários pontuais, em campanhas de amostragem realizadas no âmbito do Plano de Bacia Hidrográfica para as ribeiras do Algarve e num estudo efectuado nas regiões Norte e Centro da responsabilidade do Instituto da Água, I.P., não existindo nenhum método nacional que contemple a amostragem e o tratamento de amostras e que permita proceder a uma avaliação da qualidade ecológica de sistemas aquáticos.

Este documento tem como objectivo indicar as normas metodológicas para a amostragem e análise de um grupo específico do fitobentos em sistemas lóticos, de forma a estabelecer-se um método nacional a integrar nas futuras redes de monitorização da qualidade ecológica, nomeadamente, monitorização de vigilância, monitorização operacional e monitorização de investigação.

Uma vez que se pretende que o método seja expedito e que responda a alterações de qualidade, optou-se por considerar apenas o grupo das diatomáceas por ser o que melhor reflecte essas alterações.

O presente documento teve como base as normas europeias, EN 13946 (2003) *Water quality: Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms for rivers*, EN 14407 (2004) *Water quality: Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters* e a metodologia desenvolvida no âmbito do projecto europeu STAR - Standardization of River Classifications: Framework method for calibrating different biological surveys results against ecological quality classifications to be developed for the Water framework Directive (Contract Nº EVK1-CT 2001 – 00089).

Também foram tidas em consideração normas gerais de amostragem, nomeadamente a norma portuguesa, NP EN ISO 5667-2 (1996) *Qualidade da Água – Amostragem. Parte 2: Guia geral das técnicas de amostragem* e a norma EN 14996 (2006): *Water quality- Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*.

1.2 Valor indicador das diatomáceas bentónicas

As algas unicelulares são os principais produtores primários da maioria dos rios nas regiões temperadas, existindo diversas propostas para a sua utilização na monitorização ambiental (Whitton *et al.*, 1991). As diatomáceas bentónicas são consideradas, por diferentes investigadores, como essenciais na monitorização da qualidade ecológica devido às suas características específicas, nomeadamente: estarem presentes em abundância desde a nascente até à foz do rio, apresentando uma distribuição ubíqua que permite comparações entre diversos *habitats* apesar de algumas espécies e variedades apresentarem uma distribuição restrita (Whitton *et al.*, 1991), (Cox, 1991); evidenciarem uma relação clara com a qualidade da água, sendo algumas espécies utilizadas como indicadoras; não disporem de um ciclo de vida faseado que as ausentaria dos sistemas aquáticos; desenvolverem-se em *habitat* específico, bem definido e facilmente amostrável (Whitton *et al.*, 1991). Complementarmente, possuem parede celular siliciosa, o que evita a deterioração aquando da remoção dos substratos. Presentemente, recorrendo-se às modernas floras disponíveis, é possível proceder a uma identificação e quantificação relativamente rápida, facto que lhes confere uma vantagem acrescida em programas de monitorização (Round, 1991).

Devido às características apontadas, na Europa (Dell’Uomo, 2004; Dell’Uomo *et al.*, 1999; Whitton & Rott, 1996; Whitton *et al.*, 1991; Kelly & Whitton, 1995; Eloranta, 1999 e 1995; Van Dam *et al.*, 1994; Prygiel & Coste, 2000; Prygiel & Coste, 1993) e nos Estados Unidos (APHA, 1999; Barbour *et al.*, 1999) têm sido desenvolvidos índices de integridade biótica com o objectivo de identificar as pressões a que os

sistemas aquáticos estão sujeitos, nomeadamente, eutrofização, incremento de matéria orgânica, salinização e acidificação.

As comunidades de diatomáceas bentónicas respondem ao aumento de nutrientes (principalmente de azoto e de fósforo) na água, mediante alteração da sua composição que, na maioria dos casos, conduz a uma diminuição da diversidade e ao aumento da biomassa; razão pela qual, em sistemas eutróficos os substratos se apresentam cobertos de uma película verde acastanhada constituída por algas unicelulares. O aumento da matéria orgânica no sistema poderá provocar uma alteração funcional das algas, de autotróficas para hetrotróficas. Também o aumento de salinidade no sistema poderá provocar uma alteração da comunidade, passando esta a apresentar-se constituída apenas por espécies resistentes às novas condições. Em Portugal a acidificação não representa um problema para as bacias hidrográficas, apresentando a água um pH próximo de 7.

Convém referir contudo, que as diatomáceas bentónicas são pouco sensíveis a pressões hidromorfológicas (ex. alteração do regime hidrológico) sendo conveniente, nessas situações, recorrer a outro elemento biológico (macroinvertebrados ou macrófitos) de forma a detectar as pressões em causa.

2. Amostragem

2.1 Época de amostragem

A amostragem de diatomáceas bentónicas deve ser realizada em períodos de caudal constante, nunca após a ocorrência de forte precipitação que provoque uma elevada turvação da água e perturbação da comunidade. Recomenda-se que a amostragem seja efectuada em condições de visibilidade do substrato submerso (Figura 1), o que pode variar entre uma a duas semanas após a ocorrência de precipitação intensa.

As amostragens devem ser realizadas na mesma época do ano, de forma a minimizar a influência da variação sazonal na composição da comunidade de diatomáceas. Embora a amostragem possa ser efectuada em qualquer época do ano, recomenda-se a Primavera como época preferencial. A amostragem no Inverno não é aconselhável, uma vez que a taxa de crescimento das células é menor durante este período, o que se poderá traduzir em respostas de menor magnitude às condições ambientais. Para os rios temporários, será necessário ter em atenção a diminuição do caudal no final da Primavera, não sendo aconselhável efectuar a amostragem em situação lântica, sem caudal superficial. Para estes

sistemas recomenda-se, como época preferencial de amostragem, o início da Primavera.

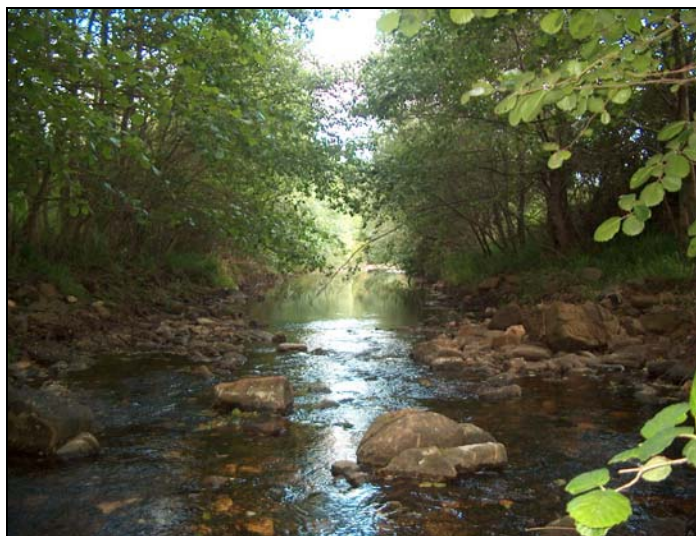


Figura 1. Boas condições para a amostragem de diatomáceas bentónicas - caudal constante com visibilidade do substrato submerso.

2.2 Material e equipamento

- Protecção pessoal:
 - vestuário impermeável ou vestuário apropriado para usar dentro de água;
 - botas de borracha;
 - luvas de látex (especialmente em rios potencialmente contaminados);
 - colete salva-vidas.
- Recolha de amostras:
 - escova de dentes dura para a remoção da película de diatomáceas do substrato grosseiro;
 - tabuleiro de plástico (aproximadamente 20x30 cm);
 - frascos de plástico de 250 ml;
 - água destilada (≈ 200 ml por amostra);
 - frasco de esguicho para água destilada;
 - solução de Lugol (0,33 %) ou solução tamponada de formaldeído a 4%;
 - fita própria para etiquetas;
 - ficha de campo;
 - mala térmica para guardar as amostras não fixadas.
- Medições complementares:
 - micromolinete ou outro tipo de correntómetro para medição da corrente;
 - GPS;
 - máquina fotográfica;

- aconselha-se ainda que, sempre que possível, no local de amostragem sejam medidas as variáveis indicadas na ficha de campo (temperatura da água, oxigénio dissolvido, pH, e condutividade.)

Normas de segurança

A solução de Lugol pode ser preparada através da dissolução de 2g de Iodeto de potássio e de 1g de cristais de Iodo em 300ml de água destilada ou desmineralizada. O líquido resultante deve ficar cor de chá. Esta solução deve ser guardada num frasco escuro e hermético de modo a minimizar a sublimação.

A solução tamponada de formaldeído (HCHO) a 4% é feita através da diluição de uma solução stock de formaldeído a 37% numa solução tamponada com pH 7 (a solução tamponada é utilizada para prevenir a dissolução das frústulas). Entre os tampões mais frequentes encontra-se cloreto de sódio, fosfato de sódio e hidróxido de sódio. Dada a natureza tóxica desta solução, em caso de utilização deve tomar-se algumas precauções, nomeadamente trabalhar em ambientes bem ventilados e usar luvas. O uso de máscara protectora das vias respiratórias é aconselhável.

A solução tamponada de formaldeído a 4% pode ser preparada através da diluição de aproximadamente 40mL de formaldeído (37%) em 960 mL de água destilada. A esta solução acrescenta-se 1,6 g de cloreto de sódio ou 1,8 g de fosfato de sódio ou 1,44 g de hidróxido de sódio.

2.3 Selecção de locais de amostragem

A selecção dos locais de amostragem deve ter em conta algumas características por forma a permitir efectuar comparações entre amostragens realizadas em diferentes tipos de rios. Desta forma, deve ser seleccionado um troço (aproximadamente 50m) que preferencialmente inclua zonas:

- i) com substrato grosseiro;
- ii) de fluxo turbulento com velocidade de corrente entre 10-50 cm/s;
- iii) não ensombradas e com luminosidade semelhante.

Caso se trate de um troço maioritariamente ensombrado (< a 25% de luminosidade) a amostragem deve ser realizada nessas condições.

No caso de troços de rios sem fluxo turbulento onde o substrato fino é dominante (areia, limo e argila) mas em que as rochas, os blocos, as pedras ou o cascalho

estão presentes em mais de 10% do substrato total, deve-se seleccionar estes últimos como o substrato a amostrar. Se unicamente existir substrato fino (areia, limo e argila), a amostragem deve ser efectuada em substratos artificiais (ver 2.4.2, Amostragem em substrato artificiais), ou, em último caso, na vegetação aquática presente (ver 2.4.2, Amostragem em vegetação aquática).

Os troços de amostragem devem ser fotografados e geo-referenciados (GPS). Deve ainda ser preenchida a ficha de campo que se apresenta no Anexo I, onde se devem registar as características do troço (Figuras 2 e 3).



Figura 2. Preenchimento da Ficha de Campo.



Figura 3. Medição da velocidade da corrente.

2.4 Procedimento de amostragem

A estratégia de amostragem a utilizar em cada local, depende do substrato presente e das condições do fluxo, devendo ser seleccionada de acordo com os critérios definidos em 2.4.1.

Normas de segurança

A amostragem de diatomáceas bentónicas em rios deve ser feita por equipas com um mínimo de duas pessoas. Os técnicos de amostragem devem utilizar calçado e vestuário adequado, assim como colete salva-vidas.

Em rios que se suspeite estarem contaminados, por motivos de segurança, a amostragem deve ser efectuada com luvas de borracha. Esta norma visa proteger as mãos de eventuais ferimentos, para além de prevenir problemas de saúde resultantes do contacto directo com águas contaminadas. É aconselhável, no final, proceder à desinfecção das mãos com álcool etílico. Sempre que a amostragem se efectuar em rios com corrente forte é obrigatório o uso de coletes salva-vidas.

2.4.1 Escolha do substrato

A amostragem deve ser preferencialmente realizada em substrato grosseiro (em local com fluxo turbulento). No caso de não existir substrato grosseiro, deve-se recorrer a substratos artificiais e em último caso à vegetação aquática submersa presente no local.

O substrato grosseiro compreende: blocos (dimensões superiores a uma folha A4); pedras (dimensões compreendidas entre um ovo de galinha e uma folha A4) e cascalho (dimensões inferiores a um ovo de galinha).

Qualquer substrato grosseiro que esteja coberto com algas filamentosas deve ser tratado com cuidado. Quando as algas filamentosas atingem um grau de desenvolvimento grande e cobrem por completo a superfície do substrato grosseiro, deverão ser amostradas para recolha de diatomáceas epifíticas (ver 2.4.2 Amostragem em vegetação aquática/algas filamentosas).

2.4.2 Recolha de amostras

Amostragem em substrato grosseiro

O objectivo desta amostragem é a recolha de diatomáceas epilíticas. As pedras são preferidas em relação aos blocos, uma vez que são mais fáceis de manusear. Em alternativa, na ausência de pedras, o cascalho poderá ser utilizado.

Em cada local de amostragem devem ser amostradas no mínimo 5 pedras para que a área amostrada (incluindo apenas a superfície colonizada) cubra aproximadamente 100 cm² (Figura 4). As pedras devem ser seleccionadas ao acaso em zonas de fluxo turbulento, preferencialmente não ensombradas (ver 2.1 Selecção de locais de amostragem), entre aquelas que possuam uma película de tonalidade acastanhada, que se espera ser de diatomáceas e excluindo todas as que estão cobertas com algas filamentosas. Quando não existem pedras, deve ser amostrada quantidade necessária de cascalho de forma a perfazer 100 cm² de superfície amostrada.



Figura 4. Colheita de pedras para amostragem de diatomáceas epilíticas.

Método:

- 1) seleccionar pedras que estejam submersas e preferencialmente situadas em zona de fluxo turbulento (a uma profundidade entre 10 e 30 cm); recolher o material seleccionado e colocá-lo na margem do rio com a superfície colonizada voltada para cima;
- 2) raspar a superfície colonizada das pedras, uma a uma, com uma escova de dentes dura para dentro de um tabuleiro com o cuidado de ir lavando o material raspado com água limpa do rio ou com água destilada. *(Nota: a lavagem pode ser efectuada com água do local, dado que a contaminação com algas*

planctónicas é insignificante e faz diminuir o volume de água destilada a transportar para o campo) (Figura 5);

- 3) homogeneizar a mistura e deitar para um frasco de 250 ml, evitando apenas os detritos mais pesados que se precipitam quase instantaneamente. Desta forma, é obtida uma única amostra composta que conterá, entre outros organismos, diatomáceas do substrato amostrado (Figuras 6 e 7);
- 4) adicionar de imediato umas gotas de fixador (solução de Lugol 0,33%) até a amostra adquirir uma cor de chá forte ou uma solução de formaldeído a 4%. Este procedimento deve ser sempre efectuado, mesmo que se tenha recolhido outra amostra para ser tratada num curto espaço de tempo no laboratório (sempre inferior a 24 horas) (Figura 8);
- 5) etiquetar todas as amostras com uma fita autocolante em volta do frasco. A etiqueta deve conter a seguinte informação: Instituição (designação da Instituição responsável pela amostragem); local de amostragem (código, designação), curso de água (designação), coordenadas geográficas (GPS), data da amostragem (aa-mm-dd), equipa de amostragem (identificação dos técnicos de amostragem), tipo de substrato amostrado;
- 6) guardar as amostras no frio (4 °C) e às escuras, no caso de não terem sido fixadas;
- 7) lavar cuidadosamente todo o material utilizado durante a recolha das amostras com água do rio e água destilada, de forma a prevenir uma possível contaminação das amostras seguintes.

Em alguns rios, o substrato grosseiro (que inclui blocos, pedras e cascalho), nas zonas de fluxo turbulento, apresenta-se parcialmente coberto por algas filamentosas. A recolha de diatomáceas nestas condições poderá conduzir a uma amostra composta por uma mistura de diatomáceas epilíticas e epifíticas. Nestas condições deve proceder-se à remoção das algas filamentosas com a mão e agitar cuidadosamente a pedra dentro de água do rio para retirar algumas contaminantes epifíticas, procedendo-se em seguida à remoção do material agarrado ao substrato como descrito anteriormente.



Figura 5. Raspagem de pedras para obtenção de diatomáceas epilíticas.



Figura 6. Armazenamento da amostra de diatomáceas e água destilada em franco



Figura 7. Amostra composta contendo água e diatomáceas do substrato amostrado.



Figura 8. Fixação da amostra com solução de Lugol (0,33%).

Amostragem em substratos artificiais

A amostragem em substratos artificiais contempla a possibilidade de utilizar estruturas artificiais como pilares de pontes e cais (desde que não sejam de madeira), devendo-se raspar uma área equivalente a 100 cm². Quando essas estruturas não estão presentes, os substratos artificiais devem ser colocados no leito do rio na zona do canal (preferencialmente em zona com fluxo turbulento) por tempo suficiente para assegurar que a comunidade atinja um estado de maturação (Figura 9). Como mínimo recomenda-se 4 semanas antes da amostragem. Todavia, o período de exposição depende das condições ambientais, devendo este ser alargado em algumas circunstâncias, nomeadamente em condições oligotróficas, em situações de baixas temperaturas e em locais muito ensombrados. Os substratos artificiais devem apresentar superfícies heterogéneas, tais como telhas, tijolos, ou pedaços destes com dimensões equivalentes a pedras (dimensões compreendidas entre um ovo de galinha e uma folha A4) ou cascalho (dimensões inferiores a um ovo de galinha). Deve-se evitar utilizar substratos com superfícies lisas tais como pedaços de vidro.

Deve-se ter sempre em atenção o local de colocação dos substratos no leito do rio, não devendo ser seleccionados locais que possam interferir com as actividades legítimas de utilização do rio, minimizando sempre possíveis actos de vandalismo. Os substratos a colocar no leito do rio devem ser em número sempre superior à área que posteriormente se pretende amostrar (100 cm²) para compensar possíveis perdas devido a fenómenos naturais de enxurrada ou actos de vandalismo. Propõe-se assim que os substratos colocados no leito do rio cubram uma área de 200 a 300 cm², dispostos aleatoriamente de uma forma não contínua.



Figura 9. Colocação de substratos artificiais no leito do rio.

Quando se utilizam substratos artificiais num mesmo curso de água, é importante que os substratos sejam expostos às mesmas condições, utilizando também o mesmo período de tempo de exposição no leito do rio.

Após o período de exposição no leito do rio (4 semanas no mínimo), os substratos artificiais devem ser amostrados em número suficiente, de forma a que a área amostrada (incluindo apenas a superfície colonizada) cubra aproximadamente 100 cm². Os substratos artificiais devem ser seleccionadas ao acaso, entre todos os que possuam uma película acastanhada que indica a predominância de diatomáceas e excluindo os que estão cobertos com algas filamentosas.

Método:

Após a colheita das diatomáceas em substratos artificiais o método é idêntico ao estabelecido para a amostragem em substrato grosseiro.

Amostragem em vegetação aquática

Em troços de rios com características mais lânticas e com substrato fino (areia, limo e argila) é frequente a existência de um abundante crescimento de vegetação aquática. Nestas condições é possível amostrar a comunidade de diatomáceas epifíticas em macrófitos submersos (Figura 10), em macrófitos emergentes e em algas filamentosas. Alguns especialistas consideram inadequado este tipo de substrato por ser determinante do tipo de diatomáceas que aparece, sendo preferível limitar a amostragem a substratos duros naturais ou artificiais.

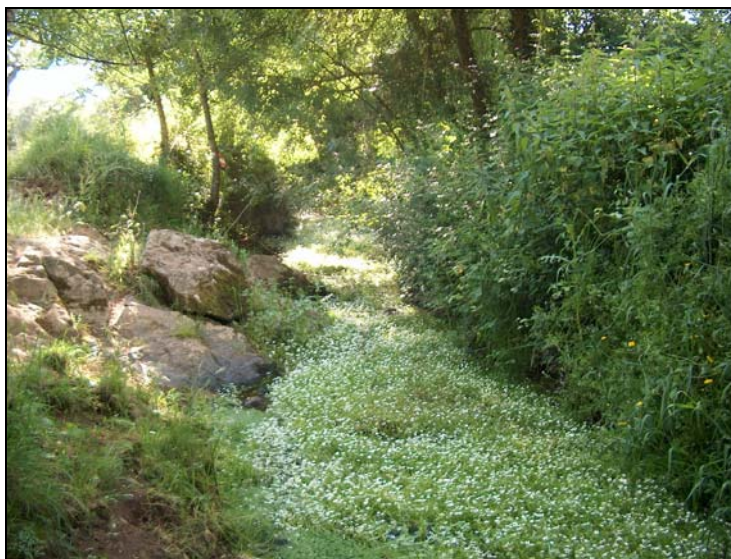


Figura 10. Aspecto de um troço de rio onde a amostragem de diatomáceas deverá ser efectuada em macrófitos

Macrófitos submersos

Método:

- 1) em primeiro lugar deve proceder-se a uma estimativa da abundância dos macrófitos submersos presentes, em percentagem, registando esses valores na ficha de campo. No caso de existirem espécies diferentes de macrófitos, deve proceder-se à recolha de uma amostra composta, tendo em conta a abundância relativa de cada espécie;
- 2) proceder, de seguida, à recolha da amostra para um tabuleiro que contenha água destilada ou água do próprio rio. A recolha poderá ser efectuada por corte com tesoura de partes seleccionadas dos diferentes macrófitos presentes ou por corte com a mão de uma porção considerável no caso de apenas existir uma única espécie;
- 3) lavar no tabuleiro e espremer com a mão os macrófitos por forma a desprender as diatomáceas epifíticas. Decantar a suspensão obtida para um frasco com 250 ml de capacidade;
- 4) proceder de forma idêntica aos pontos 4), 5), 6) e 7) do procedimento amostragem em substrato grosseiro.

Os macrófitos amostrados devem ser guardados para futura confirmação da identificação, se necessário.

Macrófitos emergentes

Método:

Em macrófitos emergentes, as amostras só devem ser recolhidas em partes que permaneçam permanentemente submersas mas que não estejam contaminadas por sedimentos de fundo. Nestes casos devem-se cortar os talos que se encontram abaixo do nível da água, procedendo do seguinte modo:

- 1) cortar o talo próximo do substrato de fundo;
- 2) colocar o talo num tabuleiro com água destilada ou com água do próprio rio e raspar com uma escova de dentes o material agarrado para dentro do tabuleiro;
- 3) decantar a suspensão obtida para um frasco com 250 ml de capacidade;
- 4) proceder de forma idêntica aos pontos 4), 5), 6) e 7) do procedimento amostragem sem substrato grosseiro.

Os macrófitos amostrados devem ser guardados para futura confirmação da identificação, se necessário.

Algas filamentosas

Método:

É preferível evitar a amostragem de algas filamentosas, uma vez que nestes casos as diatomáceas aparecem dominadas por *Cocconeis* com um valor indicador de qualidade reduzido. Em todo o caso, em locais que apresentem extensos mantos de algas filamentosas, recomenda-se a sua recolha efectuada do seguinte modo:

- 1) colher uma porção de algas filamentosas para um frasco com 250 ml de capacidade;
- 2) adicionar água destilada ou água do próprio rio;
- 3) proceder de forma idêntica aos pontos 4), 5), 6) e 7) do procedimento amostragem em substrato grosseiro.

3. Tratamento laboratorial das amostras de diatomáceas

As amostras devem ser guardadas em lugar escuro e fresco até à chegada ao laboratório onde devem ser armazenadas nas mesmas condições. As amostras fixadas devem ser preservadas pelo menos durante dois anos. Em amostras fixadas com Lugol, devem-se adicionar, periodicamente, umas gotas do fixador para que a amostra mantenha a cor de chá.

O tratamento das amostras inclui a remoção do fixador, a oxidação da matéria orgânica celular e a montagem de preparações definitivas para observação microscópica.

Normas de segurança

Todo o procedimento laboratorial deve ser feito com luvas numa "hotte", uma vez que os ácidos podem provocar queimaduras graves e quando inalados são lesivos para as vias respiratórias, provocando os seus vapores irritabilidade das mucosas oculares. O uso de máscara protectora das vias respiratórias é aconselhável.

3.1 Remoção do fixador

O fixador deve ser removido antes de se iniciar a oxidação da matéria orgânica das frústulas.

3.1.1 Material e equipamento

- centrífuga;
- tubos de centrífuga (10ml e 30 ml);
- lâminas;
- pipetas (5-10 ml);
- microscópio óptico equipado com objectiva de 100x

3.1.2 Procedimento

- 1) homogeneizar a amostra;
- 2) retirar uma pequena quantidade de amostra (equivalente ao volume de um tubo de centrífuga) para um tubo;
- 3) centrifugar a 1500 rpm durante 5 minutos (Figura 11);
- 4) eliminar o sobrenadante, adicionar água destilada e voltar a centrifugar (ou a decantar) (Figura 12);
- 5) repetir os procedimentos anteriores (3 e 4) as vezes necessárias até a amostra se mostrar límpida, sem resíduos de fixador.

Deve guardar-se sempre uma parte da amostra para se poder repetir o procedimento caso ocorram problemas durante o processo de preparação das lâminas.



Figura 11. Tratamento laboratorial – centrifugação para a remoção do fixador.



Figura12. Tratamento laboratorial – remoção do fixador.

3.2 Oxidação da matéria orgânica

Para se proceder a uma identificação adequada das diatomáceas é necessário eliminar todo o conteúdo celular (Figuras 13 e 14). Este processo é efectuado expondo a amostra a agentes oxidantes fortes, existindo para tal diferentes métodos. Neste protocolo apresentam-se três métodos eficientes para a oxidação da matéria orgânica.



Figura 13. Tratamento laboratorial – oxidação da matéria orgânica I



Figura 14. Tratamento laboratorial – oxidação da matéria orgânica II

3.2.1 Método do peróxido de hidrogénio

Material e equipamento

- Protecção pessoal:
 - luvas;
 - máscara protectora.
- Oxidação da matéria orgânica:
 - centrífuga;
 - tubos de centrífuga (10ml e 30 ml) ou tubos SKALAR;

- pipetas (5-10 ml);
- pipetas de Pasteur;
- erlenmeyers;
- frascos de 50 ml;
- placa de aquecimento ou banho de areia.

Reagentes

- peróxido de hidrogénio (H_2O_2 a 35-40%);
- ácido clorídrico (HCL a 37%);
- água destilada.

Procedimento

- 1) homogeneizar a amostra agitando e transferindo cerca de 2ml da suspensão para um tubo de centrífuga (capacidade 30 ml) ou para um tubo SKALAR. Se a amostra contiver material calcário este deve ser removido, devendo adicionar-se umas gotas de ácido clorídrico até se observar efervescência. Adicionar 8 a 10 ml de peróxido de hidrogénio;
- 2) aquecer os tubos utilizando um banho de areia a uma temperatura de aproximadamente 90° C; manter os tubos no banho de areia durante cerca de 48 horas, dependendo da quantidade de matéria orgânica presente. Em alternativa utilizar uma placa de aquecimento durante 15 a 30 m;
- 3) retirar os tubos do banho de areia e deixar sedimentar o material em suspensão;
- 4) retirar o sobrenadante (peróxido de hidrogénio) utilizando uma pipeta ou uma bomba de água;
- 5) adicionar 1 ml de ácido clorídrico (37%), deixar reagir a frio durante cerca de 2 horas e adicionar água destilada;
- 6) deixar sedimentar o material em suspensão (cerca de 1 hora por cada centímetro de amostra no tubo) retirar o sobrenadante e adicionar novamente água destilada. Esta lavagem repete-se mais duas ou três vezes;
- 7) transferir para um frasco onde se armazena a amostra oxidada.

3.2.2 Método do permanganato de potássio

Material e equipamento

- Protecção pessoal:
 - luvas;
 - máscara protectora.
- Oxidação da matéria orgânica:
 - centrífuga;
 - tubos de centrífuga (10ml e 30 ml);
 - pipetas (5-10 ml);
 - pipetas de Pasteur;
 - erlenmeyers;
 - frascos de 50 ml;
 - placa de aquecimento.

Reagentes

- ácido clorídrico (HCl, 1M);
- ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado;
- permanganato de potássio (KMnO₄) em cristais (0,1-05g por amostra) ou uma solução saturada de permanganato de potássio (1-2ml por amostra);
- ácido oxálico saturado (C₂H₂O₄), preparado da seguinte forma: (i) dissolver aproximadamente 10 g de cristais de ácido oxálico em 100ml de água destilada ou água desmineralizada, a quente agitando suavemente; (ii) deixar arrefecer; (iii) no final devem depositar-se cristais de ácido oxálico, caso contrário deve adicionar-se mais ácido oxálico e repetir o processo de aquecimento e arrefecimento;
- água destilada.

Procedimento

- 1) homogeneizar a amostra agitando e transferindo cerca de 5-10ml da suspensão para um tubo de centrífuga (capacidade 30 ml). Se a amostra contiver material calcário este deve ser removido, devendo adicionar-se umas gotas de ácido clorídrico até se observar efervescência. Adicionar água destilada e centrifugar. Eliminar o sobrenadante;

- 2) transferir o centrifugado (sedimento) para um erlenmeyer e adicionar cuidadosamente 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Este procedimento pode ser feito a quente sobre uma placa de aquecimento;
- 3) deixar arrefecer e adicionar aproximadamente 0,1 g de permanganato de potássio em cristais (ou algumas gotas de uma solução saturada de permanganato de potássio), agitando suavemente até se dissolverem completamente todos os cristais. Nesta fase a amostra adquire uma cor arroxeada;
- 4) adicionar suavemente 10 ml de ácido oxálico saturado, o que provoca efervescência;
- 5) adicionar água destilada e centrifugar a 3000 rpm durante 5 min;
- 6) eliminar o sobrenadante;
- 7) adicionar água destilada e agitar. Repetir a centrifugação mais 3 vezes com água destilada de forma a eliminar todos os ácidos. No final deve-se verificar o pH com papel indicador. Quando o sobrenadante tiver um pH neutro, misturar o centrifugado numa pequena quantidade de água destilada e transferir para um frasco.

3.2.3 Método do ácido nítrico

Material e equipamento

- Protecção pessoal:
 - luvas;
 - máscara protectora.
- Oxidação da matéria orgânica:
 - centrífuga;
 - tubos de centrífuga (10ml e 30 ml);
 - suporte para tubos de centrífuga;
 - pipetas (5-10 ml);
 - pipetas de Pasteur;
 - frascos de 50 ml;
 - mola de madeira;
 - espátula;

- pompete;
- lamparina.

Reagentes

- ácido nítrico (HNO_3) concentrado;
- dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{C}_{12}\text{O}_7$) em cristais;
- água destilada.

Procedimento

- 1) retirar cerca de 2 ml da amostra para um tubo de centrífuga;
- 2) adicionar 8 a 10 ml de ácido nítrico;
- 3) adicionar alguns cristais de dicromato de potássio com a ajuda de uma espátula;
- 4) agitar a mistura com cuidado até à completa dissolução dos cristais de dicromato de potássio; nesta altura a mistura adquirirá uma tonalidade alaranjada;
- 5) deixar oxidar a mistura, à temperatura ambiente, durante cerca de 24 horas ou aquecer os tubos de ensaio à chama até à oxidação completa (pode demorar de alguns minutos a cerca de meia hora);
- 6) concentrar as amostras oxidadas, centrifugando durante 5 minutos a 1500 rpm;
- 7) eliminar o sobrenadante;
- 8) juntar água destilada e centrifugar novamente. Esta lavagem repete-se mais duas ou três vezes;
- 9) transferir para um frasco onde se armazena a amostra oxidada.

3.3 Montagem das preparações definitivas

A montagem de preparações definitivas requer experiência do técnico, não existindo regras rígidas, especialmente no que diz respeito à densidade da suspensão a usar.

A preparação de lâminas de boa qualidade requer que a suspensão final tenha uma densidade de células que permita a sua identificação e contagem, e que os factores que contribuem para uma distribuição não aleatória das células sejam minimizados (Figuras 15 e 16).



Figura 15. Tratamento laboratorial – montagem de preparações definitivas I.



Figura 16. Tratamento laboratorial – montagem de preparações definitivas II.

3.3.1 Material e equipamento

- pipetas (5-10 ml);
- pipetas de Pasteur;
- lâminas;
- lamelas;
- microscópio óptico equipado com objectiva de 40x;
- placa de aquecimento.

3.3.2 Reagentes

- meio de montagem para diatomáceas com um índice de refração > 1.6 (como por exemplo o *naphrax*).

3.3.3 Procedimento

- 1) agitar o frasco que contém a suspensão celular e observar à luz. Se a suspensão celular tiver um aspecto turvo ou leitoso, deve adicionar-se água destilada de forma a reduzir a concentração. No caso de não se observarem partículas em suspensão, deixar a suspensão depositar e posteriormente decantar cuidadosamente o líquido em excesso;
- 2) retirar um pouco de suspensão celular com uma pipeta de Pasteur deixando cair uma gota numa lamela (Figuras 14 e 15). Recomenda-se que a evaporação seja efectuada à temperatura ambiente, mas também pode ser efectuada num local quente e limpo durante aproximadamente 1 hora. Quando o líquido tiver evaporado observa-se uma camada fina branca-acinzentada;
- 3) testar a densidade das valvas através da observação ao microscópio óptico (ampliação de 400x), não devendo ser superior a 30 valvas por campo de visão. Para tal, a lamela deve ser colocada invertida em cima de uma lâmina. É de salientar, que amostras mais arenosas necessitam de ser mais diluídas para que as valvas não fiquem tapadas por partículas minerais. Se ocorrer alguma aglomeração de células, desde que todas as valvas sejam facilmente identificáveis e que o critério de densidade não seja ultrapassado, a preparação é aceitável;
- 4) diluir a amostra com água destilada, se a densidade for superior;
- 5) uma vez alcançada a densidade de valvas ideal, colocar uma gota do meio de montagem (*naphrax*) numa lâmina pré-aquecida e, de seguida, colocar a face da lamela contendo as diatomáceas em cima do meio de montagem. Aquecer a lâmina até que o *naphrax* se espalhe e forme bolhas. Pressionar levemente para remover as bolhas de solvente. Repetir esta operação 3 a 4 vezes e em seguida deixar arrefecer. No final, deve assegurar-se que a lamela está bem fixa e voltar, novamente, a confirmar a densidade das valvas ao microscópio;
- 6) preparar três lâminas por cada amostra, uma para análise e duas de reserva (ver Figuras 14 e 15).

As lâminas, os frascos que contêm a suspensão e as amostras originais devem ser etiquetadas com a seguinte informação:

- Instituição (designação da Instituição que realizou a preparação)
- Local de amostragem (código, designação)
- Curso de água (designação)
- Data da amostragem
- Nome do técnico que efectuou a preparação

4 Identificação taxonómica e quantificação

4.1 Material e equipamento

- microscópio óptico de campo claro equipado com objectiva de imersão (100x). O microscópio deve possuir contraste de fase, devendo estar equipado com uma ocular com escala (ocular micrométrica) com resolução de 1µm como mínimo;
- micrómetro objectivo: preparação que tem inscrita uma distância conhecida com divisões e subdivisões para poder calibrar a ocular micrométrica;
- óleo de imersão e aplicador;
- ficha de laboratório para registar as espécies identificadas e as respectivas contagens (ver Anexo II);
- guias de identificação e bibliografia de referência para identificação taxonómica das espécies de diatomáceas (ver Anexo III);
- meios que possibilitem adquirir fotografias ou imagens das espécies difíceis de identificar.

4.2 Aspectos preliminares à identificação

No processo de identificação e quantificação deve ser utilizada a objectiva de 100x (objectiva de imersão), sendo conveniente que o microscópio possua contraste de fase. É importante, também, possuir uma ocular com escala, pois as medições são essenciais para a correcta identificação das diatomáceas, devendo esta ser calibrada regularmente com o micrómetro objectivo. É importante, embora não seja obrigatório, ter possibilidade de tirar fotografias ou adquirir imagens das

diatomáceas depois de focadas nas preparações definitivas, para, posteriormente, esclarecer dúvidas de identificação com especialistas.

Em cada amostra devem ser identificadas e contadas pelo menos 400 valvas com a objectiva de 100x, num microscópio óptico de campo claro (Figura 17). Convém recordar que uma frústula é formada por duas unidades de contagem, ou seja, duas valvas. A lâmina deve ser percorrida para que sejam observados campos sucessivos ao acaso de forma a que se evite a contagem de campos em duplicado. Deve-se evitar que os campos observados estejam na mesma zona da lâmina.



Figura 17. Identificação e quantificação de diatomáceas.

A identificação deve ser efectuada, pelo menos, até ao nível da espécie/variedade com base nos trabalhos de referência constantes no Anexo III, sem prejuízo de utilização de outra bibliografia da especialidade. Os dados de identificação e quantificação devem ser registados na ficha de laboratório apresentada no Anexo II.

De forma a eliminar erros de identificação devem ser excluídos das contagens todos os indivíduos que não se encontrem inteiros. Quando a preparação apresentar resíduos que impeçam uma visão clara, com ocultação de valvas, o processo de montagem da preparação deve ser repetido, utilizando suspensões mais diluídas.

A nomenclatura a usar deve estar de acordo a lista de *taxa* apresentada no Anexo IV.

4.3 Procedimento de identificação e quantificação

- 1) Colocar a preparação na platina do microscópio e anotar as informações referentes ao local de amostragem da preparação na ficha de laboratório;
 - 2) seleccionar uma boa posição da preparação para iniciar o processo de contagem. Recomenda-se começar na margem da “mancha” da amostra seca, devendo-se assegurar que não se produz um “efeito de margem” significativo (maior número de indivíduos na margem que em qualquer outra parte da preparação);
 - 3) identificar as valvas presentes no primeiro campo de visão utilizando uma objectiva de 100x. Se não se conseguir identificar uma valva, recomenda-se a obtenção de fotografias, imagens digitais ou desenhos detalhados. Deve-se nestes casos descrever o *taxon*, referindo: forma e dimensão; densidade de estrias; forma e tamanho da área central; número e posição dos estigmas; detalhe na finalização do rafe;
 - 4) uma vez identificadas e contadas as valvas do primeiro campo de visão, a preparação deve ser deslocada horizontal ou verticalmente para um novo campo de visão, e assim sucessivamente até se contarem 400 valvas.
- É aconselhável efectuar o estudo completo da preparação e incluir na ficha de laboratório qualquer *taxon* que não tenha sido identificado na contagem das 400 valvas. Também é útil fazer um rastreio da preparação com menor ampliação (400X) para detectar *taxa* de maiores dimensões que tenham escapado a observações efectuadas com grande ampliação (1000x).

5. Armazenamento de preparações e de amostras

As preparações de diatomáceas devem ser guardadas num porta lâminas para que no futuro possam ser observadas (Figura 18). Como anteriormente referido, também as suspensões limpas de valvas/frústulas devem ser guardadas em frascos de vidro de pequenas dimensões para que em caso de necessidade se possam efectuar novas preparações. De forma a prevenir o crescimento microbiano ou a dissolução química das frústulas, a suspensão limpa de valvas/frústulas deve ser fixada, utilizando para tal álcool a 70% ou formol a 4%. Também é recomendável guardar as amostras originais fixadas para, em caso de necessidade, comprovar resultados no futuro.



Figura 18. Armazenamento de preparações definitivas.

6. Controlo de qualidade

A Directiva nº 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Outubro de 2000, exige que os métodos propostos para a avaliação do estado ecológico estejam de acordo com as normas europeias standardizadas, e que os laboratórios responsáveis pela avaliação do estado ecológico, participem regularmente em exercícios de intercalibração.

Neste sentido, o presente documento teve como base as normas europeias, EN 13946 (2003) *Water quality: Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms for rivers*, EN 14407 (2004) *Water quality: Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters* e CEN TC230 N68 (2003) *Water quality: Guidance for routine sampling of benthic algae in shallow swift running waters*.

6.1 Garantia da qualidade durante a amostragem

A amostragem deverá ser programada em função do tipo de rio, tendo em consideração o substrato presente e o tipo de corrente. Para tal convém saber previamente o tipo a que pertencem os locais de estudo assim como as suas características morfológicas.

Por outro lado, antes de se dar início a qualquer campanha de amostragem, devem ser organizados cursos de formação dirigidos aos técnicos responsáveis pela amostragem, os quais devem incluir os procedimentos constantes no ponto 2 bem como o reconhecimento e classificação *in situ* do tipo de corrente, do tipo de

substrato, das características da galeria ribeirinha, do tipo de macrófitos, entre outras variáveis constantes na Ficha de Campo (Anexo I).

Durante as amostragens, de forma a garantir a qualidade da recolha das amostras e de informação pertinente deve ter-se em conta as seguintes recomendações:

- 1) preencher todos os campos obrigatórios da Ficha de Campo constante (Anexo I), tentando sempre que possível completá-la na sua integridade;
- 2) documentar fotograficamente os troços de amostragem. Este procedimento poderá ter grande importância para a identificação de tendências ao longo do tempo, por comparação de fotos do mesmo local de diferentes anos;
- 3) seleccionar o tipo de amostragem em função das características dos locais a amostrar;
- 4) seguir criteriosamente o ponto 2 deste documento relativo ao procedimento de amostragem.

6.2 Garantia da qualidade em laboratório

Em laboratório a garantia da qualidade prende-se com a preparação das amostras e com a identificação e contagem de diatomáceas.

A preparação de amostras poderá ser feita por técnicos analistas sem preparação específica para a identificação. Nesse sentido, de forma a garantir a qualidade das preparações, propõe-se a organização de cursos técnicos de formação, onde serão ensinados e experimentados os procedimentos referidos em 3.

A identificação e contagem de diatomáceas são tarefas que exigem a formação de técnicos especialistas. É nesta fase do processo que as incertezas são maiores e que ocorrem o maior número de erros. Nesse sentido aconselha-se à:

- 1) organização de cursos avançados sobre taxonomia de diatomáceas para especialistas;
- 2) elaboração de documentos (chaves dicotómicas para identificação de diatomáceas, atlas com fotografias e esquemas) e bases de dados que recolham informação sobre a taxonomia (fotografias e imagens) e sobre a distribuição e ecologia das espécies;
- 3) aplicação de medidas de controle de qualidade interna, tais como identificação e contagem da mesma amostra por diferentes técnicos do mesmo laboratório.

Analisar os resultados obtidos e estimar o nível de confiança interno do laboratório;

- 4) participação em ensaios de intercalibração entre laboratórios. Estimar o nível de confiança do laboratório. Este procedimento é fundamental na implementação do sistema de controlo e garantia da qualidade e é referido pela Directiva Quadro da Água.

6.3 Garantia da qualidade no tratamento de dados

Os dados obtidos, ao longo das diferentes fases por que passa uma amostra desde a sua recolha até ao processo final e identificação, devem ser manuseados com algum cuidado para que não se percam referências e seja sempre possível comparar a Ficha de Campo (Anexo I) com a Ficha de Laboratório (Anexo II).

Neste sentido, deve ter-se em conta as seguintes recomendações:

- 1) as designações a utilizar na Ficha de Campo (Anexo I) e na Ficha de Laboratório (Anexo II) devem ser coincidentes para que, em caso de dúvida, possam vir a ser confrontadas relativamente, por exemplo, a aspectos de ecologia das espécies;
- 2) guardar toda a documentação de campo e laboratório (amostras, fichas, fotografias) por um período nunca inferior a 5-6 anos;
- 3) organizar os dados em formato electrónico numa base de dados que tenha a informação constante nas Fichas de Campo e de Laboratório;
- 4) introduzir os inventários (espécies e contagens) na base de dados. Este processo de introdução deverá ser feito por um técnico e validado posteriormente por outro por forma a detectar erros na introdução de dados.

7. Referências bibliográficas

- APHA, American Public Health Association. 1999. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 10300 Periphyton*. Washington, 20th Edition.
- Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D., and Stribling J.B. 1999. *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Peryphyton, Macroinvertebrates and Fish*. Second Edition. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.
- Comissão Europeia. 2000. Directiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 23 de Outubro de 2000, que estabelece um Quadro de Acção Comunitária no Domínio da Política da Água. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias de 22 Dezembro de 2000*. L 327, p.1-72.
- COX E. J. 1991. *What is the basis for using diatoms as monitors of river quality?*. In: Use of Algae for Monitoring Rivers. Proceedings of the 1st European Workshop, editado por Whitton B. A., Rott E. & Friedrich G., Düsseldorf (Alemanha), pp. 33-40
- Dell'Uomo A. 2004. *L'Indice Diatomico di Eutrofizzazione/Polluzione (EPI-D) nel Monitoraggio delle Acque Correnti – Linee guida*. Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici, Roma, 101Pp.
- Dell'Uomo A., Pensieri A., Corradetti D. 1999. Diatomées épilithiques du fleuve Esino (Itale centrale) et leur utilisation pour l'évaluation de la qualité biologique de l'eau. *Cryptog Algol* 20: 253-269.
- Eloranta P. 1999. *Type and quality of rivers waters in central Finland described using diatom indices*. In: Marino, D. & Montresor, M. (Eds.). Proceedings of the 13th International Diatom Symposium. Koeltz Scientific Books, Koenigstein: 107-119.
- Eloranta P. 1995. *Applications of diatom indices in Finish rivers*. In: Prygiel J., Whitton B. A., Bukowska J. (Eds.). Use of Algae for Monitoring Rivers III. Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai:138-144.
- EN 13946. 2003. Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms for rivers. Comité Européen de Normalisation (CEN).

- EN 14407. 2004. Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. Européen de Normalisation (CEN).
- EN 14996. 2006. Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment. Comité Européen de Normalisation (CEN).
- Kelly M.B. e Whitton B.A. 1995. The trophic diatom index : a new index for monitoring eutrophication in rivers. *J. Appl. Phycol.*, 7, p. 433-444.
- NP EN ISO 5667-2. 1996. Qualidade da Água - Amostragem. Parte 2: Guia geral das técnicas de amostragem. Instituto Português de Qualidade.
- Prygiel J. & Coste, M. 1993. The assessment of water quality in the Artois-Picardie water basin (France) by the use of diatom indices. *Hydrobiologia*, 269-270: 343-349.
- Prygiel J. e Coste, M. 2000. *Guide Méthodologique por la mise en oeuvre de l'Indice Biologique Diatomées*. NF T90-394. Agence de L'eau Artois-Picardie, Cemagref Groupement de Bordeaux.
- Round F. E. 1991. *Use of diatoms for monitoring rivers*. In: *Use of Algae for Monitoring Rivers*. Proceedings of the 1st European Workshop, editado por Whitton B. A., Rott E. & Friedrich G., Düsseldorf (Alemanha), pp. 25-32
- STAR. 2002. *Standardisation of Biological River Classifications: Framework Method for Calibrating Ecological Quality Classification Systems. Sampling protocol and audit benthic diatoms*. Project: EVK1-CT-2001-00089.
- Van Dam H., Mertens A. e Sinkeldam J. 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28 (1): 117-133.
- Whitton B.A. e Rott, E. 1996. *Use of Algae for Monitoring Rivers II*. Proceedings of an International Symposium. Studia Student, Innsbruck.
- Whitton B.A., Rott E. e Friedrich G. 1991. *Use of Algae for Monitoring Rivers*. Studia Student, Innsbruck.

8. Glossário

Algas filamentosas – algas verdes do grupo Clorófitas que formam colónias filamentosas visíveis a olho nu.

Aspecto turvo ou leitoso – solução com aspecto esbranquiçado.

Blocos – substrato grosseiro com dimensões superiores a uma folha A4

Bom estado das águas de superfície – estado global em que se encontra uma massa de água superficial quando os seus estados ecológico e químico são considerados, pelo menos, “bons”.

Bom estado ecológico das águas de superfície – estado alcançado por uma massa de água superficial, classificado como “Bom”, ou seja, nestes casos os valores dos elementos de qualidade biológica apresentam baixos níveis de distorção, apenas se desviando ligeiramente dos definidos para condições não perturbadas do mesmo tipo de massa de água.

Bom estado químico das águas de superfície - estado químico alcançado por uma massa de água superficial em que as concentrações de poluentes cumprem as normas de qualidade ambiental.

Campo de visão – campo óptico do microscópio.

Canal – parte submersa do leito mas que poderá estar temporariamente exposta devido ao regime torrencial típico de cursos de água mediterrânicos, ou por períodos mais longos devido a determinadas condições naturais (geológicas, climáticas).

Cascalho – substrato grosseiro com dimensões inferiores a um ovo de galinha e superiores a um grão de café.

Caudal constante – caudal estável, típico do local, não se encontrando em situação de cheia nem em situação de reduzido escoamento.

Comunidade fitobentónica – comunidade de organismos autotróficos que vivem no substrato dos ecossistemas aquáticos; inclui diferentes tipos de algas e plantas aquáticas enraizadas.

Condições biológicas – condições biológicas para cada tipo de massa de água de superfície estabelecidas com base nos valores dos elementos de qualidade biológica.

Condições de referência – as condições de referência para cada tipo de massa de água de superfície são definidas através do estabelecimento de condições hidromorfológicas, físico-químicas específicas e biológicas num estado ecológico excelente, ou seja na ausência de alterações antropogénicas significativas.

Condições físico-químicas – condições físico-químicas para cada tipo de massa de água de superfície estabelecidas com base nos valores dos elementos de qualidade físico-química.

Condições hidromorfológicas - condições hidromorfológicas para cada tipo de massa de água de superfície estabelecidas com base nos valores dos elementos de qualidade hidromorfológica.

Correntómetro – equipamento que permite medir a velocidade de corrente *in situ*

Desvio ecológico – desvio do estado de uma massa de água superficial relativamente às condições de uma massa de água idêntica em condições de referência.

Diatomáceas – algas unicelulares também designadas por Bacillariophyceae, caracterizadas pela presença de uma parede celular siliciosa.

Diatomáceas epifíticas – espécies de diatomáceas que colonizam superfície da vegetação aquática.

Diatomáceas epilíticas – espécies de diatomáceas que colonizam os substratos grosseiros, superiores a 2 mm.

Espécie/variedade – variações taxonómicas da mesma espécie.

Estado ecológico de referência – expressão aplicada no âmbito da Directiva Quadro da Água relativa à qualidade estrutural e funcional dos ecossistemas aquáticos associados às águas de superfície nas condições de referência.

Fitobentos – organismos autotróficos que vivem associados a qualquer substrato de fundo dos ecossistemas aquáticos; inclui diferentes tipos de algas e plantas aquáticas enraizadas.

Fixador – solução que permite a preservação de amostras sem as danificar.

Fluxo turbulento – fluxo de água formado por pequenas ondas com altura superior a 1 cm que perturbam a superfície do espelho de água.

Frústulas – parede celular das diatomáceas composta por duas peças (valvas) que se encaixam como os pratos de uma caixa de *petri*, formadas por sílica.

GPS – acrónimo do inglês *Global Positioning System*; sistema de posicionamento por satélite que permite a determinação da posição de um receptor na superfície da Terra.

Índices de integridade biótica – índices numéricos calculado com base na constituição taxonómica da comunidade e que traduzem a influência da actividade humana sobre a comunidade.

Leito do rio – utilizado como sinónimo de leito aparente; designa o canal e a zona afectada pelas cheias anuais, que compreende geralmente a totalidade da galeria ribeirinha e da vegetação associada ao meio lótico;

Local de amostragem – área geográfica onde é seleccionado o troço de amostragem.

Macrófitos - todas as plantas visíveis (embora não necessariamente identificáveis) a olho nu, e que se encontram dentro de água, e em solos e ambientes encharcados ou húmidos. Podem incluir macroalgas, briófitos e plantas vasculares.

Meio de montagem para diatomáceas – solução utilizada para a montagem de preparações definitivas que permite a preservação da amostra e a sua observação ao microscópio.

Micromolinete – equipamento que permite estimar a velocidade da corrente com base em cálculos efectuados sobre elementos medidos *in situ*.

Monitorização de investigação – monitorização que tem como objectivo conhecer o motivo de eventuais excessos, identificar as causas de uma massa de água não atingir os objectivos ambientais e avaliar a magnitude e o impacto da poluição accidental.

Monitorização de vigilância – monitorização que tem como objectivo a avaliação geral da qualidade ecológica ao nível da bacia hidrográfica

Monitorização operacional – monitorização que tem como objectivos determinar o estado de massas de água que estão em risco de não atingir os objectivos ambientais ou onde são descarregadas substâncias prioritárias e avaliar as alterações do estado dessas massas resultantes dos programas de medidas.

Organismos fitobentónicos – equivalente a fitobentos.

Oxidação da matéria orgânica – processo através do qual se realiza a remoção do conteúdo celular das diatomáceas.

Pedras – substrato grosseiro com dimensões compreendidas entre um ovo de galinha e uma folha A4.

Preparações definitivas – preparações fixadas entre lamina e lamela utilizando um meio de montagem que permite a preservação das mesmas durante muito tempo.

Qualidade ecológica do sistema – é dada pelo desvio do estado da massa de água superficial relativamente às condições de uma massa de água idêntica em condições de referência.

Redes de monitorização da qualidade ecológica – conjuntos de estações de amostragem para a monitorização da qualidade ecológica.

Rios temporários – rios que não apresentam caudal superficial durante parte do ano. Em Portugal, normalmente de 2 a 4 meses durante o período de Verão

Sistemas lóticos – designação equivalente a curso de água; sistemas de água corrente com caudal superficial, tais como rios e ribeiras.

Situação lântica – situação com água parada, sem caudal superficial, em zonas remansadas de cursos de água ou em situação de interrupção do caudal superficial em rios temporários.

Substrato fino – material sedimentar com dimensões inferiores a 2 mm; engloba areias, argila e silte.

Substrato grosseiro – material sedimentar com dimensões superiores a 2 mm; engloba blocos, pedras e cascalho.

Troço – extensão de rio onde é realizada a amostragem do elemento biológico considerado o qual é referenciado com recurso a GPS. Este troço pode ter um comprimento diferente consoante o elemento biológico a amostrar.

Valvas – duas unidades que constituem uma frústula e que são objecto da identificação e contagem das diatomáceas.

ANEXOS

Anexo I - Ficha de campo (Fitobentos - diatomáceas)
A. Identificação do local de amostragem

1. Código
2. Designação do Local
3. Curso de água (designação)
4. Bacia Hidrográfica (designação)
5. Localização (distância a ponte, por ex.)
6. Coordenadas (GPS)
7. Data de Amostragem (aa-mm-dd)
8. Hora (início—fim)
9. Equipa de amostragem (identificação)
10. Condições atmosféricas
11. Outras informações

B. Caracterização do troço de amostragem

1. Tipo de substrato amostrado (assinalar uma opção)

Blocos ☐	Pedras ☐	Cascalho ☐	Estruturas artificiais feitas pelo homem ☐	Pedaços de tijolos ☐
Outros ☐ Quais? _____				
2. Velocidade da corrente (m/s): _____
 (quando não se dispõe de um medidor de velocidade da corrente, assinalar uma opção)

Mto Rápida ☐	Rápida ☐	Moderada ☐	Reduzida ☐	Sem Corrente ☐
-------------------------------------	---------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------------	---------------------------------------
3. Ensombramento (assinalar uma opção)

Ausente ☐	<30% ☐	30-60% ☐	>60% ☐
----------------------------------	-------------------------------	---------------------------------	-------------------------------
4. Tipo de Macrófitos

Algas Filamentosas ____%	Vegetação emergente ____%	Flutuantes enraizadas ____%	Vegetação submersa ____%
-----------------------------	------------------------------	--------------------------------	-----------------------------
5. Litologia (geologia) (assinalar uma opção)

Silicioso ☐	Calcário ☐	Orgânico ☐
------------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------------
6. Largura entre margens (assinalar uma opção)

1-5m ☐	5-10m ☐	10-20m ☐	>20m ☐
----------------------------------	-----------------------------------	------------------------------------	----------------------------------
7. Largura da água (assinalar uma opção)

< 1m ☐	1-5m ☐	5-10m ☐	10-20m ☐	>20m ☐
----------------------------------	----------------------------------	-----------------------------------	------------------------------------	----------------------------------
8. Profundidade da água (assinalar uma opção)

<0,25m ☐	0,25-0,5m ☐	0,5-1m ☐	>1m ☐
------------------------------------	---------------------------------------	------------------------------------	---------------------------------

Anexo I - Ficha de campo (Fitobentos - diatomáceas)

9. Transparência da água (assinalar uma opção) Transparente ☐ Turvo ☐ Muito turvo ☐

10. Continuidade da Galeria Ribeirinha (esquerda) (assinalar uma opção)

Contínua	Semi-cont.	Inter.	Esparsa	Ausente
☐	☐	☐	☐	☐

11. Continuidade da Galeria Ribeirinha (direita) (assinalar uma opção)

Contínua	Semi-cont.	Inter.	Esparsa	Ausente
☐	☐	☐	☐	☐

12. Modificações no canal
(v—presente, E—extensivo)

- ☐ Sem modificações
- ☐ Reseccionado
- ☐ Reforçado
- ☐ Aprofundado
- ☐ Deflectores
- ☐ Açudes/represas
- ☐ Outros _____

13. Modificações das margens
(v—presente, E—extensivo)

- ☐ Sem modificações
- ☐ Gabião
- ☐ Pastoreio
- ☐ Pisoteio
- ☐ Erosão
- ☐ Extracção de inertes
- ☐ Lixo
- ☐ Desmatação
- ☐ Canalização
- ☐ Outros _____

14. Fotografias Para montante
 Para jusante
 Sobre a secção

15. Observações (uso do solo, presença de lixo, espuma, mau cheiro, aspectos particulares)

16. Medições

T ar (°C)	
T água (°C)	
Condutividade (uS/cm)	
pH	
OD (%sat)	
OD (mg/L)	

Instruções para o preenchimento da Ficha de Campo das Diatomáceas

A. Identificação do local de amostragem

1. **Código:** indicar o código para a designação do local de amostragem.
2. **Designação do local:** indicar a designação do local de amostragem (ex. Moinho das Barcas).
3. **Curso de água:** indicar a designação do curso de água onde se situa o local de amostragem (ex. rio Guadiana).
4. **Bacia Hidrográfica:** indicar a designação da Bacia Hidrográfica à qual pertence o curso de água (ex. Bacia Hidrográfica do Guadiana).
5. **Localização:** indicar a localização do local de amostragem em relação a um referencial seleccionado (ex. distância a ponte).
6. **Coordenadas (GPS):** retirar as coordenadas do local de amostragem (ponto central do troço).
7. **Data da amostragem:** indicar a data da amostragem (aa-mm-dd).
8. **Hora:** indicar as horas do início e do fim da amostragem (início - fim).
9. **Equipa de amostragem:** identificar as pessoas que fazem parte da equipa de amostragem (Nota: por questões de segurança a amostragem deverá ser feita por equipas com um mínimo de duas pessoas).
10. **Condições atmosféricas:** indicar as condições de precipitação e de nebulosidade.
11. **Outras informações:** registar informações que se considerem importantes para a identificação do local de amostragem.

B. Caracterização do troço de amostragem

1. **Tipo de substrato amostrado:** indicar qual o substrato amostrado, de acordo com uma das seis opções presentes na Ficha de Campo:

- Blocos - >256 mm (> folha A4);
- Pedras - 64-256 mm (ovo de galinha < pedras < folha A4);
- Cascalho - 2-64 mm (grão de café < cascalho < ovo de galinha);
- Estruturas artificiais feitas pelo homem – contempla pilares de pontes, cais, muros em pedra, todo o tipo de estruturas desde que não sejam de madeira;
- Pedações de tijolos – indicar as dimensões aproximadas em relação com as dimensões do substrato grosseiro (blocos, pedras, cascalho);
- Outros substratos – outros substratos, tais como macrófitos.

2. **Velocidade da corrente (m/s):** medida no local de amostragem. Quando não se dispõe de um medidor de velocidade de corrente (micromolinete ou correntómetro), deve-se seleccionar uma das cinco opções indicadas na Ficha de Campo (muito rápida, rápida, moderada, reduzida, sem corrente).

3. **Ensombramento:** observado para o local de amostragem. Escolher uma opção de acordo com as quatro opções indicadas na Ficha de Campo (ausente; < 30%; 30-60%; > 60%)

4. **Tipo de macrófitos:** observado para o local de amostragem em termos de cobertura percentual. Escolher uma opção de acordo com as quatro opções indicadas na Ficha de Campo:

- Vegetação emergente - plantas com raízes, com as principais superfícies fotossintéticas projectando-se acima do nível da água;
- Flutuantes enraizadas – plantas enraizadas no leito do rio e com as folhas flutuantes (ex. *Ranunculus*);
- Vegetação submersa - plantas enraizadas ou fixadas, completamente submersas ou quase;
- Algas filamentosas – algas verdes que formam filamentos (ex. *Cladophora*).

5. **Litologia (geologia):** registar o tipo geológico, estimado para o local de amostragem. Seleccionar uma das três opções indicadas na Ficha de Campo

(silicioso, calcário ou orgânico). Em caso de dúvida consultar a carta Geológica de Portugal.

- 6. Largura entre margens:** larguras entre a margem esquerda e a margem direita no local da amostragem, registar o valor médio estimado para o local de amostragem, segundo quatro classes presentes na Ficha de Campo (1-5m; 5-10m; 10-20m; > 20m).
- 7. Largura da água:** largura do leito molhado no momento da amostragem, registar o valor médio estimado para o local de amostragem, segundo as cinco classes referidas na Ficha de Campo (< 1m; 1-5m; 5-10m; 10-20m; > 20m).
- 8. Profundidade da água:** no momento da amostragem, registar os valores médios estimados para o local de amostragem, segundo as quatro classes indicadas na Ficha de Campo (< 0,25m; 0,25-0,5m; 0,5-1m; $\geq$ 1m).
- 9. Transparência da água:** relacionada com a visibilidade do substrato submerso no momento da amostragem. Escolher uma das três opções presentes na Ficha de Campo:
 - Transparente – o substrato submerso é visível em todas as profundidades presentes no troço;
 - Turvo – ligeiramente turvo com sólidos suspensos moderados, o substrato submerso é difícil de visualizar;
 - Muito Turvo – grande quantidade de sólidos em suspensão, impossível visualizar o substrato submerso.
- 10. e 11. Continuidade da galeria ribeirinha:** formações lenhosas presentes no local da amostragem. Seleccionar uma das cinco classes presentes na Ficha de Campo:
 - Contínua – galeria sem interrupções;
 - Semi-contínua – galeria em mais de 75% de comprimento do troço;
 - Interrompida – galeria em mais de 50% de comprimento do troço;
 - Esparsa – galeria constituída por árvores isoladas;
 - Ausente – ausência de vegetação arbórea e/ou arbustiva
- 12. Modificações no canal:** no momento da amostragem, presentes no local de amostragem. Escolher uma opção de acordo com as sete designações presentes na Ficha de Campo (Sem modificações; Reseccionado; Reforçado;

Aprofundado; Deflectores; Açudes/represas; Outros). Indicar se a opção está presente pontualmente ou de uma forma extensiva ao longo do troço.

13. Modificações das margens: no momento da amostragem, presentes no local de amostragem. Escolher uma opção de acordo com as dez designações referidas na Ficha de Campo (Sem modificações; Gabião; Pastoreio; Pisoteio; Erosão; Extracção de inertes; Lixo; Desmatação; Canalização; Outros). Indicar se a opção está presente pontualmente ou de uma forma extensiva ao longo do troço.

14. Fotografias: tirar fotografias para montante, para jusante e sobre a secção do troço de amostragem. Registar o número de fotografias tiradas e as respectivas identificações na Ficha de Campo.

15. Observações: registar observações que se considerem importantes para caracterizar o troço de amostragem, tais como uso de solo nos terrenos marginais, presença de lixo, espuma, mau cheiro e aspectos particulares.

16. Medições: registar os valores de temperatura do ar e da água ($^{\circ}\text{C}$), de condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$), do pH e do oxigénio (% e mg/l). A medição destes parâmetros deve ser efectuada no local de amostragem, recorrendo a sondas apropriadas.

Anexo III – Bibliografia de Identificação

Krammer, K. & Lange-Bertalot, H., 1986-1991 - Bacillariophyceae. 1-4. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.

Bibliografia complementar

Germain, H., 1981 - *Flore des Diatomées. Diatomophycées d'Eaux Douces et Saumâtres du Massif Armoricaïn et des Contrées Voisines d'Europe Occidentale*. Ed. Boubée, Paris, 444 pp.

Lange-Bertalot, H., 1993 - *85 Neue Taxa und über 100 weitere neu definierte Taxa ergänzend zur Süßwasserflora von Mitteleuropa* Vol. 2/1-4. Bibliotheca Diatomologica 27. J. Cramer, Stuttgart, 393 pp.

Lange-Bertalot, H., 1996 - *Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs* Vol. 2. Indicators of Oligotrophy. 800 taxa representative of three ecologically distinct lake types. Koeltz Scientific Books. 390 pp.
ISBN: 3 87429 386 6

Lange-Bertalot, H., 2001 - *Navicula sensu stricto. 10 Genera separated from Navicula sensu stricto. Frustulia*. Lange-Bertalot, H. (Ed.). *Diatoms of Europe*, 2. A.R.G. Gantner Verlag Kommanditgesellschaft, Ruggell, 526 pp.

Krammer, K., 2000 - *The genus Pinnularia*. Lange-Bertalot, H. (Ed.). *Diatoms of Europe*, 1. A.R.G. Gantner Verlag Kommanditgesellschaft, Ruggell, 703 pp.

Krammer, K. e Lange-Bertalot, H., 2000 - *Bacillariophyceae*. Part 5: English and French translation of the keys. Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L. e Lokhorst, G.M. (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, 2/5. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 311 pp.

Krammer, K., 2002 - *Cymbella*. Lange-Bertalot, H. (Ed.). *Diatoms of Europe*, 3. A.R.G. Gantner Verlag Kommanditgesellschaft, Ruggell, 584 pp.

Krammer, K., 2003 - *Cymbopleura, Delicata, Navicymbula, Gomphocymbellopsis, Afrocymbella*. Lange-Bertalot, H. (Ed.). *Diatoms of Europe*, 4. A.R.G. Gantner Verlag Kommanditgesellschaft, Ruggell, 703 pp.

Round, F.E., Crawford, R.M., Mann, D.G., 1990 - *The Diatoms. Biology & Morphology of the genera*. Cambridge University Press. 747pp.
ISBN: 0 521 36318 7

Simonsen, R., 1987 - *Atlas and Catalogue of the Diatom Types of Friedrich Hustedt*. Vol. 1-3. J. Cramer, Berlin, 1741 pp.

Sims, P.A. (Ed.), 1996 - *An Atlas of British Diatoms*. Biopress Limited, Bristol, 601 pp.

Werum, M. & Lange-Bertalot, H., 2004 - *Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs* Vol. 13 Diatoms from Springs. Koeltz Scientific Books. 480 pp.
ISBN: 3 906166 14 7

Anexo IV – Lista de taxa

Código	Lista de taxa
AAMB	Aulacoseira ambigua (Grun.) Simonsen
ABIA	Achnanthes biasolettiana Grunow var.biasolettiana Grunow in Cleve & Grun.
ABIO	Achnanthes bioretii Germain(=Psammothidium)
ABSU	Achnanthes biasolettiana Grunow var.subatomus Lange-Bertalot
ACBO	Achnanthes clevei Grunow var. bottnica Cleve
ACHL	Achnanthes chlidanos Hohn & Hellerman
ACHS	Achnanthes sp.
ACLE	Achnanthes clevei Grunow var. clevei (=Karayevia)
ACON	Achnanthes conspicua A.Mayer
ADAU	Achnanthes dauui Faged var. dauui
ADEL	Achnanthes delicatula (Kutz.) Grun. ssp.delicatula Grunow in Cl. & Grun
ADEN	Achnanthes delicatula (Kutz.)Grun.ssp.engelbrechtii(Choln.)Lange-Bertalot
ADHA	Achnanthes delicatula (Kutz.) Grun. ssp.hauckiana Lange-Bertalot & Ruppel
ADST	Achnanthes distincta Messikommer
AEEL	Achnanthes exigua Grunow var.elliptica Hustedt
AEXG	Achnanthes exigua Grunow in Cl. & Grun.var. exigua
AEXI	Achnanthes exilis Kutzing
AFOR	Asterionella formosa Hassall
AGRN	Achnanthes grana Hohn & Hellerman
AHEL	Achnanthes helvetica (Hustedt) Lange-Bertalot, Kusber & Metzeltin
AHUN	Achnanthes hungarica Grunow in Cleve et Grun.
AIEL	Achnanthes inflata (Kutzing) Grunow var.elata (Leud.-Fortmorel) Hustedt
AINA	Amphora inariensis Krammer
AIPF	Achnanthes impexiformis Lange-Bertalot
ALAE	Achnanthes lanceolata(Breb.)Grunow var. elliptica Cleve
ALAN	Achnanthes lanceolata(Breb.)Grunow var. lanceolata Grunow
ALAO	Achnanthes lanceolata var oestrupii Cleve-Euler
ALAP	Achnanthes lapidosa Krasske var.lapidosa Krasske
ALAR	Achnanthes lanceolata ssp. rostrata (Oestrup) Lange-Bertalot
ALAT	Achnanthes laterostrata Hustedt
ALBP	Achnanthes lanceolata(Breb.)Grun. ssp. biporoma(Hohn & Hell.) Lange-Bert.
ALDH	Amphipleura lindheimeri Grunow
ALFR	Achnanthes lanceolata (Breb.) Grun. ssp. frequentissima Lange-Bertalot
ALIB	Amphora libyca Ehr.
AMIL	AMICULA Witkowski & Lange-Bertalot
AMIN	Achnanthes minutissima Kutzing v.minutissima Kutzing (Achnanthidium)
AMMO	Amphora montana Krasske
AMPS	Amphora species
ANBA	Anaulus balticus Simonsen
ANBR	Anomoeoneis brachysira(Brebisson in Rabenhorst) Grunow in Cleve
AOBG	Achnanthes oblongella Oestrup
AOVA	Amphora ovalis (Kutzing) Kutzing
APED	Amphora pediculus (Kutzing) Grunow
APGE	Achnanthes ploenensis Hustedt var.gessneri (Hustedt) Lange-Bertalot
APLO	Achnanthes ploenensis Hustedt var. ploenensis(=Kolbesia)
ASAT	Achnanthes subatomoides (Hustedt) Lange-Bertalot et Archibald
ASCL	Achnanthes saccula Carter in Carter & Bailey-Watts
ASHU	Achnanthes subhudsonis Hustedt
ASIL	Achnanthes silvahercynia Lange-Bertalot
ASUC	Achnanthes suchlandtii Hustedt
AUDI	Aulacoseira distans (Ehr.)Simonsen
AUGR	Aulacoseira granulata (Ehr.) Simonsen
AUSU	Aulacoseira subarctica (O.Muller) Haworth
AUTN	Aulacoseira tenuior Krammer

Código	Lista de taxa
AVEN	Amphora veneta Kützing
AVIT	Anomoeoneis vitrea (Grunow) Ross
AVTL	Achnanthes ventralis (Krasske) Lange-Bertalot
BPAR	Bacillaria paradoxa Gmelin
CAEQ	Cymbella aequalis W.M.Smith
CAFF	Cymbella affinis Kützing var.affinis
CAPH	Cymbella amphicephala Naegeli
CASP	Cymbella aspera(Ehrenberg) H.Peragallo
CATO	Cyclotella atomus Hustedt
CBAC	Caloneis bacillum (Grunow) Cleve
CBOD	Cyclotella bodanica Grunow var. bodanica Grunow
CCAE	Cymbella caespitosa(Kützing)Brun (Encyonema)
CCES	Cymbella cesatii (Rabh.)Grunow
CCIS	Cymbella cistula(Ehrenberg)Kirchner
CCOM	Cyclotella comta (Ehr.)Kützing
CDUB	Cyclotephanos dubius (Fricke) Round
CGOR	Cyclotella gordonensis Kling & Hakansson
CGRA	Cymbella gracilis(Ehr.)Kützing
CLAN	Cymbella lanceolata (Agardh ?)Agardh var.lanceolata
CLEP	Cymbella leptoceros(Ehrenberg)Kützing
CMEN	Cyclotella meneghiniana Kützing
CMES	Cymbella mesiana Chohnoky (Encyonema)
CMIC	Cymbella microcephala Grunow
CMIN	Cymbella minuta Hilse ex Rabenhorst (Encyonema)
CNAV	Cymbella naviculiformis Auerwald
COCE	Cyclotella ocellata Pantocsek
CPED	Cocconeis pediculus Ehrenberg
CPLA	Cocconeis placentula Ehrenberg var. placentula
CPLE	Cocconeis placentula Ehrenberg var.euglypta(Ehr.)Grunow
CPLI	Cocconeis placentula Ehrenberg var.lineata(Ehr.)Van Heurck
CPLK	Cocconeis placentula Ehrenberg var.klinoraphis Geitler
CPPL	Cocconeis placentula Ehrenberg var. pseudolineata Geitler
CPRO	Cymbella prostrata(Berkeley)Grunow (Encyonema)
CPST	Cyclotella pseudostelligera Hustedt
CRAD	Cyclotella radiosa (Grunow) Lemmermann
CRCU	Craticula cuspidata (Kützing) Mann
CSAP	Cymatopleura solea (Brebisson) W.Smith var.apiculata (W.Smith) Ralfs
CSBM	Craticula submolesta (Hust.) Lange-Bertalot
CSHU	Caloneis schumanniana (Grunow) Cleve
CSIL	Caloneis silicula (Ehr.)Cleve
CSIN	Cymbella sinuata Gregory
CSLE	Cymbella silesiaca Bleisch in Rabenhorst (Encyonema)
CSMO	Cymbella simonsenii Krammer
CSTE	Cyclotella stelligera Cleve et Grun (in Van Heurck)
CTGL	Cymbella turgidula Grunow 1875 in A.Schmidt & al. var. turgidula
CTLA	Cymbella tumidula Grunow var. lancettula Krammer
CTUM	Cymbella tumida (Brebisson)Van Heurck
CYMS	Cymbella species
DCOF	Diademes confervacea Kützing
DELL	Diploneis elliptica (Kützing) Cleve
DMES	Diatoma mesodon (Ehrenberg) Kützing
DOBL	Diploneis oblongella (Naegeli) Cleve-Euler
DOVA	Diploneis ovalis (Hilse) Cleve
DVUL	Diatoma vulgare Bory 1824

Código	Lista de taxa
EADN	Epithemia adnata (Kutzing) Brebisson
EARC	Eunotia arcus Ehrenberg var. arcus
EARL	Eunotia arculus (Grunow) Lange-Bertalot & Nörpel
EBIL	Eunotia bilunaris (Ehr.) Mills var. bilunaris
EBLL	Eunotia bilunaris var. linearis(Okuno)Lange-Bertalot & Norpel-Schempp
EBMU	Eunotia bilunaris (Ehr.) Mills var. mucophila Lange-Bertalot Norpel & All
ECIR	Eunotia circumborealis Nörpel & Lange-Bertalot
EETE	Eunotia exigua (Breb.) Rabenhorst var.tenella (Grunow) N-rpel et Alles
EEXI	Eunotia exigua (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst
EFAB	Eunotia faba Grunow
EFAL	Eunotia fallax A.Cleve var. fallax
EFGL	Eunotia fallax Cleve var.groenlandica (Grunow) Lange-Bertalot & Norpel
EFIN	Eunotia formica Ehrenberg var.intermedia Grunow
EGLA	Eunotia glacialis Meister
EIMP	Eunotia implicata Nörpel, Lange-Bertalot & Alles
EINC	Eunotia incisa Gregory var.incisa
EMIN	Eunotia minor (Kutzing) Grunow in Van Heurck
ENAE	Eunotia naegeli Migula
EPEC	Eunotia pectinalis (Dyllwyn) Rabenhorst var.pectinalis
EPTR	Eunotia paludosa Grunow var.trinacria (Krasske) Nörpel et Alles
EPUN	Eunotia pectinalis(Kutz.)Rabenhorst var.undulata (Ralfs) Rabenhorst
EROB	Eunotia robusta Ralfs in Pritchard
ESIO	Eunotia siolii Hustedt
ESOL	Eunotia soleirolii (Kutzing) Rabenhorst
ESOR	Epithemia sorex Kutzing
ESUB	Eunotia subarcuatoides Alles Nörpel & Lange-Bertalot
ESUD	Eunotia sudetica O.Muller
ETOR	Eunotia torula Hohn
EUIN	Eunotia intermedia (Krasske ex Hustedt) Nörpel & Lange-Bertalot
EUNS	Eunotia sp.
EUPA	Eunotia paludosa Grunow in Van Heurck var. paludosa
EVEN	Eunotia veneris (Kutzing) De Toni
FBCP	Fragilaria biceps (Kutzing) Lange-Bertalot
FBID	Fragilaria bidens Heiberg
FBRE	Fragilaria brevistriata Grunow (Pseudostaurosira)
FCAP	Fragilaria capucina Desmazieres var.capucina
FCAT	Fragilaria capucina Desmazieres fo.teratogene
FCAU	Fragilaria capucina Desmazieres var. austriaca (Grunow) Lange-Bertalot
FCBI	Fragilaria construens f. binodis (Ehr.) Hustedt
FCCP	Fragilaria capucina Desmazieres var.capitellata (Grunow) Lange-Bertalot
FCDI	Fragilaria capucina Desmazieres var.distans(Grunow)Lange-Bertalot
FCGR	Fragilaria capucina Desmazieres var.gracilis(Oestrup) Hustedt
FCME	Fragilaria capucina Desmazieres var.mesolepta (Rabenhorst) Rabenhorst
FCON	Fragilaria construens (Ehr.) Grunow f.construens (Staurosira)
FCPU	Fragilaria construens (Ehr.) Grunow var.pumila Grunow
FCRO	Fragilaria crotonensis Kitton
FCRU	Fragilaria capucina Desmazieres var. rumpens (Kutzing) Lange-Bertalot
FCVA	Fragilaria capucina Desmazieres var.vaucheriae(Kutzing)Lange-Bertalot
FCVE	Fragilaria construens (Ehr.) Grunow f.venter (Ehr.) Hustedt
FDEL	Fragilaria delicatissima (W.Smith) Lange-Bertalot
FELL	Fragilaria elliptica Schumann (Staurosira)
FEXI	Fragilaria exigua Grunow
FFAM	Fragilaria famelica (Kutzing) Lange-Bertalot var. famelica
FFAS	Fragilaria fasciculata (C.A. Agardh) Lange-Bertalot sensu lato

Código	Lista de taxa
FPAR	Fragilaria parasitica (W.Sm.) Grun. var. parasitica
FPCO	Fragilaria pseudoconstruens Marciniak
FPIN	Fragilaria pinnata Ehrenberg var. pinnata (Staurosirella)
FPSC	Fragilaria parasitica (W.Sm.) Grun. var. subconstricta Grunow
FPUL	Fragilaria pulchella (Ralfs ex Kutz.) Lange-Bertalot (Ctenophora)
FRCR	Frustulia rhomboides(Ehr.)De Toni var.crassinervia(Brebisson) Ross
FRHO	Frustulia rhomboides(Ehr.)De Toni
FRVI	Frustulia rhomboides(Ehr.)De Toni var.viridula (Brebisson) Cleve
FTEN	Fragilaria tenera (W.Smith) Lange-Bertalot
FUAC	Fragilaria ulna(Nitzsch.)Lange-Bertalot var.acus(Kutz.)Lange-Bertalot
FUAN	Fragilaria ulna Sippen angustissima(Grun.)Lange-Bertalot
FULN	Fragilaria ulna (Nitzsch.) Lange-Bertalot var. ulna
FVIR	Fragilaria virescens Ralfs
FVUL	Frustulia vulgaris (Thwaites) De Toni
GACT	Gomphonema acutiusculum (O.Muller) Cleve-Euler
GACU	Gomphonema acuminatum Ehrenberg
GAFF	Gomphonema affine Kützing
GANG	Gomphonema angustatum (Kützing) Rabenhorst
GANT	Gomphonema angustum Agardh
GAUG	Gomphonema augur Ehrenberg
GCLA	Gomphonema clavatum Ehr.
GGRA	Gomphonema gracile Ehrenberg
GLIG	Gomphonema lingulatifomis Lange-Bertalot & Reichardt
GMCU	Gomphonema minutum f.curtum (Hustedt) Lange-Bertalot & Reichardt
GMIC	Gomphonema micropus Kützing var. micropus
GMIN	Gomphonema minutum(Ag.)Agardh f. minutum
GNOD	Gyrosigma nodiferum (Grunow) Reimer
GOLI	Gomphonema olivaceum (Hornemann) Brúbisson var. olivaceum
GOMS	Gomphonema species
GPAR	Gomphonema parvulum (K ³ tzing) K ³ tzing var. parvulum f. parvulum
GPPA	Gomphonema parvulum var.parvulus Lange-Bertalot & Reichardt
GPSA	Gomphonema pseudoaugur Lange-Bertalot
GPUM	Gomphonema pumilum (Grunow) Reichardt & Lange-Bertalot
GPXS	Gomphonema parvulum var.exilissimum Grunow
GRHO	Gomphonema rhombicum Fricke
GSCL	Gomphonema subclavatum Grunow
GSPE	Gyrosigma spencerii (Quekett) Griffith et Henfrey
GTER	Gomphonema tergestinum Fricke
GTRU	Gomphonema truncatum Ehr.
GUTA	Gomphonema utae Lange-Bertalot & Reichardt
GYAC	Gyrosigma acuminatum (Kützing)Rabenhorst
HAMP	Hantzschia amphioxys (Ehr.) Grunow in Cleve et Grunow 1880
HARC	Hannaea arcus (Ehr.)Patrick
NMVE	Navicula mutica Kützing var.ventricosa (Kutz.) Cleve et Grun.
MBAL	Mastogloia baltica Grunow
MCCO	Meridion circulare (Greville) Agardh var.constrictum (Ralfs) Van Heurck
MCIR	Meridion circulare (Greville) C.A.Agardh var. circulare
MERS	Meridion sp.
MVAR	Melosira varians Agardh
NAAN	Navicula angusta Grunow
NACI	Nitzschia acicularis(Kützing) W.M.Smith
NACO	Navicula accomoda Hustedt
NAGN	Nitzschia agnita Hustedt
NAGR	Navicula agrestis Hustedt

Código	Lista de taxa
NAMH	Nitzschia amphibioides Hustedt
NAMJ	Neidium amphirhynchus (Ehrenberg) Pfitzer var. majus(Cleve) Meister
NAMM	Navicula ammophila Grunow
NAMP	Nitzschia amphibia Grunow f.amphibia
NAPE	Navicula atomus (Kutz.) Grunow var.permitis (Hustedt) Lange-Bertalot (Mayamaea)
NARV	Navicula arvensis Hustedt
NASP	Navicula sp.
NATO	Navicula atomus (Kutz.) Grunow var. atomus
NBAC	Navicula bacillum Ehrenberg (Sellaphora)
NBRE	Nitzschia brevissima Grunow
NCAP	Navicula capitata Ehrenberg (=Hippodonta)
NCAR	Navicula cari Ehrenberg
NCCA	Navicula cincta (Ehr.) Ralfs var.cari(Ehr.)Cleve
NCLA	Nitzschia clausii Hantzsch
NCLD	Navicula clementioides Hustedt
NCLE	Navicula clementis Grunow (Placoneis)
NCOM	Nitzschia communis Rabenhorst
NCON	Navicula contenta Grunow
NCOT	Nitzschia constricta (Kutzing) Ralfs
NCPL	Nitzschia capitellata Hustedt in A.Schmidt & al.
NCPR	Navicula capitatoradiata Germain
NCRY	Navicula cryptocephala Kutzing
NCTE	Navicula cryptotenella Lange-Bertalot
NCTO	Navicula cryptotenelloides Lange-Bertalot
NDEB	Nitzschia debilis(Arnott)Grunow in Cl.&Grunow
NDEC	Navicula decussis Oestrup
NDIS	Nitzschia dissipata(Kutzing)Grunow var.dissipata
NDME	Nitzschia dissipata(Kutzing)Grunow var.media (Hantzsch.) Grunow
NDSP	Navicula dissipata Hustedt
NDSS	Neidium densestriatum (Ostrup) Krammer
NDUB	Nitzschia dubia W.M.Smith
NDUR	Navicula duerrenbergiana Hustedt in Schmidt et al.
NEAM	Neidium ampliatus (Ehrenberg) Krammer
NEDU	Neidium dubium(Ehrenberg)Cleve
NELG	Navicula elginensis (Gregory) Ralfs in Pritchard
NESE	Neidium septentrionalis Cleve-Euler
NEVA	Navicula evanida Hustedt
NFIL	Nitzschia filiformis (W.M.Smith) Van Heurck var. filiformis
NFON	Nitzschia fonticola Grunow in Cleve et Müller
NGOE	Navicula goeppertiana (Bleisch) H.L.Smith (Luticola)
NGPE	Navicula gallica(W.M.Sm.)Lagerstedt var.perpusilla(Grunow)Lange-Bertalot
NGRE	Navicula gregaria Donkin
NHAL	Navicula halophila (Grunow) Cleve (Craticula)
NHAN	Nitzschia hantzschiana Rabenhorst
NHEL	Navicula helensis Schulz
NHMD	Navicula heimansioides Lange-Bertalot
NHMS	Navicula heimansii Van Dam et Kooyman
NIAN	Nitzschia angustata Grunow
NICN	Nitzschia incognita Legler et Krasske
NIFR	Nitzschia frustulum(Kutzing)Grunow var.frustulum
NIGF	Nitzschia graciliformis Lange-Bertalot & Simonsen
NIGR	Nitzschia gracilis Hantzsch
NINC	Nitzschia inconspicua Grunow
NIPM	Nitzschia perminuta(Grunow) M.Peragallo
NISO	Nitzschia solita Hustedt
NIVA	Nitzschia valdestriata Aleem & Hustedt

Código	Lista de taxa
NLAN	Navicula lanceolata (Agardh) Ehrenberg
NLAT	Navicula laterostrata Hustedt
NLBT	Nitzschia liebetruthii Rabenhorst var. liebetruthii
NLEV	Nitzschia levidensis (W. Smith) Grunow in Van Heurck
NLIN	Nitzschia linearis (Agardh) W. M. Smith var. linearis
NLLT	Navicula lanceolata (Agardh) Kützing
NLST	Navicula leptostriata Jorgensen
NLSU	Nitzschia linearis (Agardh) W. M. Smith var. subtilis (Grunow) Hustedt
NLUN	Navicula lundii Reichardt
NMCV	Navicula medioconvexa Hustedt 1961
NMEN	Navicula menisculus Schumann var. menisculus
NMIC	Nitzschia microcephala Grunow in Cleve & Moller
NMID	Navicula maidanae Metzeltin & Lange-Bertalot
NMIL	Navicula milthersii Foged
NMIM	Navicula mimicans Hanna
NMIN	Navicula minima Grunow (Eolimna)
NMIS	Navicula minuscula Grunow in Van Heurck 1880
NMLF	Navicula molestiformis Hustedt
NMNO	Navicula minusculoides Hustedt
NNAN	Nitzschia nana Grunow in Van Heurck
NNOT	Navicula notha Wallace
NNOV	Navicula novaesiberica Lange-Bertalot
NPAD	Nitzschia palea (Kützing) W. Smith var. debilis (Kützing) Grunow in Cl. & Grun
NPAE	Nitzschia paleacea (Grunow) Grunow in van Heurck
NPAL	Nitzschia palea (Kützing) W. Smith
NPHY	Navicula phyllepta Kützing
NPML	Nitzschia pumila Hustedt
NPOR	Navicula porifera Hustedt
NPSA	Navicula pseudoarvensis Hustedt
NPSB	Navicula protracta fo. subcapitata (Wislouch & Poretzky) Hustedt
NPTG	Nitzschia paleacea (Grunow) Grunow f. teratogene
NPUP	Navicula pupula Kützing (Sellaphora)
NPVE	Navicula pseudoventralis Hustedt
NPYG	Navicula pygmaea Kützing
NRAD	Navicula radiosa Kützing
NRCH	Navicula reichardtiana Lange-Bertalot var. reichardtiana
NREC	Nitzschia recta Hantzsch in Rabenhorst
NRHY	Navicula rhynchocephala Kützing
NSAP	Navicula saprophila Lange-Bertalot & Bonik
NSBM	Navicula subminuscula Manguin
NSCH	Navicula schoenfeldii Hustedt
NSEM	Navicula seminulum Grunow (Sellaphora)
NSHR	Navicula schroeteri Meister var. schroeteri
NSIG	Nitzschia sigma (Kützing) W. M. Smith
NSIT	Nitzschia sinuata (Thwaites) Grunow var. tabellaria Grunow
NSOC	Nitzschia sociabilis Hustedt
NSSY	Navicula schroeteri Meister var. symmetrica (Patrick) Lange-Bertalot
NSTL	Navicula striolata (Grun.) Lange-Bertalot
NSUA	Nitzschia subacicularis Hustedt in A. Schmidt et al.
NSUB	Navicula subtilissima Cleve
NTEN	Navicula tenelloides Hustedt
NTPT	Navicula tripunctata (O. F. Müller) Bory
NTRV	Navicula trivialis Lange-Bertalot var. trivialis
NTUB	Nitzschia tubicola Grunow
NVEN	Navicula veneta Kützing

Código	Lista de taxa
NVGE	Navicula viridula var. germainii (Wallace) Lange-Bertalot
NVIR	Navicula viridula (Kutzing) Ehrenberg
NVRO	Navicula viridula (Kutz.) Ehr. var. rostellata (Kutz.) Cleve
NVTB	Navicula vitabunda Hustedt
NZCD	Nitzschia acicularioides Hustedt
NZLT	Nitzschia linearis (Agardh) W.M. Smith var. tenuis (W. Smith) Grunow
NZSS	Nitzschia species
PACO	Pinnularia acoricola Hustedt var. acoricola
PAPP	Pinnularia appendiculata (Agardh) Cleve var. appendiculata
PBOR	Pinnularia borealis Ehrenberg var. borealis
PBRA	Pinnularia braunii (Grunow) Cleve
PBRT	Pinnularia borealis Ehrenberg f. rectangularis Carlson
PBVC	Pinnularia brevicostata Cleve
PDIV	Pinnularia divergens W.M. Smith var. divergens
PDVG	Pinnularia divergentissima (Grunow) Cleve var. divergentissima
PFIB	Peronia fibula (Breb. ex Kutz.) Ross
PGIB	Pinnularia gibba Ehrenberg
PGLI	Pinnularia gibba Ehrenberg var. linearis Hustedt
PGLO	Pinnularia globiceps Gregory var. globiceps
PINS	Pinnularia species
PINT	Pinnularia interrupta W.M. Smith
PLUN	Pinnularia lundii Hustedt var. lundii
PMAJ	Pinnularia maior (Kutzing) Rabenhorst
PMIC	Pinnularia microstauron (Ehr.) Cleve var. microstauron
POBS	Pinnularia obscura Krasske
PPSA	Placoneis pseudanglica (Lange-Bertalot) Cox
PRUP	Pinnularia rupestris Hantzsch in Rabenhorst 1861
PSCA	Pinnularia subcapitata Gregory var. subcapitata
PSGG	Pinnularia subgigas Krammer
PSGI	Pinnularia subgibba Krammer var. subgibba
PSHU	Pinnularia subgibba Krammer var. hustedtii Krammer
PSIM	Pinnularia similis Hustedt
PSTR	Pinnularia streptoraphe Cleve var. streptoraphe
PVIR	Pinnularia viridis (Nitzsch) Ehrenberg var. viridis morphotype 1
RABB	Rhoicosphenia abbreviata (C. Agardh) Lange-Bertalot
RGIB	Rhopalodia gibba (Ehr.) O. Muller var. gibba
RGPA	Rhopalodia gibba (Ehr.) O. Muller var. parallela (Grun.) H. et M. Peragallo
RSIN	Reimeria sinuata (Gregory) Kociolek & Stoermer
RUNI	Reimeria uniseriata Sala Guerrero & Ferrario
SANG	Surirella angusta Kutzing
SAPH	Surirella amphioxys W. Smith
SBIS	Surirella biseriata Brebisson in Brúbisson & Godey
SBKU	Surirella brebissonii var. kuetzingii Krammer et Lange-Bertalot
SBRE	Surirella brebissonii Krammer & Lange-Bertalot var. brebissonii
SGAI	Synedra gaillonii (Bory) Ehrenberg
SHAN	Stephanodiscus hantzschii Grunow in Cl. & Grun. 1880
SIDE	Simonsenia delognei Lange-Bertalot
SJLA	Stauroneis javanica (Grunow) Cleve f. lapponica Hustedt 1959
SLHE	Surirella linearis W.M. Smith var. helvetica (Brun) Meister
SLIN	Surirella linearis W.M. Smith
SMED	Stephanodiscus medius Håkansson
SOVI	Surirella ovalis Brebisson
SPHO	Stauroneis phoenicenteron (Nitzsch) Ehrenberg
SPRO	Stauroneis producta Grunow
SRBA	Surirella roba Leclercq

Código	Lista de taxa
SSMI	Stauroneis smithii Grunow
STAN	Stauroneis anceps Ehrenberg
STAS	Stauroneis species
STDE	Stenopterobia delicatissima (Lewis) Brebisson ex Van Heurck
STHE	Stauroneis thermicola (Petersen) Lund
STKR	Stauroneis kriegeri Patrick
STLE	Stauroneis legumen(Ehrenberg)Kutzing
SUCO	Surirella constricta W.Smith
SUMI	Surirella minuta Brebisson
SURO	Surirella robusta Ehrenberg
TFEN	Tabellaria fenestrata(Lyngbye)Kutzing
TFLO	Tabellaria flocculosa(Roth)Kutzing
TVEN	Tabellaria ventricosa Kutzing
TVIS	Thalassiosira visurgis Hustedt
ANMN	Actinocyclus normanii(Greg. ex Grev.) Hustedt morphotype normanii
CDTG	Cyclotella distinguenda var.distinguenda Hustedt
CAEX	Cymbella excisa Kutzing var. excisa
DKUE	Denticula kuetzingii Grunow var.kuetzingii
NCTG	Navicula cryptotenella Lange-Bertalot fo. teratogene
NSAL	Navicula salinarum Grunow in Cleve et Grunow var.salinarum
PLUN	Pinnularia lundii Hustedt var. lundii



Instituto da Água, I.P.
Av. Almirante Gago Coutinho, 30
1049-066 Lisboa

Tel: 21 843 00 00
Fax: 21 847 35 71

e-mail: inforag@inag.pt
www.inag.pt