

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE CIÊNCIAS

Departamento De Biologia Animal



**Abundância relativa do visão-americano
(*Neovison vison*): análise comparativa da
eficácia de duas técnicas.**

DISSERTAÇÃO

ANA RITA BERNARDINO DUARTE

Mestrado em Biologia da Conservação

2012

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE CIÊNCIAS

Departamento De Biologia Animal



**Abundância relativa do visão-americano
(*Neovison vison*): análise comparativa da
eficácia de duas técnicas.**

DISSERTAÇÃO ORIENTADA POR:

PROFESSORA DOUTORA MARGARIDA SANTOS-REIS (CBA/DBA-FCUL)

ANA RITA BERNARDINO DUARTE

Mestrado em Biologia da Conservação

2012

Esta tese de mestrado foi desenvolvida no âmbito do Projeto “**DILEMA – Espécies invasoras e dilemas de conservação: efeito dos competidores nativos e presas exóticas na dispersão do visão-americano em Portugal**”, da responsabilidade do Centro de Biologia Ambiental da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (CBA/FCUL) e financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT-PTDC/BIA-BEC/102433/2008).



Agradecimentos

Depois de 5 anos intensos de aprendizagem, particularmente este último, muitos são os ensinamentos que ficam, e apesar dos profissionais serem os que proporcionaram este trabalho, muitas foram as pessoas que ajudaram a concluí-lo, que partilharam comigo os bons e maus momentos no campo, que me ajudaram no tratamento dos dados e no tratamento da minha momentânea insanidade mental nos momentos mais desesperantes. A todos os que contribuíram para este trabalho, aqui ficam as minhas palavras de apreço.

À Professora Margarida Santos-Reis por ter orientado esta tese de mestrado, pelas sugestões e críticas, pelo apoio bibliográfico, pela revisão final do texto e por ter arranjado sempre um tempinho para me ajudar, mesmo nos dias mais caóticos. É, sem dúvida, uma inspiração a nível profissional e pessoal.

À Diana Rodrigues, Sofia Gonçalves, Laura Kuipers e Luciana Simões pela ajuda e companhia durante o trabalho de campo, pela partilha de momentos memoráveis e de outros não tão bons como inundações ou um joelho lesionado. Sem dúvida, que tornaram todas as horas de trabalho de campo não só suportáveis, mas também muito divertidas. To Diana Rodrigues, Sofia Gonçalves, Laura Kuipers e Luciana Simões for the help and the companionship during the fieldwork. For sharing a lot of memorable moments in the field and also some “not so good” moments, like floods and an injured knee. Undoubtedly you made all the hours in the field not only bearable, but also very fun.

Ainda à Diana pela ajuda e ensinamentos na recolha dos dejetos no campo, na montagem das jangadas e na medição das pegadas, nunca pensei ajeitar-me com um *black and decker* ou ser jeitosa a alisar barro, mas até que nem me safei nada mal.

De novo à Luciana e nem sei bem por onde começar... Pelas aulas de condução todo-o-terreno, pela ajuda e ensinamentos no laboratório, na construção dos mapas no *Quantum GIS* e no desenvolvimento do tratamento estatístico (GLMs, Correlações...), e pelas horas no laboratório a extrair, amplificar e identificar dejetos em tempo *record*, para que as estimativas fossem o mais completas possível. Sobretudo pela paciência em responder a todas as minhas inúmeras questões, mesmo quando, muito existenciais. Ah e... Bailarinas ao Poder! ☺

Ainda à Di e à Lu, pelas sugestões na escrita da tese, pelo constante interesse demonstrado no desenvolvimento da mesma e sobretudo por toda a paciência e amizade demonstrada, quando por diversas vezes o cansaço e o joelho me deixaram desanimada ou em lágrimas. Têm aqui uma amiga para o que precisarem!

Ao *Defender* e à *Pickup* por me terem transformado numa condutora cheia de estilo e personalidade e por me terem conduzido por muitos quilómetros sem nunca me deixarem ficar mal.

Às lontrinhas e visões por todos os vestígios deixados no campo e nas jangadas, sendo sempre demasiado importantes para se dignarem a aparecer pessoalmente. Rrrrr...

A todos os amigos e colegas do Mestrado e ao Grupo de Ecologia e Conservação de Carnívoros do CBA/FCUL que deram apoio e mostraram interesse no meu trabalho.

Ao Éden, as minhas *dance sisters*, pelo interesse demonstrado na tese e pela compreensão perante todas as minhas ausências de aulas e ensaios devido ao trabalho de campo ou a um joelho que portou mal. Ainda pela prontidão em arranjar mil médicos ortopedistas, fisiatras e fisioterapeutas (Grande Rui!) para que a lesão se resolvesse o mais rápido possível e tudo não passasse de um susto momentâneo, o que levou a que eu ficasse boa mesmo a tempo de um grande espetáculo.

Aos Resistentes, amigos de sempre e a família escolhida para todos os grandes momentos da minha vida, pelo interesse demonstrado na tese, mesmo quando não entendiam o facto de “tanto tempo a estudar para ir apanhar “cocós”, pelos cafézinhos e reuniões antes e após o trabalho de campo e acima de tudo pela amizade incondicional e incansável demonstrada há tantos anos.

Aos Mais Bonitos, por perguntarem sempre “Então como é que vai a tese?” e pela companhia nos almoços, jantares, “férias” e festas, que tanto contribuiu para a manutenção de uma vida social, mesmo nos momentos mais aflitivos. Confesso que quando entrei para a Faculdade pensava que todas as minhas grandes amizades já estavam feitas. Vocês mostraram que eu estava errada e eu nunca gostei tanto de o estar.

Ao Gonçalo, pela enorme paciência e compreensão demonstrada durante todas as minhas ausências, quer no trabalho de campo, quer na escrita da tese, pelo apoio incondicional, por ouvires todos os meus desabafos e me acalmares nos momentos mais desesperantes. Espero estar à altura deste teu desempenho durante o próximo ano :)

À minha família, que apesar de não entender algumas das minhas escolhas, acreditou sempre em mim.

À minha gata pelos muitos mimiños e pela companhia que me fez (a dormir) deitada ao lado do computador enquanto eu trabalhava.

À minha mãe, que acabou por partilhar muito deste processo comigo, uma vez que também ela estava a escrever a sua tese. Pelo exemplo de força constante, por teres acreditado sempre em mim, por não me deixares desistir e por seres a melhor Mãe e Amiga do Mundo.

E por último, mas não menos importante, aos meus pais por terem proporcionado toda esta aprendizagem e pela educação e investimento feito em mim. Espero que se orgulhem!

Resumo

A introdução de espécies exóticas é considerada uma das principais ameaças à biodiversidade. O visão-americano é um exemplo recente de introdução de mamíferos carnívoros no NO de Portugal e o caso de estudo desta dissertação que pretende contribuir para o aumento do conhecimento acerca deste invasor e dos seus impactos. Sendo este um mustelídeo, animais de características elusivas, atividade noturna e ocupando vastas áreas vitais, a monitorização da sua expansão utilizando métodos diretos é de difícil aplicação. Assim, os métodos indiretos de monitorização das suas populações, como a procura de indícios de presença ganham uma importância extrema. Neste estudo pretendeu-se avaliar a eficácia de dois métodos indiretos (jangadas para registo de pegadas e transectos para recolha de dejetos) no cálculo da abundância relativa do visão americano, incluindo o investimento financeiro que ambos exigem, colocando-se assim as seguintes hipóteses: H1: O método das jangadas é aquele que apresenta uma melhor relação custo-benefício; H2: A identificação genética é essencial para a obtenção de resultados fiáveis no método dos transectos. O estudo decorreu na área de Paisagem Protegida das Lagoas de Bertandos e São Pedro de Arcos, onde a presença de visão foi confirmada recentemente, e os resultados obtidos suportam ambas as hipóteses colocadas. O método das jangadas demonstra uma melhor relação custo-benefício que o método dos transectos, apesar de apenas este ter permitido a deteção do visão-americano na totalidade dos habitats em estudo, bem como dos fatores que potencialmente influenciam a sua abundância. A identificação genética dos dejetos, apesar de aumentar substancialmente os custos associados ao método dos transectos revelou-se essencial, visto que cerca de 27% das identificações de dejetos feitas pelos observadores, face a parâmetros morfológicos, estavam incorretas. Dificuldades na identificação individual, comuns a ambos os métodos, reforçam a necessidade de recorrer a métodos diretos se o objetivo é uma estimativa de abundância absoluta para o visão-americano.

Palavras-chave: estimativas de abundância; métodos indiretos; indícios de presença; identificação genética; custo-benefício.

Abstract

The introduction of exotic species is one of the biggest threats to biodiversity. The American mink is a recent example of a mammal carnivore introduction in the NO of Portugal being this the case study of this dissertation. This study intends to increase knowledge about this invader and its impacts. Monitoring elusive species, such as the American mink, that is nocturnal and has great home-ranges, using direct methods is of difficult application, so indirect methods, like sign surveys (based on the detections of scats and tracks) are of enormous importance. This study main aim is to evaluate the effectiveness of two indirect methods (rafts to record tracks and surveys to collect scats) in the measurement of the relative abundance of the American mink, including the costs that each one requires. For that purpose the following two hypotheses were tested: H1: The raft surveys have a better cost-benefit relationship; H2: The genetic identification of the scats is essential for the achievement of reliable results using scat surveys. The study was held in the area of the Protected Landscape of Lagoas de Bertandos e São Pedro de Arcos, where the presence of the American mink was recently confirmed. The obtained results support both hypotheses. The raft surveys are more cost-efficient than the scats surveys, although only the latter could detect the American mink in all of the habitats in study, and also allowed the study of the factors that possibly influence its abundance. The scats' genetic identification, although it increases substantially the costs associated with the scat surveys has demonstrated to be essential, since about 27% of the field identifications of scats made by the observers, based on morphological parameters, were incorrect. The difficulties related to the individual identification, observed in both methods, reinforce the necessity of using direct methods when the purpose is to obtain an estimate of absolute abundance.

Keywords: Abundance estimates; indirect methods; presence signs; genetic identification, cost-benefit.

Índice

1.	Introdução	1
1.1.	O visão-americano: um invasor de sucesso	1
1.2.	Importância dos métodos indiretos para estimar abundância	5
1.2.1.	Transectos para a procura de indícios de presença das espécies.....	7
1.2.2.	Jangadas como método de registo de pegadas	8
1.3.	Relevância e objetivos do estudo.....	9
2.	Materiais e Métodos	10
2.1.	Área de estudo	10
2.2.	Recolha e processamento das amostras.....	13
2.2.1.	Transectos	13
2.2.2.	Jangadas	17
2.3.	Relação custo-benefício	18
2.4.	Análise estatística.....	20
2.4.1.	Análise de dados referentes aos transectos	20
2.4.2.	Análise de dados referentes às jangadas	22
3.	Resultados	23
3.1.	Abundância relativa de visão-americano através do método dos transectos	23
3.2.	Abundância do visão-americano utilizando o método das jangadas.....	29
3.3.	Análise da relação custo-benefício entre métodos.....	30
4.	Discussão	33
4.1.	O visão-americano no contexto da comunidade de carnívoros da AP	33
4.2.	Eficácia relativa dos métodos para a estimativa da abundância do visão-americano	35
4.3.	Limitações dos dados e perspectivas futuras	37
5.	Referências Bibliográficas	40
6.	Anexos	46
6.1.	Anexo I - Vestígios das espécies presentes na Área de Estudo.....	46
6.2.	Anexo II – Ocorrência do Visão Americano e da Lontra ao longo do período de amostragem.	49
6.3.	Anexo III – Tabela de ocorrências de pegadas nas jangadas colocadas.....	50
6.4.	Anexo IV – Variáveis ambientais utilizadas na caracterização do habitat nos locais das jangadas	51

1. Introdução

A introdução deliberada e/ou acidental de espécies em habitats não-nativos tem sido uma consequência histórica da migração do Homem, que tem vindo a agravar-se nos últimos anos, criando um mundo sem fronteiras para muitas espécies (*e.g.* Clout & Russel, 2008). Atualmente, a introdução de espécies exóticas é considerada uma das principais ameaças à diversidade biológica e uma das principais causas de alterações ambientais (Lodge, 1993; Sala *et al.*, 2000), com consequências no funcionamento dos ecossistemas (Fukami *et al.*, 2006), alterando cadeias tróficas (Croll *et al.*, 2005) e a dinâmica populacional de espécies nativas (Vitousek *et al.*, 1997).

Os mamíferos foram o primeiro grupo animal a ser alvo de introdução mediada pelo Homem, sobretudo os animais domésticos, e são considerados invasores de sucesso (Clout & Russel, 2008). Entre os impactos negativos que estes invasores podem causar na fauna nativa incluem-se a competição (Acevedo *et al.*, 2007), a predação (Jones *et al.*, 2008), a hibridação (Beaumont *et al.*, 2001) e a transmissão de agentes patogénicos (Wyatt *et al.*, 2008). As espécies invasoras podem também causar um impacto direto em algumas atividades humanas, como na agricultura (Bertolino & Viterbi, 2010) e na pesca (Ruiz & Carlton, 1997), entre outros. A procura de medidas de mitigação destes impactos tem sido alvo de intensa investigação científica, uma vez que a erradicação total da(s) espécie(s) invasora(s), é, normalmente, de difícil execução, sem que a fauna nativa seja afetada, especialmente em áreas de grandes dimensões (Macdonald & Harrington, 2003; Clout & Russel, 2008).

1.1. O visão-americano: um invasor de sucesso

O visão-americano (*Neovison vison*, Schreber 1777) (Figura 1), caso de estudo desta dissertação é um exemplo de introdução de mamíferos carnívoros. Por ter um melhor desempenho nos habitats onde é introduzido, em relação ao seu habitat nativo, este é considerado um invasor de sucesso, segundo Hufbauer & Torchin (2007).

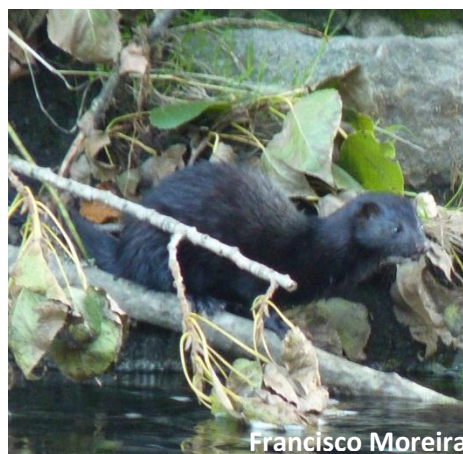


Figura 1 – Visão-americano no Rio Homem. Fonte: Projecto Dilema

Esta espécie proveniente da América do Norte foi introduzida na Europa para

criação em quintas para o comércio de peles. No entanto, quer por fugas de animais a partir destas quintas, quer pela sua libertação deliberada e ilegal por parte dos proprietários das quintas, quando a atividade deixa de ser rentável, ou por grupos de defesa dos direitos animais, estabeleceram-se populações ferais em grande parte da Europa (Figura 2) (Bonesi & Palazon, 2007), assim como na



Figura 2 - Distribuição das populações de visão-americano na Europa (Bonesi & Palazon, 2007).

América do Sul, na Rússia e na Ásia (Dunstone, 1993). Os impactos causados pelo visão-americano em espécies autóctones foram já descritos em alguns países europeus (Macdonald & Harrington, 2003) quer em comunidades de presas, como é o caso do rato-de-água (*Arvicola terrestris*, Linnaeus 1758) (Barreto & Macdonald, 2000) e de algumas aves (Guincho-comum (*Larus ridibundus*, Linnaeus 1766), Gaivota-parda (*Larus canus*, Linnaeus 1758), *Sterna spp.*, entre outras) (Clode & Macdonald, 2002) quer relativamente a competidores diretos, como é o caso do visão-europeu (*Mustela lutreola*, Linnaeus 1761) (Sidorovich & Macdonald, 2001).

Em Portugal, o visão-americano foi introduzido na década de 80, sendo provavelmente proveniente de quintas de criação localizadas na região da Galiza, existindo apenas uma quinta de criação em Portugal, na cidade de Valença do Minho (Vidal-Figueroa & Delibes, 1987). Existem poucos estudos sobre os impactos desta introdução na região mediterrânica (Melero, 2004), e estes são totalmente desconhecidos no que se refere à fauna nativa portuguesa. No entanto, dado que foi introduzida na zona noroeste de Portugal, esta espécie poderá ter impactos negativos sobre a toupeira-de-água (*Galemys pyrenaicus*, E. Geoffroy St. Hilaire 1811), uma vez que esta é uma das principais áreas de refúgio desta possível presa potencial (Queiroz *et al.*, 1996), cujo estatuto de conservação é de espécie Vulnerável (Cabral *et al.*, 2005). O visão-americano pode ainda vir a afetar negativamente as populações de rato-de-água (*Arvicola sapidus*, Miller 1908), e as populações de anfíbios (Bonesi & Palazon, 2007) já de si debilitadas (Houlahan *et al.*, 2000; Soares *et al.*, 2003).

O visão-americano é uma espécie generalista, altamente adaptável que ocupa habitats com características diferentes, sendo a sua taxa de dispersão inferior a 10 km

por ano, nos locais onde esta já foi estudada, sendo esta taxa reduzida quando comparada com a de outros mamíferos, cujas taxas de dispersão estão entre os 10-20 km por ano, como por exemplo o coelho europeu (*Oryctolagus cuniculus*, Linnaeus 1758) (Jaksic *et al.*, 2002).

Além disso, as fêmeas têm a capacidade de superfecundação, ou seja produzem múltiplos óvulos em apenas uma ovulação, e de superfetação, ou seja podem conceber um embrião quando já existe outro implantado no útero. Estas características fazem com que esta espécie tenha uma elevada capacidade reprodutiva, característica das espécies invasoras, sendo por isso um forte competidor e predador das espécies nativas (Dunstone, 1993; Macdonald & Harrington, 2003).

O ciclo reprodutor da espécie é marcadamente sazonal, sendo que, durante a época reprodutiva, entre janeiro e março, os machos encontram-se muito ativos investindo muito tempo na tentativa de encontrar uma fêmea recetiva. De abril a junho ocorre o período de gestação e lactação em que as crias permanecem com a progenitora, e os adultos passam muito tempo nas tocas. De agosto a outubro, ocorre o período de dispersão, em que os juvenis procuram um novo território para se estabelecer, sendo este também um período de grande atividade. Novembro e dezembro são meses de reduzida atividade, uma vez que os juvenis e adultos se encontram estabelecidos nos seus territórios de inverno (Dunstone, 1993; Bonesi & Macdonald, 2004a; Bonesi *et al.*, 2007).

O visão-americano partilha os habitats ripícolas com a lontra euroasiática (*Lutra lutra*, Linnaeus 1758), sendo muito provável a competição por recursos alimentares e refúgio, podendo ocorrer sobreposição dos seus territórios (Bonesi & Macdonald, 2004a; Lodé, 1993).

Os habitats ripícolas estão hoje ameaçados devido à remoção da vegetação das margens dos rios e/ou a alterações feitas pelo homem como a construção de barragens que alteram as características naturais destes ecossistemas (Reuther & Hilton-Taylor, 2004). Este fator aliado a algum desconhecimento acerca da distribuição da lontra em Portugal e na Europa, levaram a que lhe fosse atribuído um estatuto de conservação de Vulnerável no ano 2000. Várias ações de conservação implementadas para a recuperação da lontra, como programas de reprodução em cativeiro e a posterior reintrodução da espécie em alguns locais, permitiram a recuperação da espécie em grande parte da sua distribuição europeia, sendo que o estatuto de conservação atual da

espécie é de Quase Ameaçada a nível global (Ruiz-Olmo *et al.*, 2008), sendo que em Portugal o seu estatuto é Pouco Preocupante (Cabral *et al.*, 2005).

Um estudo iniciado recentemente para avaliar a situação do visão-americano em Portugal (M.Santos.Reis, com.pess) demonstrou que a espécie se encontra em expansão para sul, estando já presente no Rio Sousa (Figura 3). A área de distribuição do visão-americano encontra-se incluída na área de distribuição da lontra, que apresenta uma distribuição generalizada de Norte a Sul de Portugal, estando presente em todo o tipo de sistemas aquícolas desde a costa alentejana até às lagoas de altitude, como as da Serra da Estrela (Trindade *et al.*, 1998), como tal, o potencial de competição entre as duas espécies é elevado.

Alguns estudos, realizados essencialmente no Reino Unido e na Bielorrússia, analisaram a competição entre o visão-americano e a lontra. No Reino Unido, o visão-americano teve uma expansão bastante acentuada entre 1950 e 1980, mas nos últimos anos, o número de locais onde se encontra presente tem vindo a diminuir. Várias são as razões apontadas para explicar esta situação: i) redução na entrada de novos animais na natureza, devido à diminuição de quintas de criação do visão-americano; ii) poluição; iii) patologias; iv) campanhas de erradicação da espécie ou iv) perseguição direta por parte de caçadores. Contudo, é também colocada a hipótese desta diminuição se dever a uma redução das populações de rato-de-água, uma das presas preferenciais do visão-americano

neste país (Barreto *et al.*, 1998), cujas populações sofreram um grande declínio durante a expansão do visão-americano (Mcdonald *et al.*, 2007). Outra hipótese ainda defende que a competição entre esta espécie e a lontra e o toirão (*Mustela putorius*, Linnaeus 1758), ambos predadores nativos, esteja a levar a uma diminuição no número de locais



Figura 3 - Distribuição do visão-americano no Noroeste de Portugal. A vermelho estão assinalados os locais onde o visão está presente e a amarelo os locais onde não foi detetada a presença da espécie. Fonte: Proieto Dilema

ocupados pelo visão-americano, uma vez que as populações destes dois competidores estão a aumentar (Bonesi & Macdonald, 2004a).

Entre as principais conclusões destes estudos, considera-se que fatores como patologias ou a diminuição de presas podem causar a redução da abundância do visão-americano em alguns locais. No entanto, grande parte dos estudos indicam a recuperação das populações de lontra como a principal causa para a redução do número de locais ocupados pelo visão-americano (Sidorovich & Macdonald, 2001; Bonesi & Macdonald, 2004a; 2004b). A lontra, devido às suas maiores dimensões, tem maior vantagem no confronto direto com o visão-americano, forçando-o a procurar outros locais para se estabelecer. Além disso, o aumento da densidade de lontras, que se alimentam essencialmente de peixe, obriga o visão-americano a procurar presas terrestres em detrimento dos peixes, que são a sua presa preferida (Bonesi & Macdonald 2004a), ficando mais exposto a situações de perigo, como a captura ilegal.

Para uma análise realista das interações entre a espécie invasora e as espécies nativas, o conhecimento das alterações na sua abundância e área de invasão, é determinante para o delineamento de uma estratégia de gestão eficaz.

1.2. Importância dos métodos indiretos para estimar abundância

A monitorização da distribuição e abundância dos animais é essencial para a compreensão da ecologia das populações e para a sua gestão (Macdonald *et al.*, 1998). O desenvolvimento dos métodos de estudo da ecologia das populações é essencial, pois estes permitem a determinação da distribuição geográfica das espécies, a construção de modelos relacionados com o habitat, o estudo dos impactes da densidade humana e as perturbações que esta possa implicar na distribuição das espécies, o estudo da relação entre a ocorrência de determinadas espécies e as características e fisionomia da paisagem, a construção de modelos de viabilidade e finalmente a criação de programas que visem a monitorização de espécies, especialmente daquelas que possuam estatuto de conservação (Zuberogoitia *et al.*, 2006).

No entanto, a monitorização de espécies pode tornar-se difícil especialmente quando estas têm hábitos elusivos e noturnos, e ocupam vastas áreas vitais, como é o caso dos mustelídeos (Bonesi & Macdonald, 2004c; Zuberogoitia *et al.*, 2006; Harrington *et al.*, 2008a).

Desta forma, quando as observações diretas são de difícil obtenção, os métodos indiretos de monitorização de populações, como a procura de indícios de presença (*e.g.*

pegadas e dejetos) ou o registo de atropelamentos da espécie em estudo ganham relevância (Bull *et al.*, 1992; Philcox *et al.*, 1999), e a análise da sua eficácia tem sido alvo de interesse por muitos investigadores (Bonesi & Macdonald, 2004c; Zuberogoitia *et al.*, 2006; Harrington *et al.*, 2008a).

Os métodos indiretos podem ser usados para o registo da distribuição e abundância relativa e absoluta de determinada espécie (Bonesi & Macdonald, 2004c). A abundância absoluta mede o número de indivíduos existentes em determinada população, enquanto que a abundância relativa mede o número de indivíduos presentes em determinada sessão de amostragem, comparativamente a outras sessões de amostragem, realizadas em anos anteriores e/ou em diferentes estações do ano, bem como noutras regiões (Wilson & Delahay, 2001). Geralmente, as evidências necessárias para conhecer a distribuição de uma espécie são muito mais fáceis de obter, apesar de requererem tempo e recursos para se obter resultados fiáveis, que as necessárias para calcular a abundância, especialmente a abundância absoluta (Bonesi & Macdonald, 2004c).

O cálculo da abundância relativa está dependente da densidade em que se encontram as espécies a estudar, das características da espécie, e das características do(s) habitat(s) a amostrar (Zuberogoitia *et al.*, 2006).

Segundo vários autores (Wilson & Delahay, 2001; Bonesi & Macdonald, 2004c; Zuberogoitia *et al.*, 2006), a obtenção de estimativas de abundância absoluta só é possível através de um programa de captura-recaptura. No entanto, a obtenção de uma estimativa da densidade de mamíferos carnívoros, como os mustelídeos, com a quantidade de dados necessária para que a estimativa seja fiável, nem sempre é possível, uma vez que, dadas as características habituais deste grupo (hábitos noturnos e secretivos, reduzidas densidades, territorialidade) as capturas são difíceis e exigem um grande esforço de armadilhagem e de recursos. Assim, a maioria dos estudos para a determinação da distribuição e o cálculo da abundância relativa, assentam em estimativas relativas fazendo recurso de metodologias alternativas como a procura de vestígios, nomeadamente dejetos e pegadas (Bonesi *et al.*, 2006, Brzezinski *et al.*, 2008; Fasola *et al.*, 2009). Entre os métodos que permitem a deteção de pegadas e dejetos realça-se a realização de transectos para a deteção e recolha de dejetos e o uso de jangadas para registo de pegadas.

1.2.1. Transectos para a procura de indícios de presença das espécies

A realização de percursos pedestres (transectos) para procura de vestígios é atualmente o método-base utilizado para efetuar estudos de distribuição e de cálculo da abundância relativa de carnívoros. Este é o caso em países como a Espanha e o Reino Unido, entre outros, em que este método é utilizado para monitorizar as populações de fuinha (*Martes foina*, Erxleben 1777) (Virgós *et al.*, 2010), lontra (Ruiz-Olmo *et al.*, 2001) raposa (*Vulpes vulpes*, Linnaeus 1758) (Sadler *et al.*, 2004) e visão-americano (Bonesi & Macdonald, 2004c) principalmente por estas serem espécies que costumam deixar dejetos em locais proeminentes (Harrington *et al.*, 2008a; Strachan and Jefferies, 1996).

Este método permite conhecer a distribuição da espécie em estudo (Bonesi *et al.*, 2006), calcular a abundância relativa de determinada espécie e comparar áreas diferentes (Bonesi & Macdonald, 2004c), estudar a dieta da espécie, através da análise dos dejetos recolhidos (Lodé, 1993) e realizar estudos de competição (Brzezinski *et al.*, 2008; McDonald *et al.*, 2007). Fatores externos não parecem causar grandes desvios no cálculo da abundância desde que os transectos não sejam realizados em condições climáticas extremas (chuva, inundações), sejam sempre realizados pelo mesmo observador ou por equipas de observadores com conhecimento, motivação e experiência comparáveis, que os locais de deposição dos dejetos sejam facilmente visíveis de modo a garantir a detetabilidade dos mesmos, e que o solo seja suficientemente maleável de modo a ficarem registadas as pegadas das espécies em estudo (Bonesi & Macdonald, 2004c), ainda que, este último problema possa ser contornado ao restringir-se a procura apenas a dejetos (Barea-Azcon *et al.*, 2007), os quais são mais conspícuos, sendo também mais fácil recolhê-los em número significativo (Waits & Paetkau, 2005).

Além disso, na procura dos dejetos podem surgir erros estatísticos e sistemáticos resultando na obtenção de estimativas erradas. Os erros estatísticos resultam de fatores tão aleatórios como a escolha das unidades de amostragem. Os erros sistemáticos surgem quando não se consegue, repetidamente, detetar os vestígios de animais incluídos numa amostra (Thompson *et al.*, 1998). O objetivo deve ser evitar os erros sistemáticos e diminuir os estatísticos, sendo que estes últimos podem ser ultrapassados aumentando o esforço de amostragem. Por outro lado, a probabilidade de se encontrar vestígios das espécies em questão está relacionada com o comportamento das mesmas, fator que deve ser ponderado na escolha da época de amostragem (Bonesi & Macdonald, 2004c).

Contudo, o principal erro que pode surgir no método dos transectos é a identificação errada da espécie à qual pertence o indício, dejetos em particular. Na maioria dos estudos (Bonesi & Macdonald, 2004c; McDonald *et al.*, 2007, entre outros) assume-se que o investigador é capaz de identificar corretamente a espécie à qual pertence o dejetos baseando-se na sua forma, tamanho, odor e localização. No entanto, isto nem sempre é possível, especialmente se as espécies em estudo, são filogeneticamente próximas e possuem dimensões e hábitos alimentares semelhantes como acontece, por exemplo, com o visão-americano e o visão-europeu (Maran *et al.*, 1998) ou entre o primeiro e o toirão (Birks & Kitchener, 1999).

Desta forma, cada vez mais estudos têm vindo a realçar a importância da identificação específica dos dejetos com recurso a métodos moleculares face a identificações incorretas efetuadas com base na morfologia dos dejetos, mesmo quando estas são feitas por investigadores experientes (Hansen & Jacobsen, 1999; Harrington *et al.*, 2010; Davison *et al.*, 2002).

Assim, a identificação genética dos dejetos recolhidos, é cada vez mais um passo metodológico essencial para obter resultados fiáveis, centrando-se a investigação atual no desenvolvimento de marcadores específicos que permitam uma identificação rigorosa (e.g. Fernandes *et al.*, 2007; Lucentini *et al.*, 2007).

1.2.2. Jangadas como método de registo de pegadas

A identificação específica das pegadas é mais rigorosa que a dos dejetos pois os critérios (forma, dimensão, número de dedos) são mais fáceis de diagnosticar, desde que o observador tenha experiência na identificação de pegadas e conhecimento das pegadas das espécies existentes na área (Silveira *et al.*, 2003). Contudo, o registo de pegadas na natureza é difícil pois



Figura 4 - Jangada construída.

exige condições adequadas de solo, que deve ser maleável, e depende de muitos fatores externos (e.g. clima e vegetação) que interferem na detectabilidade (Bonesi & Macdonald, 2004c). Para evitar o problema da detectabilidade diferencial, têm sido

desenvolvidos diferentes métodos com aplicação no estudo dos carnívoros (e.g. estações de cheiro, *track-plates*) entre as quais as jangadas (Harrington *et al.*, 2008a).

As jangadas (Figura 4) são o método de eleição para detetar a presença de visão-americano. Um modelo de sucesso é o desenvolvido por Jonathan Reynolds em parceria com a instituição The Game Conservancy Trust, que é também utilizado para colocar armadilhas para a sua captura (Reynolds, 2003).

Estas, tal como descrito em detalhe por JC Reynolds e colaboradores, consistem numa plataforma de madeira (ca 1200 × 600 mm), que inclui um túnel (660 × 185 × 250 mm) dentro do qual é colocado um cesto com barro à mesma altura do piso da jangada. O barro fica com uma consistência húmida, e não muito dura de modo a que se algum animal atravessar o túnel a sua pegada fique bem marcada. Dado que flutuam, as jangadas são colocadas dentro de água, presas à margem com uma corda.

O uso espacialmente generalizado de jangadas tem como objetivo a determinação da presença ou ausência do visão-americano permitindo avaliar a sua distribuição e orientar programas de controlo da espécie. Permitem também o cálculo da abundância relativa à semelhança do que também já foi feito para outros carnívoros recorrendo a “*track-plates*” (Zielinski & Stauffer, 1996).

O facto das jangadas se encontrarem dentro de água reduz a probabilidade destas serem visitadas por animais com hábitos terrestres, como o toirão ou a geneta (*Genetta genetta*, Linnaeus 1758). Assim, este método consegue ser mais seletivo em relação às espécies que consegue detetar, apesar de, quando as jangadas são facilmente acedidas por terra, permitirem o acesso de um maior número de espécies.

1.3. Relevância e objetivos do estudo

Conhecendo as particularidades da comunidade de carnívoros presentes no NO de Portugal, pretendeu-se avaliar a eficácia relativa dos métodos dos transectos e das jangadas no cálculo da abundância relativa de visão-americano, incluindo a relação custo-benefício, sendo este um conhecimento crucial, para otimizar eventuais futuros planos de monitorização e gestão da espécie invasora e dos seus impactos sobre as espécies autóctones. Com base neste objetivo, colocaram-se as seguintes hipóteses:

- H1: O método das jangadas é aquele que apresenta uma melhor relação custo-benefício.
- H2: A identificação genética é um complemento essencial para a obtenção de resultados fiáveis no método dos transectos.

A Área Protegida engloba o espaço circundante de duas lagoas, a Lagoa de São Pedro de Arcos e a Lagoa do Mimoso, também conhecida como Lagoa de Bertandos, e a área envolvente às margens do troço final do Rio Estorãos, correspondente a 3,5 Km. A Lagoa de São Pedro, de maiores dimensões, possui um regime de inundação permanente/semipermanente, enquanto que a Lagoa do Mimoso, de menores dimensões, tem um regime de inundação sazonal, tendo estado inundada durante o período de amostragem apenas a partir de novembro de 2011. A área inclui uma grande variedade de habitats, como o sistema fluvial referente à zona do Rio Estorãos, os sistemas lacustres referentes à área das duas lagoas, bosques higrófilos, corredores de vegetação ripícola, e áreas intervencionadas pelo Homem como pastagens, pinhais, eucaliptais e áreas agrícolas.

Esta paisagem permite a existência de uma elevada diversidade florística, 508 espécies vegetais, que incluem alguns endemismos ibéricos, como o Narciso (*Narcissus triandrus*) e a Succisa pinnatifida (*Succisa pinnatifida*), por exemplo, e faunística, 218 espécies de vertebrados descritas.

Entre as espécies de flora existentes existem algumas com elevado valor conservacionista como é o caso de *Carex vesicaria*, cuja única população portuguesa se encontra na área da Lagoa do Mimoso e de *Rhynchospora modesti lucennoi*, considerada globalmente rara e ameaçada, que está presente na zona de bosques higrófilos dentro da Área Protegida.

Relativamente à fauna, apesar das suas reduzidas dimensões, a Área Protegida tem uma elevada diversidade, sendo o grupo das aves o mais diverso, com 144 espécies, seguido dos mamíferos, com 41 espécies. Com menor representatividade, os anfíbios, com 13 espécies, os répteis, com 11 espécies e por fim os peixes dulçaquícolas, com 9 espécies.

Do número de espécies de vertebrados inventariadas, 25 são consideradas de conservação prioritária, o que inclui, cinco espécies de peixes dulçaquícolas, seis anfíbios, dois répteis, cinco aves e sete mamíferos (Beja *et al.*, 2008). Destas 25 espécies, cerca de 22 estão dependentes em maior ou menor grau dos habitats mencionados na tabela 1.

Das espécies de mamíferos carnívoros existentes na Área Protegida, aquelas que partilham o habitat ripário com o visão-americano e, como tal, podem competir por recursos alimentares e/ou pelo espaço, são a lontra, a fuinha e a geneta.

Tabela 1 – Biótopos existentes na área de estudo e a sua relevância e importância para as espécies que neles habitam (Beja *et al.*, 2008).

Habitats	Relevância para as espécies florísticas a eles associadas	Relevância para as espécies faunísticas a eles associadas	Características
Cursos de água	Elevada	Excepcional	Importantes para um número elevado de espécies como zonas de alimentação, reprodução e refúgio
Galerias Rípicolas	Média		
Bosques Higrófilos	Elevada		
Lagoas	Elevada	Elevada	Importantes como zona de refúgio para a avifauna aquática, bem como muitas outras espécies de morcegos e mamíferos
Pastagens Húmidas	Elevada		
Zonas Agrícolas	Média	Média	Importantes para uma variedade de espécies como o leirão e a lagartixa
Eucaliptal	-	Reduzida	Mais humanizados; escassa utilização por espécies prioritárias de fauna
Pinhais	Média		
Zonas urbanas	-		

Devido à sua diversidade e raridade de habitats presentes e ao conjunto de espécies ameaçadas que neles ocorrem, a Paisagem Protegida de LBSPA é considerada um sítio com elevado valor conservacionista, estando classificado como Reserva Ecológica Nacional (REN) e Sítio Natura 2000 (Sítio Rio Lima). Em 2000 foi classificada como Paisagem Protegida e em 2005 como Sítio Ramsar (n.º 1613), adquirindo assim o estatuto de Zona Húmida de Importância Internacional.

Estas classificações constituem elementos críticos no que respeita à conservação da biodiversidade local, devido à importância da área como refúgio, habitat e zona de alimentação para uma grande diversidade de espécies vegetais e animais, sendo esta a única zona húmida classificada na Região Norte de Portugal, e o local ideal para a realização deste estudo.

2.2. Recolha e processamento das amostras

2.2.1. Transectos

Prospecção e recolha de dejetos

A amostragem centrou-se no interior dos limites da Área Protegida, mais especificamente nas Lagoas de São Pedro e do Mimoso, no Rio Estorãos e nas várias ribeiras que alimentam as lagoas já referidas, e decorreu entre setembro de 2011 e agosto de 2012.

Os percursos pedestres foram realizados mensalmente ao longo das margens dos sistemas aquáticos, assim como, quando tal era possível, em transectos a cerca de 50 metros de distância das margens dos mesmos, de modo a cobrir toda a Área Protegida e todos os habitats possivelmente utilizados pelas espécies em estudo neste trabalho (Figura 6).

As condições climáticas desfavoráveis não permitiram a realização dos transectos em abril, devido à elevada pluviosidade observada durante este mês. Além disso, a elevada densidade de vegetação ripícola nas margens das áreas aquícolas não permitiu, por vezes, o seguimento de toda a margem dos sistemas hídricos.

Tentou identificar-se os dejetos encontrados ao nível da espécie e estes foram recolhidos individualmente em tubos de plástico (*falcons*) contendo etanol a 96%, com o intuito de preservar o ADN fecal, para posterior identificação específica através de técnicas de biologia molecular. Atribuiu-se a cada dejecto encontrado um código de identificação e georreferenciou-se o local de recolha, com recurso a um dispositivo de GPS com uma precisão mínima de cerca de 10 m. Em cada tubo colocou-se uma legenda (Figura 7) com as seguintes

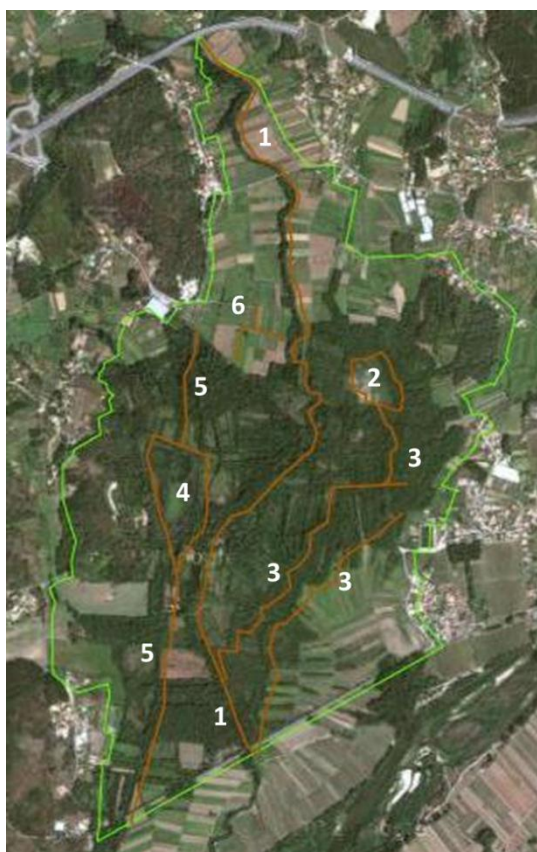


Figura 6 – Mapa dos transectos efetuados. Legenda: 1 - Estorãos; 2 - Lagoa do Mimoso; 3 - Ribeiras de alimentação da Lagoa do Mimoso; 4 - Lagoa de São Pedro; 5 - Ribeira de alimentação da Lagoa de São Pedro. 6 - Transecto terrestre em Estorãos.

informações: código; identificação da espécie pelo observador, com base na morfologia do dejetos e/ou odor; data; local de recolha; coordenadas geográficas (GPS); estimativa da “idade” do dejetos (recente, antigo) e percepção do seu conteúdo (e.g. Lagostim/Espinhas/Ossos).

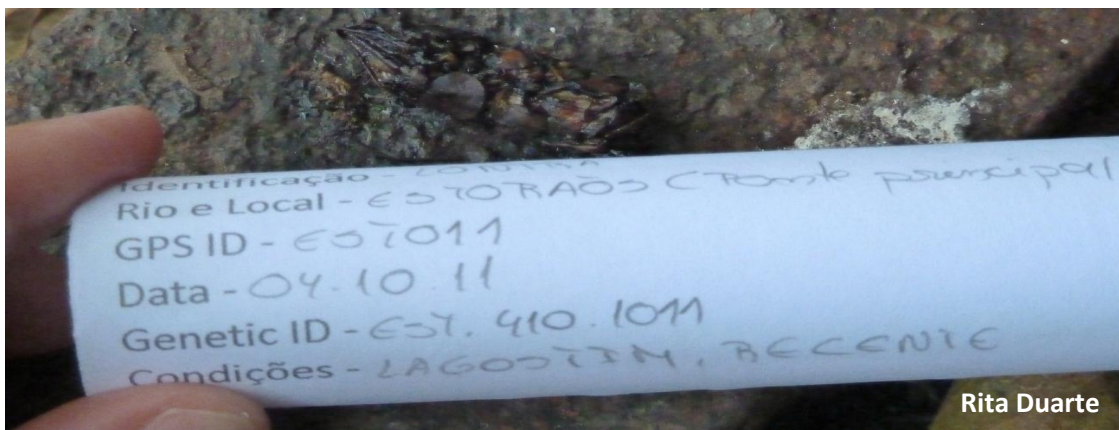


Figura 7 – Exemplo da legenda colocada nos tubos de recolha dos dejetos.

Evitou-se a colheita de dejetos antigos, i.e. com mais de uma semana, uma vez que a identificação genética destes é difícil, devido à degradação do material genético (Davison et al., 2002).

Identificação genética dos dejetos

Uma vez que, as espécies existentes na área de estudo apresentam hábitos alimentares semelhantes e são filogeneticamente próximas, verificámos grandes dificuldades na sua identificação específica (Figura 8).

Para minimizar os erros de identificação dos dejetos recolhidos durante a realização dos transectos, estes foram identificados geneticamente.

Os dejetos recolhidos e identificados com base na sua morfologia, foram conservados em etanol a 96% e congeladas (-20°C) para evitar a degradação do ADN.



Figura 8 – Dejetos encontrados na área de estudo e identificados geneticamente: A – Lontra; B – Visão; C - Fuinha; D -Geneta.

Para a extração do ADN dos dejetos utilizou-se o kit PSP Spin Stool (Invitex, Berlim, Alemanha), seguindo as instruções e recomendações de extração do fabricante. O volume final de ADN eluído por amostra foi de 100 μ L.

Para identificação específica, o ADN extraído de cada amostra foi amplificado através da técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction), utilizando marcadores moleculares desenvolvidos por Fernandes *et al.* (2008) e Harrington *et al.*, 2010, capazes de amplificar uma porção do gene mitocondrial do citocromo b, uma vez que este é variável entre espécies, mas é conservado em cada espécie.

Cada reação de amplificação por PCR foi preparada para 10 μ L de volume final, utilizando 1 \times HOT FIREPol Buffer B1, 2mM MgCl₂, 0.2 mM de cada dNTP, 0.25 μ M de cada primer, 0.6 U de HOT FIREPol DNA Polymerase (Solis BioDyne, Tartu, Estónia) e 4 μ L de extrato de ADN. Para cada amplificação utilizou-se também um controlo negativo que não continha extrato de ADN, mas 4 μ L de água, para excluir a hipótese de contaminação das amostras durante a preparação do PCR.

As reações foram corridas no dispositivo GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido) com uma desnaturação inicial a 95° durante 15 minutos, seguido de 50 ciclos de 30 segundos a 94°C, 45 segundos a 54°C (para primers

de lontra) ou 55°C (para os primers de visão-americano) e 45 segundos a 72°C. A extensão final foi feita a 72°C durante 7 minutos. Após a amplificação as amostras foram mantidas no frigorífico.

Os produtos da amplificação foram corridos num gel de agarose/TBE a 2%, contendo 2µL de *red safe*. Considerou-se o resultado positivo quando os produtos do PCR apareciam como uma simples banda com as dimensões esperadas (Figura 9).

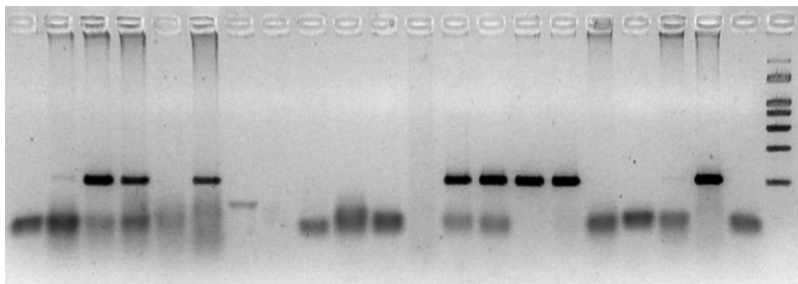


Figura 9 – Imagem de um gel de agarose com marcadores moleculares específicos para o visão-americano.

Como a maioria dos dejetos foram identificados no campo como sendo de lontra ou de visão-americano, o protocolo laboratorial seguido iniciou-se com a amplificação da amostra usando os marcadores moleculares específicos das referidas espécies (LlutraF2/LlutraR2 e MvisonF1/Mvison R1, respetivamente) (Fernandes *et al.* 2008).

O ADN extraído que não amplificou para nenhuma das espécies referidas foi depois amplificado com um marcador molecular capaz de amplificar uma sequência do citocromo b conservada em todos os carnívoros da região (L15533/H15791, Harrington *et al.*, 2010) para se verificar a viabilidade do ADN extraído e para excluir a possibilidade deste pertencer a presas presentes nos dejetos. Prosseguiu-se a identificação com marcadores moleculares das restantes espécies presentes na área de estudo (toirão, fuinha, marta (*Martes martes*, Linnaeus 1758), geneta e raposa), visto que este método apresentava uma melhor relação custo-benefício do que realizar uma sequenciação do ADN, uma vez que existiam marcadores moleculares para as espécies de interesse em *stock*.

Em grande parte dos PCRs efetuados para as espécies mais raras (*e.g.*, toirão) ou aquelas cujo perfil de PCR não estava tão otimizado (fuinha, geneta e raposa), além do controlo negativo de PCR, utilizou-se também um controlo positivo que consistia numa amostra de tecido previamente identificada das espécies em questão. Este controlo assegurava que os PCRs funcionavam corretamente, uma vez que este ADN provinha da espécie em teste e sendo de melhor qualidade, não se degrada tão facilmente.

2.2.2. Jangadas

As jangadas foram dispostas no terreno na semana de 7 a 11 de novembro de 2011 e deixadas nos locais selecionados entre novembro de 2011 e janeiro de 2012, sendo verificadas a um ritmo semanal entre 14 de novembro e 14 de dezembro de 2011 e depois mais tarde a 17 e 18 de janeiro de 2012, num total de seis semanas de amostragem, uma vez que esta era a metodologia que estava a seguir-se no âmbito do Projeto DILEMA (M. Santos.Reis, com.pess). No total foram colocadas 16 jangadas: duas na Lagoa de São Pedro, uma na Lagoa do Mimoso, seis no Rio Estorãos, três na ribeira de alimentação à Lagoa de São Pedro e quatro nas várias ribeiras de alimentação à Lagoa do Mimoso, distanciadas em cerca de 500m entre si, com o intuito de abranger os vários tipos de sistemas aquáticos

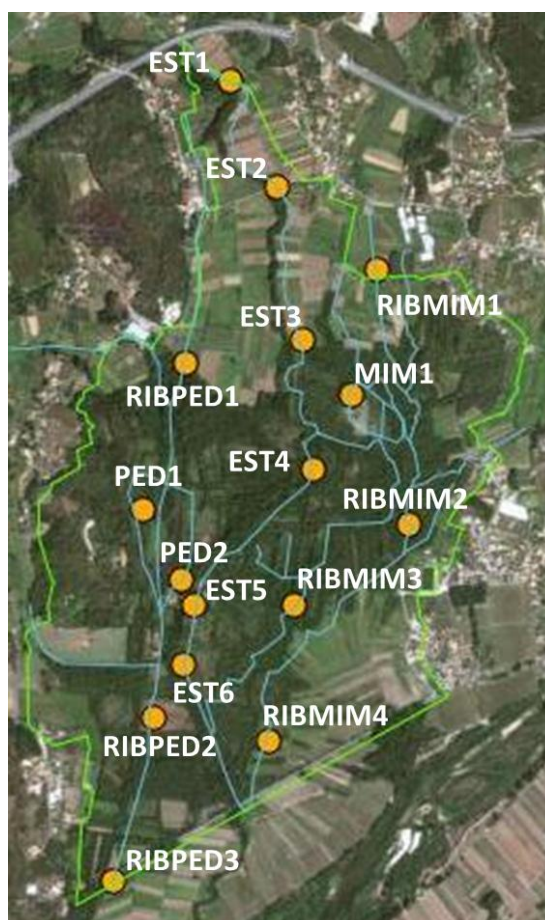


Figura 10 – Distribuição das jangadas (círculos laranjas) dispostas nos sistemas aquáticos da área de estudo (linhas a azul claro).

existentes na área de estudo (Figura 10). Uma das jangadas colocada no Rio Estorãos (EST 5) teve, no entanto, de ser retirada, uma vez que estava num local de corrente forte onde, principalmente em períodos de elevada pluviosidade, foi encontrada diversas vezes virada ao contrário, perdendo o cesto ou parte do túnel.

Os registos efetuados tiveram em conta a presença ou ausência de pegadas nas várias jangadas em casa visita. As pegadas encontradas foram fotografadas e mais tarde identificadas com recurso a bibliografia (Macdonald & Barret, 1993; Bang & Dahlstrøm, 2001).

Há diferenças claras no tamanho e forma das pegadas de visão-americano, lontra, fuinha e geneta, mas as pegadas de visão-americano e toirão são de tamanho e forma muito semelhante sendo quase impossível distingui-las. Para resolver esta questão, Harrington *et al.* (2008b) desenvolveram um algoritmo que a partir da medição de determinadas distâncias entre pontos-chave das pegadas impressas no barro das

jangadas permitiu a distinção correta entre pegadas de visão e de toirão em 90% dos casos.

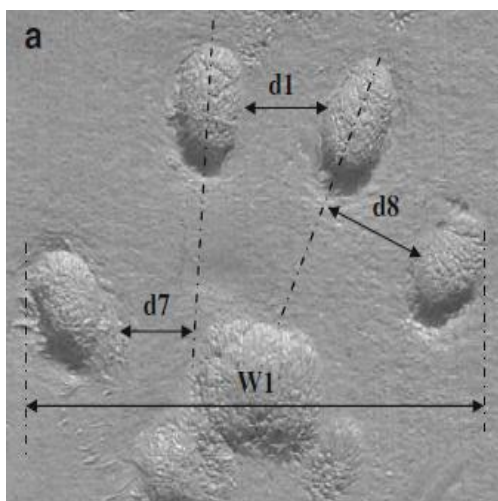


Figura 11 – Pegada de visão com as medidas utilizadas para a aplicação da fórmula (Harrington *et al.*, 2008b)

Quando em dúvida se a pegada pertencia a um visão-americano ou a um toirão, esta foi identificada utilizando o programa *Animaltrack2* e o algoritmo desenvolvido por Harrington *et al.* (2008b), através da medição das distâncias indicadas na figura 11 e da utilização da fórmula: $1,70 \cdot 0,75W1 + 2,43d1 + 1,85(d7 + d8)$.

Se o valor resultante da aplicação da fórmula era positivo considerou-se que a pegada pertencia a um visão-americano, se negativo a um toirão. Neste estudo, e com base em registos prévios na área de amostragem à larga escala (NO Portugal, Equipa DILEMA dados não publicados), foi usado o intervalo $[-2,2]$ como limite de decisão, de modo a diminuir o erro da identificação. Assim se o resultado fosse superior a 2, considerou-se que a pegada pertencia a um visão-americano e se inferior a -2 a um toirão.

Para minimizar a subjetividade da medição, e conseqüentemente o erro, cada pegada encontrada foi medida três vezes pelo mesmo observador (R Duarte), sendo que o resultado final da identificação resultou da média das 3 medidas obtidas.

Nos locais onde foram colocadas as jangadas, foi feita uma caracterização do habitat envolvente, considerando uma série de variáveis (Anexo IV) que em estudos anteriores se revelaram importantes para a ocorrência do visão-americano, como a presença e tipo de vegetação existente nas margens dos rios, representada pela qualidade geral do habitat (Bonesi & Macdonald 2004a), a presença de eventuais perturbações humanas (Melero *et al.*, 2008) e as características do rio e do substrato rochoso associado (Brzezinski *et al.*, 2008; Fasola *et al.*, 2009).

2.3. Relação custo-benefício

A maioria dos protocolos de monitorização está limitada por constrangimentos de tempo e orçamento (Gese, 2001; Barea-Azcon *et al.*, 2007) pelo que estes fatores devem

ser tomados em consideração previamente à implementação no terreno da estratégia de amostragem. Nesta perspectiva, avaliou-se a relação de custo-benefício para cada método utilizado neste estudo, utilizando os seguintes parâmetros: (1) número de registos obtidos, (2) sucesso de deteção, (3) esforço despendido, e (4) custo.

Para cada método calcularam-se as despesas referentes a:

- i) Recursos Humanos - pagamento de um técnico de investigação, quer para o trabalho de campo, quer para o trabalho de laboratório, em função do tempo de dedicação às diferentes tarefas (dias de campo e a posterior análise dos dados recolhidos, ou seja, a identificação genética dos dejetos recolhidos no método dos transectos e a medição das variáveis necessárias para identificar as pegadas detetadas no métodos das jangadas), utilizando como referência os valores tabelados pela Fundação da Ciência e Tecnologia para este tipo de funções, ou seja, 745 euros por mês, o que dividido por um total de 22 dias úteis de trabalho por mês, dá um valor de 33,86 euros por dia.
- ii) Equipamento - custos relativos ao valor dos equipamentos necessários retirados da bibliografia (*e.g.*, Reynolds *et al.*, 2004) ou cedidos diretamente pelos fornecedores;
- iii) Consumíveis – inclui todos os reagentes necessários para a extração e amplificação por PCR, caixas de armazenamento dos dejetos, os *falcons* para a recolha dos dejetos no campo, os *ependorfs* onde decorreram as reações em laboratório, as *strips* e *caps* necessárias para amplificação por PCR, a agarose, tampão e *red-dye*, necessários para fazer um gel de agarose, e o corante e escada necessários para observar a migração das bandas no gel;
- iv) Missões - valor médio gasto em alojamento, alimentação e combustível, contabilizando-se o número de visitas e o número de dias necessários para se obter os dados no campo. Na contabilização dos custos do alojamento, utilizou-se o valor da estadia na Pousada da Juventude de Ponte de Lima e do Albergue do Parque de Campismo da Quinta de Pentieiros. Quanto à alimentação, utilizaram-se os valores médios gastos por saída. Em relação aos custos da viagem, contabilizou-se o custo em combustível de uma viagem de ida e volta entre o Campo Grande, Lisboa, e Ponte de Lima, assim como das respetivas portagens para um automóvel de classe 2, como era o caso do que foi utilizado para as saídas de campo. Em relação ao combustível gasto nos dias de trabalho de campo, tendo em conta um automóvel com um consumo de 9L/100Km, e

que o percurso entre a Pousada da Juventude e a Área Protegida era de 7 Km considerou-se um gasto por dia em combustível para o método das jangadas de 1,5 euros, considerando que no percurso entre as jangadas se percorriam cerca de 3 Km, enquanto que para o métodos dos transectos, como estes eram feitos a pé, o carro ficava estacionado em dois parques da Área Protegida e por isso estimou-se um custo de 1 euro por dia em combustível.

2.4. Análise estatística

2.4.1. Análise de dados referentes aos transectos

Comparação das estimativas de abundância entre habitats e espécies

Construiu-se em SIG (Sistema de Informação Geográfica) um mapa da Área Protegida, no qual as margens dos habitats em estudo (Rio Estorãos, Ribeiras do Mimoso, Ribeira de São Pedro, Lagoa do Mimoso e Lagoa de São Pedro) foram divididas em secções contínuas de 500m, a mesma distância utilizada por Harrington *et al.* (2008), e de 250m, utilizando o programa *Quantum GIS*, para mapeamento georreferenciado dos dejetos detetados e o cálculo da abundância relativa através do método dos transectos. Optou-se por utilizar também secções de 250m de modo a maximizar a informação retirada dos dados, tendo em conta as reduzidas dimensões da Área Protegida. A presença de um ou mais dejetos de visão-americano em cada secção, corroborada pela identificação genética dos mesmos, determinou que fosse considerada a presença de visão nessa mesma secção e a abundância relativa foi calculada como a proporção de secções com presença em relação ao número total de secções amostradas, para os vários habitats referidos acima. Recorreu-se de seguida ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para verificar se existiam diferenças significativas entre habitats, e um teste *à posteriori* de Dunn, para verificar quais os habitats que mais se diferenciavam.

Alguns dos dejetos de visão-americano recolhidos foram encontrados nas jangadas montadas na área de estudo. Dada a seletividade do método, estes poderiam resultar numa sobrestimação do cálculo da abundância, pelo que se optou por incluir e excluir estes dejetos da análise e testar a eventual existência de diferenças significativas entre os índices respetivamente calculados. Verificou-se igualmente se existiam diferenças significativas considerando secções de diferente dimensão (250m e 500m), utilizando o teste estatístico não-paramétrico de Wilcoxon.

Uma vez que o ciclo reprodutor pode influenciar a maior ou menor detetabilidade de vestígios de visão-americano (Bonesi & Macdonald, 2004c) estudou-se a influência que este fator, assim como a precipitação, tiveram no número de dejetos encontrados e na estimativa de abundância da espécie na área de estudo.

Em outubro de 2011 foi recolhido um número elevado de dejetos (N=98), influenciado muito provavelmente por ainda não ter chovido na semana em que se realizaram os transectos, encontrando-se o terreno muito seco. No entanto, a média mensal de precipitação deste mês foi a segunda mais alta do ano de amostragem (84,8 mm, IM IP 2012). Desta forma, optou-se por utilizar a média dos valores de precipitação diários dos 10 dias anteriores ao último dia em que se realizou os transectos, para todos os meses (SNIRH 2012), em vez dos valores totais mensais.

Para a avaliação da influência do ciclo reprodutor do visão-americano na probabilidade de se encontrar dejetos da espécie, consideraram-se os seguintes períodos: janeiro a março - cio; abril a junho - gestação e lactação; julho a outubro - dispersão dos juvenis; novembro a dezembro - estabelecimento dos territórios de inverno.

Por fim, e dado o potencial efeito dissuasor da presença da lontra sobre o visão, calculou-se ainda a abundância relativa de lontra recorrendo à mesma metodologia e avaliou-se a eventualidade de correlação, utilizando uma correlação de Spearman, entre as abundâncias relativas de ambas as espécies. De igual modo, para esta espécie foi avaliada da precipitação nos valores de abundância calculados.

Análise genética versus análise morfológica dos dejectos

Na análise da identificação genética verificou-se o grau de correspondência entre a identificação genética e a identificação morfológica realizada no campo e fez-se uma análise descritiva das identificações incorretas. Foi também testado e avaliado se a “idade” do dejetos (muito velho, velho, não muito fresco, fresco e muito fresco) e o mês em que este foi recolhido estavam correlacionados com a capacidade dos observadores identificarem corretamente o dejetos.

Analisou-se ainda se fatores como a precipitação nas semanas anteriores à recolha do dejetos ou a “idade” do dejetos comprometiam a sua identificação genética, através da verificação da proporção do número de dejetos identificados à espécie face ao número de dejetos em que o ADN foi extraído com sucesso. Para as duas análises referidas anteriormente utilizou-se uma correlação de Spearman e de seguida um modelo linear

generalizado (GLM) para as variáveis que estivessem correlacionadas com a variável dependente.

2.4.2. Análise de dados referentes às jangadas

No cálculo da abundância relativa de visão-americano, utilizando os dados recolhidos com o método das jangadas, calculou-se a proporção de jangadas onde foram encontradas pegadas de visão-americano, cuja identificação foi confirmada após se efetuarem as medições no programa *Animaltrack*, em relação ao número total de jangadas existentes para cada habitat, e verificou-se igualmente se existiam diferenças significativas entre estes, utilizando a abordagem não-paramétrica para comparação de amostras (teste de Kruskal-Wallis, seguido de um teste *à posteriori* de Dunn, para verificar quais os habitats que diferiam entre si).

Por fim, e uma vez que apenas se obteve dados de caracterização de habitat para os locais onde foram colocadas as jangadas, examinou-se se as variáveis registadas afetam a presença de visões utilizando um modelo linear generalizado (GLM), em que a variável binomial dependente correspondeu à presença/ausência do visão-americano em cada jangada e as variáveis independentes foram as de caracterização do habitat que não se revelaram correlacionadas entre si.

Uma vez que os dados recolhidos não cumpriram os pressupostos de normalidade, de acordo com os resultados dos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk, e de homogeneidade de variâncias, segundo o teste de Levene, efetuou-se uma transformação do dados, utilizando o arcoseno da raiz quadrada nas proporções calculadas, tal como é recomendado para dados proporcionais (Zar 1996). Mesmo assim, a transformação do dados não permitiu cumprir os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias pelo que as análises estatísticas foram realizadas com recurso a métodos não-paramétricos.

Para todos os testes a significância estatística foi aceite para valores de probabilidade inferiores a 0,5 e os cálculos efetuados com recurso aos programas Microsoft Office Excel 2010, STATISTICA 10 StatSoft Inc e R versão 2.15.1.

3. Resultados

3.1. Abundância relativa de visão-americano através do método dos transectos

Ao longo do período de amostragem foram recolhidos 332 dejetos na área de estudo (mediana=22; média=29,72; variação 3-98, n=11, uma vez que em abril a precipitação elevada não permitiu realizar os transectos). A extração do ADN foi possível para 245 dejetos, dos quais 163 (66,5%) foram identificados geneticamente, com sucesso: 87 de visão-americano, 71 de lontra, 3 de geneta, 2 de fuinha e 1 de raposa. Estes resultados são reveladores de uma elevada eficácia na detecção de carnívoros ripários face ao reduzido número de dejetos relativos a espécies de hábitos terrestres.

Estimativas de abundância

No cálculo da abundância, foram apenas contabilizados os dejetos identificados geneticamente (Figura 12). Complementarmente verificou-se que existiam diferenças significativas no cálculo da abundância considerando secções de 250m e de 500m (W: T=9,5, n=23, p-value=0,0000929586936), pelo que em todas as análises subsequentes tenham sido consideradas ambas as escalas. Relativamente à influência das jangadas, não se encontrou diferenças significativas entre a abundância calculada com e sem os dejetos detetados nas mesmas (W: T=4, n=7, p-value=0,0909699219), pelo que todas as análises seguintes incluíram os dejetos encontrados nas jangadas.

O uso dos 5 habitats considerados pelo visão variou significativamente em qualquer das escalas consideradas (Kruskal-Wallis



Figura 12 – Abundância relativa do visão-americano na Área Protegida, ao longo do período de amostragem. Legenda: bolas verdes – limites das secções de 250m. Bolas amarelas – abundância do visão-americano. O tamanho da bola corresponde ao número de registos em cada secção (mínimo 1, máximo 4).

chi-squared = 16.5949, df = 4, p-value = 0.002316, secções de 250m; Kruskal-Wallis chi-squared = 16.8195, df = 4, p-value = 0.002095, secções de 500m), sendo que o habitat que apresentou uma maior abundância da espécie foi a Lagoa de São Pedro, contrastando com o Rio Estorãos e as Ribeiras do Mimoso, habitats menos utilizados pela espécie. Utilizando as secções de 500m, os habitats mais contrastantes relativamente à sua utilização pela espécie são as Ribeira do Mimoso (menos utilizado) e a Lagoa de São Pedro (mais utilizado).

Pelo contrário, as variações no nível da precipitação (MW: U = 82, $n_{1,2}=55$, p-value = 0,704959024, secções de 250m; MW: U= 283, $n_{1,2}=55$, p-value = 0,755177002, secções de 500m), e nos diferentes períodos do ciclo reprodutor do visão-americano (Kruskal-Wallis chi-squared = 4.2843, df = 3, p-value = 0.2324; Kruskal-Wallis chi-squared = 4.712, df = 3, p-value = 0.1941, para secções de 250m e 500m, respetivamente), não revelaram diferenças significativas.

No entanto, e tal como expectável, o número de dejetos recolhido foi mais elevado nos meses de menor precipitação (dezembro a março e junho a setembro) e nos períodos de maior atividade de reprodução, ou seja, durante o cio e no período de dispersão dos juvenis (Figura 13).

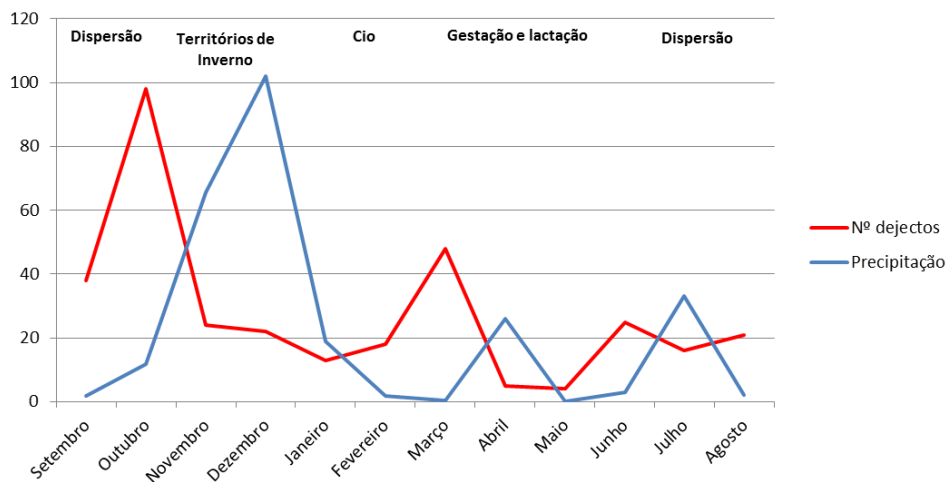


Figura 13 – Variação do número de dejetos e da precipitação ao longo do período de amostragem. Nota: A média dos valores diários de precipitação foram multiplicados por 100 para se tornarem visíveis no gráfico.

Eficácia da identificação dos dejetos no terreno

A identificação genética dos dejetos relativamente aos quais foi possível extrair ADN com sucesso, revelou uma taxa de sucesso na identificação dos dejetos no terreno de 38,4%, sendo que 61,6% das identificações estavam incorretas. No entanto, entre as identificações erradas 39,2% ocorreram entre espécies próximas, lontra, visão e fuinha, 25,6% tinham um grau de correspondência de 50%, ou seja, no campo o dejetos foi identificado como sendo de mustelídeo, e verificou-se pela identificação genética que correspondiam a dejetos de visão, lontra ou fuinha. Apenas 2,4% das identificações feitas no campo revelaram um elevado grau de erro ao corresponderem a espécies taxonomicamente distantes.

Da análise dos resultados expressos na tabela 2, podemos concluir também que o maior grau de confusão se refere a duas espécies de mamíferos ripários (lontra e visão), apesar de os dejetos de lontra serem os que demonstraram uma maior taxa de sucesso (59,4%) na identificação com base apenas em critérios morfológicos.

Tabela 2 – Concordância entre a identificação dos dejetos feita no campo e a identificação genética.

Identificação no campo / Identificação genética	Visão-americano	Lontra	Mustelídeo	Visão/Toirão	Lontra/Visão	Toirão	Fuinha	Total
Visão-americano	22	28	27	2	7	0	1	87
Lontra	8	41	13	3	6	0	0	71
Geneta	1	0	2	0	0	0	0	3
Raposa	0	0	0	0	0	1	0	1
Fuinha	0	0	2	0	0	0	0	2
Total	31	69	44	5	13	1	1	164

A associação entre a identificação no campo e a genética foi testada relativamente à “idade” do dejetos (muito velho, velho, não muito fresco, fresco e muito fresco) e ao mês em que o dejetos foi recolhido, revelando uma correlação positiva com este último, mas não com a “idade” do dejetos ($R_s = 0,415421746$, $n=164$, $p\text{-value}=0,00$, para o fator mês; $R_s = 0,0178771991$, $n=164$, $p\text{-value}= 0,820262868$, para o fator estado). Os meses que revelaram mais influência no grau de correspondência foram março ($p\text{-value}= 0.0213$), julho ($p\text{-value}= 0.0341$) e agosto ($p\text{-value}= 0.0138$).

Quando se avaliou se precipitação influenciava a capacidade de se identificar o dejetos geneticamente com sucesso, tal não se verificou ($R_s = 0,171628985$, $n= 12$, p -

value= 0,593786806, para o fator precipitação). Resultado idêntico foi obtido relativamente ao fator “idade” ($R_s=0,216783217$, $n=12$, $p\text{-value}=0,498555986$).

Influência da abundância de lontra

Contrastando com os resultados obtidos para o visão-americano, não se observaram diferenças significativas na abundância de lontra nos vários habitats presentes na área protegida (Kruskal-Wallis chi-squared = 4.9276, $df = 4$, $p\text{-value} = 0.2948$; Kruskal-Wallis chi-squared = 4.2086, $df = 4$, $p\text{-value} = 0.3785$, para secções de 250m e 500m, respetivamente), o que indica uma distribuição mais generalizada (Figura 14), nem em função da precipitação (MW: $U=245$, $n_{1,2}=55$, $p\text{-value} = 0,303032759$; MW: $U=237$, $n_{1,2}=55$, $p\text{-value} = 0,237548396$, para secções de 250m e de 500m, respetivamente).

Contrariamente ao esperado numa situação de competição quando em simpatria, a abundância de visão-americano mostrou-se positivamente correlacionada com a de lontra ($R_s=0,4563$, $p\text{-value}=0,000462$, $N=55$; $R_s=0,4554$, $p\text{-value}=0,000477$, $N=55$; Figura 15).



Figura 14 – Abundância da lontra na Área Protegida, ao longo do período de amostragem. Legenda: Bolas verdes – limites das secções de 250m. Bolas laranjas – abundância da lontra. O tamanho da bola corresponde ao número de registos de cada secção (mínimo 1, máximo 5).

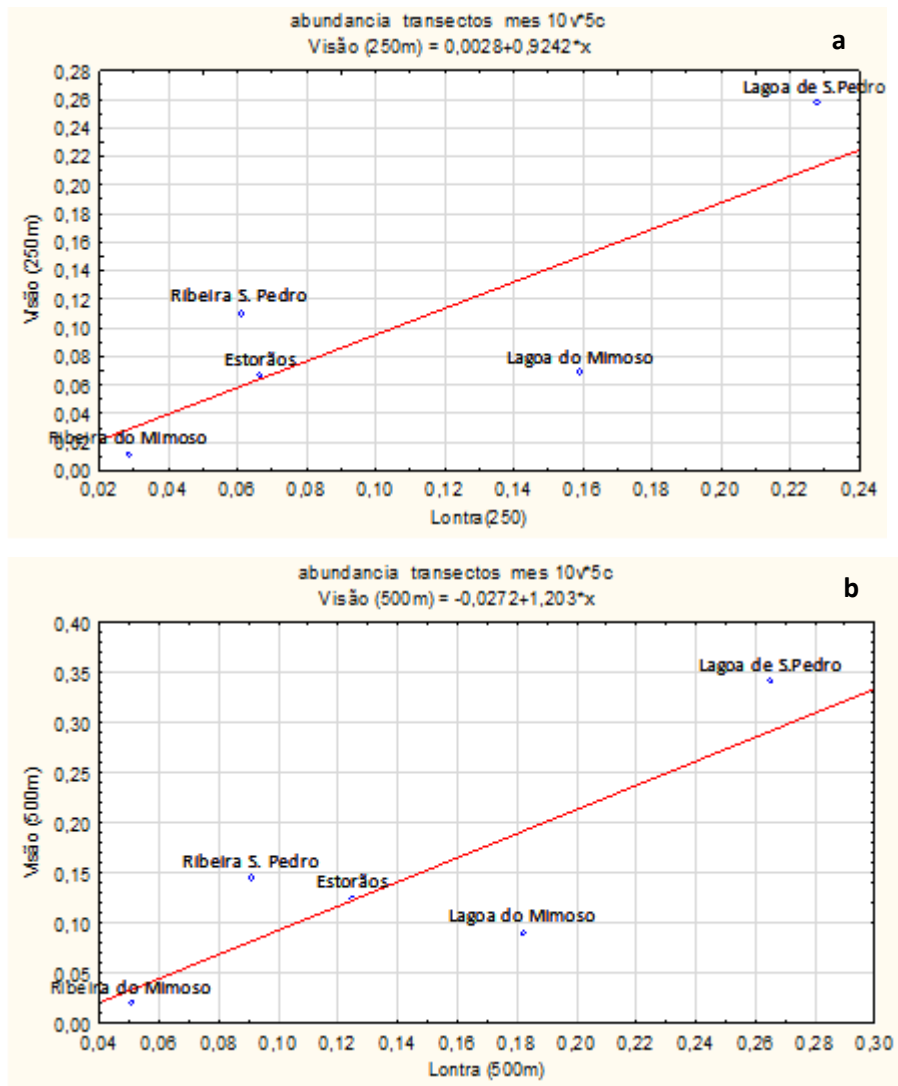
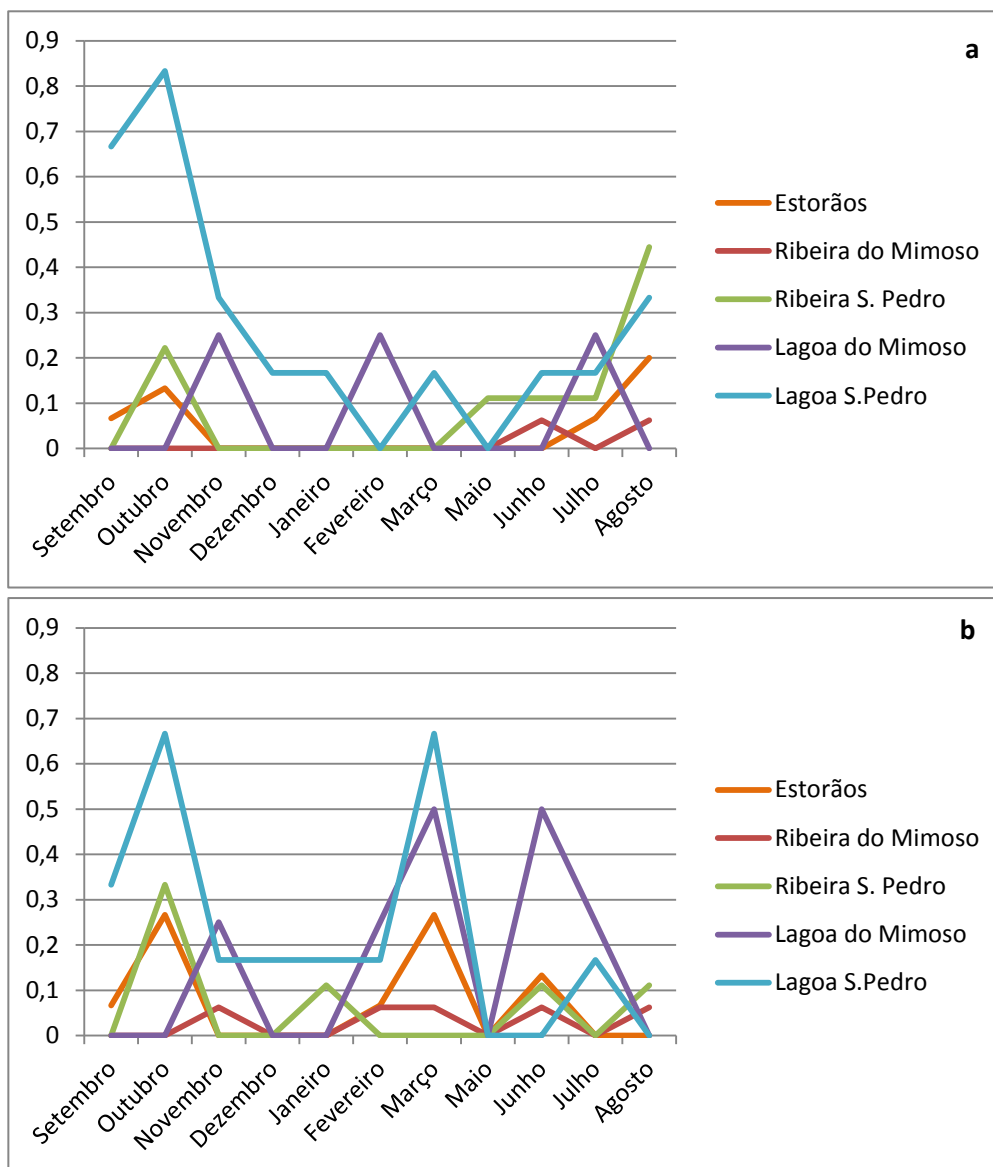


Figura 15 – Correlação positiva observada entre a abundância de visão-americano e de lontra na Área Protegida, para as secções de 250m (a) e de 500m (b).

Da observação das figura 16, regista-se que o visão-americano atinge maiores abundâncias que a lontra na Lagoa de São Pedro, mas que esta no entanto, ocupa uma maior variedade de habitats com semelhante abundância. De notar também que no mês de março, apenas se encontra o visão na Lagoa de São Pedro, enquanto que a lontra se encontra em toda a área com exceção da Ribeira de São Pedro. Observa-se ainda que ao longo do ano de amostragem, registaram-se oscilações visíveis na abundância em que ambas as espécies apresentam nos diferentes habitats.



Figuras 16 – Distribuição do visão-americano (a) e da lontra (b), nos vários habitats da Área Protegida e ao longo do ano de amostragem.

Nota-se ainda que há uma elevada discrepância entre a abundância calculada juntando os dejetos recolhidos em todo o período de amostragem e a abundância calculada por cada mês de amostragem (Tabelas 3 e 4), sendo que o cálculo da abundância com os dejetos recolhidos em todo o período de amostragem, aparenta levar a uma sobreestimação da abundância do visão-americano e da lontra na Área Protegida. Por outro lado, o facto dos valores serem tão diferentes, indica que há grandes oscilações na abundância de ambas as espécies na Área Protegida, ao longo do ano.

Tabelas 3 e 4 – Comparação da abundância calculada para cada habitat, utilizando os dejetos todos (média geral) e fazendo a média das abundâncias calculadas para cada mês (média mensal).

Média geral	Visão (250m)	Visão (500m)	Lontra (250m)	Lontra (500m)	Jangadas
Estorãos	0,27	0,88	0,67	0,75	0,1
Ribeira do Mimoso	0,13	0,22	0,19	0,33	0,38
Ribeira S. Pedro	0,44	0,8	0,56	0,8	0,39
Lagoa do Mimoso	0,5	0,33	0,5	1	0
Lagoa de S.Pedro	0,83	1	1	1	0,33

Média mensal	Visão (250m)	Visão (500m)	Lontra (250m)	Lontra (500m)
Estorãos	0,06	0,13	0,06	0,13
Ribeira do Mimoso	0,01	0,02	0,02	0,05
Ribeira S. Pedro	0,11	0,14	0,06	0,09
Lagoa do Mimoso	0,06	0,09	0,16	0,18
Lagoa de S.Pedro	0,25	0,34	0,23	0,27

3.2. Abundância do visão-americano utilizando o método das jangadas

Ao longo das seis semanas de amostragem, foram obtidas e medidas 254 pegadas de carnívoros de pequeno/médio porte, das quais 64 foram identificadas como sendo de visão-americano, 26 de toirão e as medidas das restantes, mostraram-se inconclusivas, com o resultado da aplicação da fórmula variando entre -2 e 2.

Oito das 15 (53,3%) jangadas instaladas apresentaram registos de pegadas de visão pelo menos uma vez, sendo que o número de registos variou entre 0 e 4 por jangada (mediana=0, média=1,33, Figura 17).

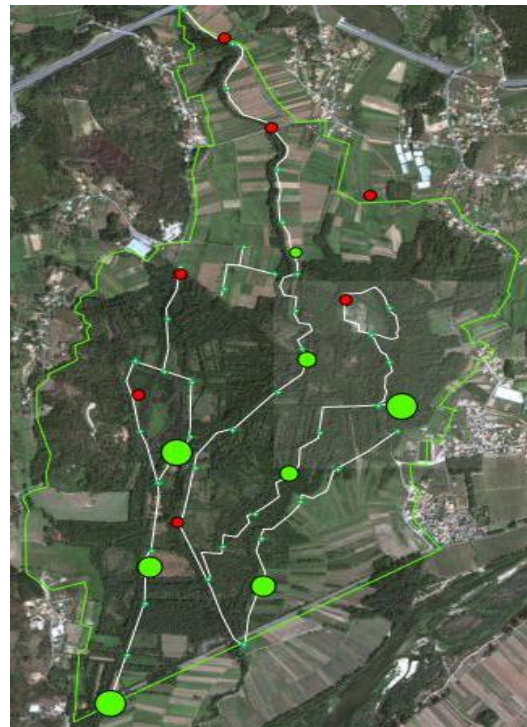


Figura 17 – Registo obtidos pelas jangadas. Legenda: Bolas vermelhas: jangadas sem pegadas. Bolas verdes: jangadas com pegadas. O tamanho da bola corresponde ao número de registos de cada jangada (mínimo 1, máximo 4).

A abundância calculada para cada local (Tabela 3) diferiu significativamente (Kruskal-Wallis chi-squared = 15.0686, df = 4, p-value = 0.004561), particularmente entre a Lagoa do Mimoso e a Lagoa e Ribeira de São Pedro. No entanto, nenhuma das variáveis ambientais consideradas parece explicar esta variação (GLM Binomial, p-values > 0,05).

As abundâncias estimadas para cada habitat através do método das jangadas não se mostram correlacionadas com o método dos transectos ($R_s=0,1$, p-value= 0,872889, N=5).

3.3. Análise da relação custo-benefício entre métodos

No geral, o método dos transectos conseguiu um maior número de registos que o método das jangadas, assim como um maior número de registos que se verificaram pertencer ao visão-americano, ou seja, um maior sucesso de deteção (Figura 18).

Analisando o esforço necessário para cada método, são necessários 4 dias no campo, para realizar a totalidade dos transectos, e 2 dias no laboratório para identificar cerca de 30 dejetos (valor aproximado às unidades do valor médio mensal de dejetos recolhidos no campo, ao longo do período de amostragem). Em relação às jangadas, são necessários 2 dias no campo para verificar a presença de pegadas, para um total de 16 jangadas, sendo que posteriormente são necessários cerca de 2 dias para medir as pegadas e identificar a espécie à qual pertencem. Para o método dos transectos foi necessário um total de 12 visitas à área de estudo para se obter uma ideia da distribuição do visão-americano ao longo da área, enquanto que para o método das jangadas são necessárias 7 visitas à área de estudo, uma para montar e colocar as jangadas, e seis para fazer o seguimento das mesmas durante seis semanas.

Para o método dos transectos, o trabalho do técnico de investigação consiste na recolha dos dejetos durante a realização dos transectos e na sua posterior identificação genética no laboratório (extração, amplificação por PCR, corrida das amostras no gel de agarose para identificação da espécie a que pertence o dejetos). Para o método das jangadas, o trabalho do técnico de investigação consiste na montagem das jangadas no campo, na verificação das mesmas todas as semanas com registo fotográfico de cada pegada e na posterior análise dessas fotografias medindo as distâncias necessárias para a identificação da espécie a que pertence a pegada. Uma vez que, no campo foram sempre necessários dois técnicos de investigação, o valor do técnico de investigação foi

multiplicado por dois e pelo número de dias necessários no campo para cada método, quatro para o método dos transectos e dois para o método das jangadas.

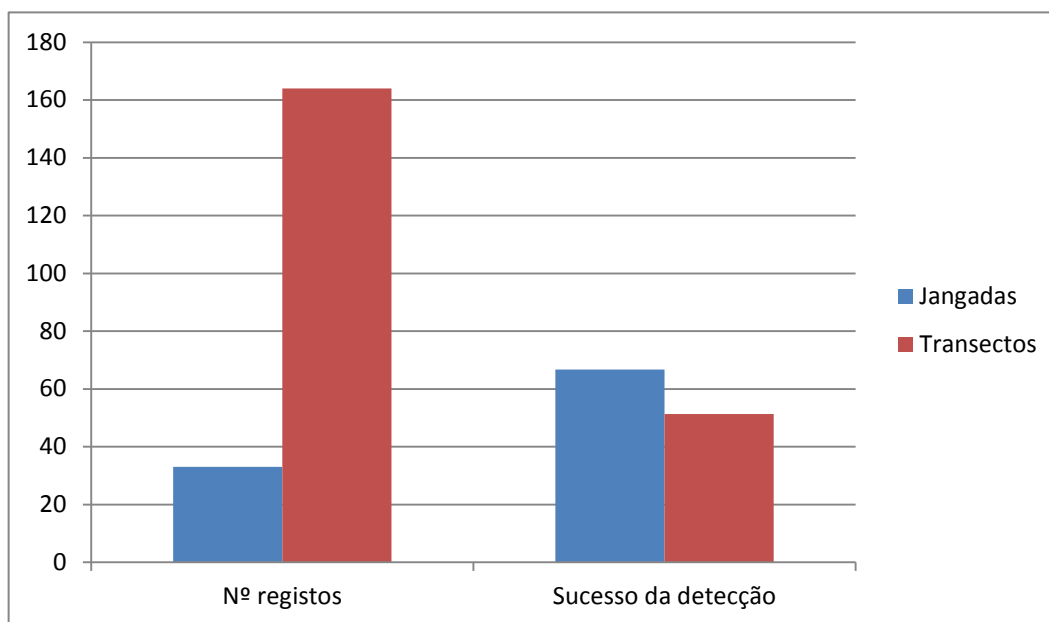


Figura 18 – Comparação do número de registos, observado em cada método, e do seu sucesso de deteção.

Em relação ao equipamento, no método dos transectos considerou-se a utilização de um dispositivo de GPS, com um custo de 94,90 euros e todo o material necessário para identificação final do dejetos (valores correspondentes à identificação de 30 dejetos, mais o branco de extração). Neste estudo, o custo da identificação genética variou entre 39,35 € e 821,76 €, referentes à identificação genética de 3 e de 98 dejetos que correspondem ao valor mínimo (maio) e máximo (outubro) de dejetos recolhidos mensalmente ao longo do período de amostragem.

Relativamente ao método das jangadas, considerou-se o custo total de cada jangada (30£, segundo Reynolds et al. 2004 e Harrington *et al.* 2008a, cuja conversão para euros, à taxa de 1£ = 1,24851 EUR, resulta numa quantia de 37,46 euros aproximadamente, por jangada). Uma vez que usámos 16 jangadas, o custo total foi de 599,36 euros. Contabilizou-se ainda o custo da máquina fotográfica, necessária para o registo das pegadas, no valor de 80 euros (preço médio de uma máquina fotográfica digital, na FNAC Portugal) (Tabela 5).

Deste modo, o método das jangadas revelou-se o mais eficiente, quer em relação aos custos financeiros associados, quer em relação ao sucesso de deteção dos registos obtidos.

Tabela 5 – Custos associados a cada um dos métodos utilizados.

1 – Custo médio de um GPS e de uma máquina fotográfica à venda na FNAC Portugal.

2 – Valores referentes à identificação genética de 30 dejetos mais o branco de extração.

3 – Contando apenas com a identificação de dejetos de lontra e de visão. Caso seja preciso identificar as restantes espécies são necessários mais dias.

		Transectos	Jangadas
1 Técnico de investigação		33,86€/dia	33,86€/dia
Equipamento	Jangadas	-	599.36 € (37,46€ por jangada)
	Barro	-	15,60 €
	GPS	94,90 ¹ €	-
	Análise genética	297,68 ² €	-
	Máquina fotográfica		80 ¹ €
Combustível	Portagens	93,90 €	93,90 €
	Gasóleo (viagem)	80 €	80 €
	Gasóleo (dia no campo)	1 €	1,5 €
Alojamento		10€/dia/pessoa	10€/dia/pessoa
Alimentação	2 Pessoas/dia	40 €	40 €
Nº de deslocações		12	7
Nº de dias necessários	Campo	4	2
	Laboratório ou análise dos resultados	2 ³	2
Total		3.061,98 €	2.150,70 €

4. Discussão

4.1. O visão-americano no contexto da comunidade de carnívoros da AP

Os sistemas ripícolas caracterizam-se por uma elevada biodiversidade, pois, apesar das suas reduzidas dimensões (Sabo *et al.*, 2006), fornecem inúmeros recursos importantes para a vida selvagem, como alimento e abrigo (Naiman *et al.*, 2005). Funcionam ainda como corredores ecológicos para variadas espécies e como rotas de conectividade entre diferentes populações (Beier & Noss, 1998), nomeadamente para a comunidade de carnívoros (Matos *et al.*, 2009), sendo ecossistemas com um valor ecológico único.

A área de estudo deste trabalho não é exceção, uma vez que os indícios detetados nos transectos realizados nas margens dos sistemas aquáticos permitiram comprovar a ocorrência de 5 espécies de carnívoros (lontra euroasiática, visão-americano, geneta, fuinha e raposa).

Uma vez que os sistemas ripários são utilizados por toda a comunidade de carnívoros realizou-se a procura de indícios focando apenas as espécies de maior interesse para esta dissertação, i.e., visão-americano e lontra. Desta forma dos 164 dejetos recolhidos e identificados geneticamente, 100 foram identificados no campo como sendo de lontra ou de visão-americano, 44 de mustelídeo, 1 de toirão e 1 de fuinha, não havendo nenhuma identificação feita no campo que indicasse qualquer dejecto pertencente a uma raposa ou a uma geneta. Desta forma, a identificação genética revelou-se fundamental para o conhecimento das espécies presentes na área de estudo.

As espécies que foram mais vezes confundidas foram o visão-americano e a lontra. Isto pode dever-se ao facto de ambas as espécies ocuparem o mesmo nicho ecológico, estando em habitats semelhantes e alimentando-se do mesmo tipo de presas (Bonesi & Macdonald, 2004a), nomeadamente, de lagostim-americano (*Procambarus clarkii*, Girard 1852).

Por outro lado, os dejetos de lontra foram aqueles que mais vezes foram corretamente identificados no campo, o que pode dever-se essencialmente ao facto destes serem de maiores dimensões que os dejetos de visão e ao seu cheiro adocicado quando estão frescos, facilitando a sua correta identificação (Strachan & Jefferies, 1996).

Em relação aos fatores que podem influenciar a correta identificação do dejetos no campo, verificou-se que esta não é influenciada pela “idade” do dejetos, sendo que este resultado pode dever-se à junção de dois fatores. Em primeiro lugar, como já foi referido, evitou-se a recolha de dejetos antigos uma vez que estes comprometem a identificação genética devido à degradação do ADN (Davison *et al.*, 2001). Em segundo lugar, o facto de os dejetos de lontra e de visão-americano constituírem grande parte da amostra e de muitos deles conterem o mesmo tipo de presas, nomeadamente lagostim-americano, sendo aqueles que são mais vezes confundidos, leva a que haja uma maior dificuldade na correta identificação do dejetos no campo, mesmo que este esteja em ótimas condições.

Contrariamente, verificou-se que o mês influencia a capacidade dos observadores identificarem corretamente a amostra, sendo que os meses que se revelaram mais significativos correspondem aos últimos meses de amostragem, ou seja, quando os observadores já tinham um maior conhecimento das espécies presentes no local e do tipo de presas que estas consumiam sendo assim mais fácil identificar corretamente os seus dejetos com base em características morfológicas.

Em relação aos fatores que possam influenciar a probabilidade de se conseguir identificar geneticamente os dejetos extraídos, nem a precipitação, nem a “idade” dos dejetos influenciaram o número de dejetos extraídos que foram identificados até à espécie com sucesso. O facto de nos meses de maior precipitação haver uma maior probabilidade de detetar apenas dejetos frescos, visto que os outros foram já lavados pela chuva, associado à prioridade dada a dejetos que vinham com a indicação que eram frescos na legenda durante a identificação genética, pode ter levado à ausência de significância estatística destes dois fatores.

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os de outros autores que também efetuaram uma comparação entre a identificação feita por observadores no campo e a identificação resultante do uso de marcadores moleculares (Hansen & Jacobsen, 1999; Davison *et al.*, 2002; Harrington *et al.*, 2011) e demonstraram que observadores com experiência reconhecida falharam em identificar corretamente dejetos recolhidos no campo.

Apesar dos custos associados à identificação genética dos dejetos, estes resultados demonstram a sua relevância em áreas habitadas por espécies que partilham os mesmos recursos. Desta forma, quando se pretende desenvolver planos de conservação de espécies simpátricas baseados em dados obtidos através de métodos indiretos, a

identificação correta da espécie à qual pertence o dejetos recolhido, possibilitada pela identificação genética dos dejetos, permite a elaboração de planos de gestão adequados (aceita-se H2).

4.2. Eficácia relativa dos métodos para a estimativa da abundância do visão-americano

O método das jangadas, quando comparado com o método dos transectos, revelou ter uma melhor relação custo-benefício (aceita-se H1).

Este resultado está de acordo com os resultados obtidos por Reynolds *et al.* (2004), que referem que as jangadas apesar de terem um custo inicial mais elevado que o método dos transectos, visto que no seu trabalho a identificação dos dejetos com base em aspetos morfológicos não foi validada pela identificação genética dos mesmos, são capazes de detetar o visão em mais locais (55%) que as observações diretas e capturas (19%) e que os transectos para procura de dejetos e pegadas (33%). Além disso, estas exigem, comparativamente, um menor esforço de amostragem quando o objetivo dos métodos indiretos é detetar a presença de visão-americano para realizar campanhas de captura e erradicação da espécie, pois além de permitirem saber em que locais esta se encontra, a probabilidade de capturar indivíduos de outras espécies é mais reduzida, uma vez que, as armadilhas são postas nas jangadas, e portanto na água. Por fim, por serem mais eficientes exigem um menor número de armadilhas necessárias (Reynolds, 2003).

Resultado semelhante foi também obtido por Harrington *et al.* (2008) em que as jangadas demonstraram ser um método mais eficiente e seletivo que a realização de transectos, no entanto, tal como no estudo mencionado, só o método dos transectos conseguiu encontrar vestígios do visão-americano em determinados locais (Lagoa do Mimoso), permitindo a deteção desta espécie em todos os habitats considerados.

Relativamente à deteção de variações da abundância, ambos os métodos foram capazes de detetar diferenças entre os locais considerados.

Deste modo, nota-se uma preferência quer do visão-americano, quer da lontra, relativamente aos sistemas lênticos, à semelhança do que foi descoberto por Fasola *et al.* (2009), que contrasta com os sistemas com maior caudal como o Rio Estorãos, ou cujo carácter de inundação não foi permanente, como é o caso das Ribeiras do Mimoso. Por outro lado, o facto da abundância calculada com as secções de 500m apenas encontrar diferenças entre a Lagoa de São Pedro e as Ribeiras do Mimoso, leva a crer

que o fator seca será mais preponderante para a ausência do visão-americano do que o caudal dos sistemas aquáticos, apesar de este animal ocupar também habitats mais terrestres (Dunstone, 1993).

Devido a limitações inerentes ao método das jangadas, que não permite o seguimento da espécie quando existem juvenis presentes na área de estudo, pois existe a possibilidade de atribuir as suas pegadas a outras espécies de menores dimensões do que o visão-americano, apenas o método dos transectos permitiu o seguimento da espécie ao longo do ano, tendo permitido também calcular uma estimativa da abundância da lontra na área de estudo. Esta tem uma distribuição mais generalizada que o visão-americano na área, provavelmente por ser um melhor competidor na procura de alimento e um melhor nadador, habitando mesmo os ecossistemas com maior profundidade e caudal (Bonesi & Macdonald, 2004b).

Contrariamente ao que está descrito em artigos que documentam a existência de competição entre o visão-americano e lontra (Bonesi & Macdonald 2004b, Bonesi *et al.*, 2006, McDonald *et al.*, 2007) observou-se que as duas espécies coexistem na área de estudo. No entanto, existem também artigos que documentam a coexistência das duas espécies, e os fatores que a promovem (Bonesi & Macdonald 2004a; Fasola *et al.*, 2009), sendo estes a presença de presas terrestres e de crustáceos e as características do habitat junto aos sistemas aquícolas. Provavelmente são também estes os fatores, juntamente com a grande quantidade de lagostim-americano encontrado nos dejetos de ambas as espécies, que permitem a coexistência das duas espécies na Área Protegida.

Contrariamente ao que se sucedeu com Harrington *et al.*, (2008a), os métodos utilizados revelaram diferenças entre as estimativas de abundância. O facto do método das jangadas não ter detetado a presença de visão-americano na Lagoa do Mimoso, pode dever-se ao local onde foi colocada a jangada, que estava provavelmente numa zona demasiado periférica da lagoa. Isto, associado às contrastantes abundâncias relativas obtidas pelos dois métodos relativamente às Ribeiras do Mimoso, que se prende, provavelmente, com o facto de quando as jangadas estavam colocadas as ribeiras de alimentação da Lagoa do Mimoso estavam inundadas, algo que não aconteceu ao longo do período de amostragem do método dos transectos, contribuiu também para a ausência de correlação entre os dois métodos. Por outro lado, o seguimento da margem destas ribeiras, nem sempre foi possível, devido à elevada densidade de vegetação.

Na tabela 6, refere-se as principais diferenças detetadas entre os dois métodos durante a realização desta dissertação, sendo que esta serve de resumo dos resultados obtidos neste trabalho.

Tabela 6 – Tabela resumo das principais características das duas técnicas em estudo.

	Transectos	Jangadas
Capacidade de deteção do visão-americano	Conseguiu detetar a presença do visão-americano em todos os habitats considerados.	Falhou na deteção da presença do visão-americano na Lagoa do Mimoso, mas teve um melhor desempenho no cálculo da abundância do visão-americano nas Ribeiras do Mimoso.
Esforço de amostragem	Mais elevado (seguimento a pé de toda a margem dos cursos de água, quando tal é possível)	Mais reduzido (Requer apenas uma visita ao local da jangada para verificar a presença de pegadas)
Custos financeiros associados	Mais elevado (identificação genética e maior número de saídas de campo)	Menos elevado (investimento inicial na compra das jangadas e alguns custos de manutenção)
Principais desvantagens	<ol style="list-style-type: none"> 1. Maior esforço de amostragem. 2. Custos associados elevados se os dejetos forem identificados geneticamente. 3. Dependente das características do terreno e das condições climáticas. 4. Identificação errada dos dejetos se baseado apenas nas características morfológicas dos mesmos. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Menor aplicabilidade. 2. Não tem resolução temporal.
Aplicabilidade	<ol style="list-style-type: none"> 1. Estudos de distribuição e abundância. 2. Estudos de dieta. 3. Estudos genéticos e da sua importância. 4. Estudos de competição. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Estudos da distribuição e abundância do visão-americano. 2. Estudo das diferenças entre pegadas de espécies diferentes.

4.3. Limitações dos dados e perspetivas futuras

A principal limitação deste estudo prende-se com o diferente investimento na amostragem utilizado em cada método que impossibilita que seja feita uma comparação

fidedigna entre os dois métodos. De futuro, e visto que o método das jangadas não tem resolução temporal, deve igualar-se o esforço de amostragem dos dois métodos em questão.

Neste trabalho, efetuou-se também uma sessão de capturas, na tentativa de se obter uma estimativa da abundância absoluta do visão-americano na área de estudo. No entanto, esta revelou-se ineficaz, provavelmente devido às condições climatéricas desfavoráveis. Visto que, esta sessão exigiu um elevado gasto financeiro e de tempo, não houve possibilidade de ser repetida, em tempo útil, para a redação desta dissertação, sendo assim impossível validar as estimativas de abundância relativa obtidas.

Por outro lado, tendo em conta que a área vital de um visão-americano pode chegar aos 3 km, as reduzidas dimensões da Área Protegida, principalmente se considerarmos que a área correspondente ao Rio Estorãos dentro da Área Protegida é de apenas 3,5 km, aliadas à territorialidade característica desta espécie, podem fazer com que as abundâncias calculadas para a espécie estejam de alguma forma sobrestimadas, uma vez que esta é baseada no número de dejetos recolhidos e identificados geneticamente até à espécie, e não no número de indivíduos.

Era também objetivo deste trabalho, analisar a situação do toirão, espécie que embora sendo um mamífero com hábitos pouco conhecidos tem uma área de distribuição nacional que engloba a área de estudo e potencial para competir com o visão-americano. Apesar da fórmula desenvolvida por Harrington *et al.* (2008b) ter identificado algumas das pegadas como sendo de toirão, este resultado afigura-se como pouco provável por a espécie ser de hábitos mais terrestres existindo uma menor possibilidade de visitar as jangadas. Além disso, nenhuns dos dejetos identificados geneticamente foram de toirão.

Outra das limitações deste trabalho prende-se com o facto de nem todos os dejetos recolhidos terem sido identificados geneticamente, devido a restrições de tempo e financeiras.

No futuro, de forma a aumentar a amostragem e, conseqüentemente, a obter estimativas mais robustas, sugere-se a obrigatoriedade da identificação de todos os dejetos recolhidos, facto este que permitirá conhecer a abundância de todas as espécies presentes na área e estudar os fatores que promovem a sua coexistência, sobretudo se forem incluídas estimativas da disponibilidade de presas e uma caracterização do habitat mais detalhada.

Para validação das estimativas de abundância efetuadas seria também de extrema importância a realização de um programa de captura-marcação-recaptura do visão-americano. Tal, para além de permitir estimar a densidade local, seria igualmente útil para a obtenção de amostras biológicas para a realização de estudos genéticos que permitissem, por exemplo, determinar a origem dos visões americanos presentes na área bem como estudos acerca da respetiva condição física e sanitária.

Tendo em conta os impactos que o visão-americano pode vir a ter na fauna nativa por predação (*e.g.* toupeira-de-água, rato-de-água e algumas populações de anfíbios) e/ou por competição (lontra e toirão), o conhecimento do método com melhor relação custo-benefício para estudar a distribuição e abundância é crucial para definir programas de gestão eficientes, que protejam espécies ameaçadas que possam estar a ser negativamente afetadas pela presença do visão-americano.

5. Referências Bibliográficas

- Acevedo, P., Cassinello, J., Hortal, J. & Gortazar, C. (2007) Invasive exotic aoudad (*Ammotragus lervia*) as a major threat to native Iberian ibex (*Capra pyrenaica*): a habitat suitability model approach. *Diversity and Distributions*, **13**, 587–597.
- Bang, P. & Dahlstrøm, P. (2001) *Animal tracks and signs*. Oxford University Press, Oxford.
- Barea-Azcon, J.M., Virgos, E., Ballesteros-Duperon, E., Moleon, M. & Chiroso, M. (2007) Surveying carnivores at large spatial scales: a comparison of four broad-applied methods. *Vertebrate Conservation and Biodiversity*, **16**, 1213–1230.
- Barreto, G. R.; Rushton, S. P.; Strachan, R. & Macdonald, D. W. (1998) The role of habitat and mink predation in determining the status and distribution of water voles in England. *Animal Conservation*, **1**, 129–137.
- Barreto, G. R. & Macdonald, D. W. (2000) The declines and local extinction of a population of water voles, *Arvicola terrestris*, in southern England. *Zietschrift Säugetierkunde*, **65**, 110-120
- Beaumont, M., Barratt, E.M., Gottelli, D., Kitchener, a C., Daniels, M.J., Pritchard, J.K. & Bruford, M.W. (2001) Genetic diversity and introgression in the Scottish wildcat. *Molecular ecology*, **10**, 319–36.
- Beier, P. & Noss, R.F. (1998) Do Habitat Corridors Provide Connectivity? Review Habitat Corridors Provide Connectivity? *Conservation Biology*, **12**, 1241–1252.
- Beja, P., Lourenço, S., Rosa.S., Reino, L., Santana, J., Honrado, J., Marques, J. (2008). *Plano de Ordenamento e Gestão da Paisagem Protegida das Lagoas de Bertandos e S. Pedro de Arcos*. Impress.
- Bertolino, S. & Viterbi, R. (2010) Long-term cost-effectiveness of coypu (*Myocastor coypus*) control in Piedmont (Italy). *Biological Invasions*, **12**, 2549–2558.
- Birks, J. D. S. & Kitchener, A. C. (1999) *The Distribution and Status of the Polecat *Mustela putorius* in Britain in the 1990s*. The Vincent Wildlife Trust, National Museums of Scotland
- Bonesi, L. & Macdonald, D.W. (2004a) Differential habitat use promotes sustainable coexistence between the specialist otter and the generalist mink. *Oikos*, **106**, 509–519.
- Bonesi, L. & Macdonald, D.W. (2004b) Impact of released Eurasian otters on a population of American mink: a test using an experimental approach. *Oikos*, **106**, 9-18.
- Bonesi, L. & Macdonald, D.W. (2004c) Evaluation of sign surveys as a way to estimate the relative abundance of American mink (*Mustela vison*). *Journal of Zoology*, **262**, 65–72.
- Bonesi, L., Strachan, R. & Macdonald, D.W. (2006) Why are there fewer signs of mink in England? Considering multiple hypotheses. *Biological Conservation*, **130**, 268–277.
- Bonesi, L. & Palazon, S. (2007) The American mink in Europe: Status, impacts, and control. *Biological Conservation*, **134**, 470–483.

- Bonesi, L., Rushton, S. & Macdonald, D.W. (2007) Trapping for mink control and water vole survival: identifying key criteria using a spatially explicit individual based model. *Biological conservation*, **136**, 636–650.
- Brzezinski, M., Swiecicka-Mazan, A. & Romanowski, J. (2008) Do otters and mink compete for access to foraging sites? A winter case study in the Mazurian Lakeland, Poland. *Annales Zoologici Fennici*, **45**, 317–322.
- Bull, E. L., Holthausen, R. S. & Bright, L. R. (1992) Comparison of 3 techniques to monitor marten. *Wildlife Society Bulletin*. **20**, 406–410.
- Cabral, M.J., Almeida, J., Almeida, P.R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M.E., Palmeirim, J.M., Queiroz, A.I., Rogado, L. & Santos-Reis, M. (2005) *Livro vermelho dos vertebrados de Portugal: peixes dulciaquícolas e migradores, anfíbios, répteis, aves e mamíferos*. Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.
- Clode, D. & Macdonald, D.W. (2002) Invasive predators and the conservation of island birds: the case of American Mink *Mustela vison* and terns *Sterna* spp. in the Western Isles, Scotland. *Bird study*, **49**, 118–123.
- Clout, M. & Russell, J. (2008) The invasion ecology of mammals: a global perspective. *Wildlife Research*, **35**, 180–184.
- Croll, D.A., Maron, J.L., Estes, J.A., Danner, E.M. & Byrd, G.V. (2005) Introduced predators transform subarctic islands from grassland to tundra. *Science (New York, N.Y.)*, **307**, 1959–61.
- Dunstone, N. (1993) *The mink*. T & AD Poyser Natural History. London
- Davison, A., Birks, J., Brookes, R., Braithwaite, T. & Messenger, J. (2002) On the origin of faeces: morphological versus molecular methods for surveying rare carnivores from their scats. *Journal of Zoology*, **257**, 141–143.
- Fasola, L., Chehébar, C., Macdonald, D.W., Porro, G. & Cassini, M. (2009) Do alien North American mink compete for resources with native South American river otter in Argentinean Patagonia? *Journal of Zoology*, **277**, 187–195.
- Fernandes, C. A., Ginja, C., Pereira, I., Tenreiro, R., Bruford, M.W. & Santos-Reis, M. (2008) Species-specific mitochondrial DNA markers for identification of non-invasive samples from sympatric carnivores in the Iberian Peninsula. *Conservation Genetics*, **9**, 681–690.
- Fukami, T., Wardle, D.A., Bellingham, P.J., Mulder, C.P.H., Towns, D.R., Yeates, G.W., Bonner, K.I., Durrett, M.S., Grant-Hoffman, M.N. & Williamson, W.M. (2006) Above- and below-ground impacts of introduced predators in seabird-dominated island ecosystems. *Ecology letters*, **9**, 1299–1307.
- Gese, E. (2001) Monitoring of terrestrial carnivore populations. *Carnivore Conservation*, (eds John L. Gittleman, Stephan M. Funk, David W. MacDonald, and Robert K. Wayne), pp. 372–396. Cambridge University Press & The Zoological Society of London, Cambridge.
- Hansen, M.M. & Jacobsen, L. (1999) Identification of mustelid species: otter (*Lutra lutra*), American mink (*Mustela vison*) and polecat (*Mustela putorius*), by analysis of DNA from faecal samples. *Journal of Zoology*, **247**, 177–181.

- Harrington, L.A., Harrington, A.L. & Macdonald, D.W. (2008a) Estimating the relative abundance of American mink *Mustela vison* on lowland rivers: evaluation and comparison of two techniques. *European Journal of Wildlife Research*, **54**, 79–87.
- Harrington, L.A., Harrington, A.L. & Macdonald, D.W. (2008b) Distinguishing tracks of mink *Mustela vison* and polecat *M. putorius*. *European Journal of Wildlife Research*, **54**, 367–371.
- Harrington, L.A., Harrington, A.L., Hughes, J., Stirling, D. & Macdonald, D.W. (2010) The accuracy of scat identification in distribution surveys: American mink, Neovison *vison*, in the northern highlands of Scotland. *European Journal of Wildlife Research*, **56**, 377–384.
- Houlahan, J.E., Findlay, C.S., Schmidt, B.R., Meyer A.H., & Kuzmin S.L. (2000). Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, **404**, 752–755.
- Hufbauer, R.A. & Torchin, M. (2007) Integrating ecological and evolutionary theory of biological invasions. *Biological invasions* (ed. W. Nentwig), pp. 79–96. Springer Berlin, Heidelberg.
- IM IP (2012) Normais climatológicas 81-2010, Viana do castelo, Meadela. Instituto de Meteorologia I.P. Disponível em: <http://www.meteo.pt/pt/oclima/normais.clima/1981-2010/021/> (acedido Setembro 2012).
- IM IP (2012) Observatório de Secas - Índice PDSI – Evolução. Instituto de Meteorologia I.P. Disponível em: <http://www.meteo.pt/pt/oclima/observatoriosecas/pdsi/monitorizacao/evolucao/> (acedido Setembro 2012)
- Jaksic, F.M., Agustín Iriarte, J., Jiménez, J.E. & Martínez, D.R. (2002) Invaders without frontiers: cross-border invasions of exotic mammals. *Biological Invasions*, **4**, 157–173.
- Jones, H.P., Tershy, B.R., Zavaleta, E.S., Croll, D.A., Keitt, B.S., Finkelstein, M.E. & Howald, G.R. (2008) Severity of the effects of invasive rats on seabirds: a global review. *Conservation Biology*, **22**, 16–26.
- Kumschick, S., Alba, C., Hufbauer, R.A. & Nentwig, W. (2011) Weak or strong invaders? A comparison of impact between the native and invaded ranges of mammals and birds alien to Europe. *Diversity and Distributions*, **17**, 663–672.
- Lodé, T. (1993) Diet composition and habitat use of sympatric polecat and American mink in western France. *Acta Theriologica*, **38**, 161–166.
- Lodge, D.M. (1993) Biological invasions: Lessons for ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, **8**, 133–137.
- Lucentini, L., Vercillo, F., Palomba, A., Fausto, P. & Bernardino, R. (2007) A PCR-RFLP method on faecal samples to distinguish *Martes martes*, *Martes foina*, *Mustela putorius* and *Vulpes vulpes*. *Conservation Genetics*, **8**, 757–759
- Macdonald D.W. & Barret P. (1993) *Mammals of Britain & Europe (Collins Field Guide)*. Collins, London.
- Macdonald, D. W., Mace, R. & Rushton, S. (1998) Proposals for future monitoring of British mammals. London: Department of the Environment, Transport and the Regions and Joint Nature Conservation Committee.

- Macdonald, D.W. & Harrington, L.A. (2003) The American mink: the triumph and tragedy of adaptation out of context. *New Zealand Journal of Zoology*, **30**, 421–441.
- Maran, T., Kruuk, H., Macdonald, D.W., Polma, M. (1998) Diet of two species of mink in Estonia: displacement of *Mustela lutreola* by *M. vison*. *Journal of Zoology*, **245**, 218–222.
- Matos, H.M., Santos, M.J., Palomares, F. & Santos-Reis M. (2009) Does riparian habitat condition influence mammalian carnivore abundance in Mediterranean ecosystems? *Biodiversity and Conservation*, **18**, 373–386.
- McDonald, R.A., O’Hara, K. & Morrish, D.J. (2007) Decline of invasive alien mink (*Mustela vison*) is concurrent with recovery of native otters (*Lutra lutra*). *Diversity and Distributions*, **13**, 92–98.
- Melero, Y.C. (2004) *Estudio Poblacional Del Visón Americano (Mustela Vison) En Cataluña: Ecología y Control De Una Especie Invasora*. PhD Thesis. University of Barcelona.
- Melero, Y., Palazón, S., Revilla, E., Martelo, J. & Gosàlbez, J. (2008) Space use and habitat preferences of the invasive American mink (*Mustela vison*) in a Mediterranean area. *European Journal of Wildlife Research*, **54**, 609–617.
- Naiman, R., Décamps, H. & McClain, M. (2005). *Riparia: ecology, conservation, and management of streamside communities*. Elsevier, Burlington
- Philcox, C. K., Grogan, A. L. & Macdonald, D. W. (1999) Patterns of otter *Lutra lutra* road mortality in Britain. *Journal of Applied Ecology*, **36**, 748–762.
- Queiroz, A.I., Bertrand, A. & Khakin G. (1996) Status and Conservation of Desmaminae in Europe. *Nature and Environment*, **76**. Council of Europe Publishing.
- Reynolds, J.C., Short, M.J. & Porteus, T. (2003) *Development of the GTC mink raft*. The Game Conservancy Trust.
- Reynolds, J.C., Short, M.J. & Leigh, R.J. (2004) Development of population control strategies for mink *Mustela vison*, using floating rafts as monitors and trap sites. *Biological Conservation*, **120**, 533–543.
- Reuther, C. & Hilton-Taylor, C. 2004. *Lutra lutra*. 2007 IUCN Red List of Threatened Species. IUCN 2007.
- Ruiz, G., Carlton, J., Grosholz, E. & Hines, A. (1997) Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: mechanisms, extent, and consequences. *American Zoologist*, **37**, 621–632.
- Ruiz-Olmo, J., Saavedra, D. & Jimenez, J. (2001). Testing the surveys and visual and track censuses of Eurasian otters (*Lutra lutra*). *Journal of Zoology*, **253**, 359–369.
- Ruiz-Olmo, J., Loy, A., Cianfrani, C., Yoxon, P., Yoxon, G., de Silva, P.K., Roos, A., Bisther, M., Hajkova, P. & Zemanova, B. 2008. *Lutra lutra*. Em IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.1. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org> (accedido Agosto 2012).
- Sabo, J.L. & Soykan, C.U. (2006) Riparian zones increase regional richness by supporting different, not more, species: reply. *Ecology*, **87**, 2128–2131.

- Sadler, L.M.J., Webbon, C.C., Baker, P.J, Harris, S. (2004) Methods of monitoring red foxes *Vulpes vulpes* and badgers *Meles meles*: are field signs the answer? *Mammal review*, **34**, 75-98.
- Sala, O.E., Chapin, F.S. III, Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M. & Wall, D.H. (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, **287**, 1770-1774.
- Sidorovich, V. & Macdonald, D.W. (2001) Density dynamics and changes in habitat use by the European mink and other native mustelids in connection with the American mink expansion in Belarus. *Netherlands Journal of Zoology*, **51**, 107–126.
- Silveira, L., Jácomo, A.T. a. & Diniz-Filho, J.A.F. (2003) Camera trap, line transect census and track surveys: a comparative evaluation. *Biological Conservation*, **114**, 351–355.
- SNIRH (2012) Boletim de precipitação: estação de Ponte de Lima. Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos. Disponível em: http://snirh.pt/snirh/dadosbase/site/janela_relatorio.php?sites=920685610&pars=413026594&tmin=01/09/2011&tmax=31/08/2012 (acedido Setembro 2012).
- Soares, C., Alves de Matos, A., Arntzen, J.W., Carretero, M. and Loureiro, A.(2003). "Amphibian mortality in a national park in the north of Portugal". *FrogLog*, **56**.
- Strachan, R. & Jefferies, D. (1996) *Otter survey of England 1991–1994*. London: Vincent Wildlife Trust.
- Sundseth, K. (2010) Natura 2000 na Região Atlântica. Comissão Europeia, Direcção-Geral do Ambiente. Comunidades Europeias, Bruxelas.
- Trindade, A., Farinha, N., Florencio, E. (1998) *A distribuicao da Lontra (Lutra lutra) em Portugal – situação em 1995*. Estudos de Biologia e Conservação da Natureza. Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.
- Thompson, W. L., White, G. C. & Gowan, C. (1998) *Monitoring vertebrate populations*. San Diego, CA: Academic Press.
- Vidal-Figueroa, T. & Delibes, M. (1987) Primeros datos sobre el vison americano (*Mustela vison*) en el suroeste de Galicia y noroeste de Portugal. *Ecología*, **1**, 145–152.
- Virgós, E., Cabezas-Díaz, S., Mangas, J. & Lozano, J. (2010) Spatial distribution models in a frugivorous carnivore, the stone marten (*Martes foina*): is the fleshy-fruit availability a useful predictor? *Animal Biology*, **60**, 423–436.
- Vitousek, P.M., D'Antonio, C.M., Loope, L.L., Rejmánek, M. & Westbrooks, R. (1997) Introduced species: a significant component of human-caused global environmental change. *New Zealand Journal of Zoology*, **21**, 1–16.
- Waits, L.P. & Paetkau, D. (2005) Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: a review of applications and recommendations for accurate data collection. *Journal of Wildlife Management*, **69**, 1419–1433.
- Wilson, G. J. & Delahay, R. J. (2001) A review of methods to estimate the abundance of terrestrial carnivores using field signs and observation. *Wildlife Research*, **28**, 151–164.

- Wyatt, K.B., Campos, P.F., Gilbert, M.T.P., Kolokotronis, S.-O., Hynes, W.H., DeSalle, R., Ball, S.J., Daszak, P., MacPhee, R.D.E. & Greenwood, A.D. (2008) Historical mammal extinction on Christmas Island (Indian Ocean) correlates with introduced infectious disease. *PloS one*, **3**, 1–9.
- Zar J.H. (1996) *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey
- Zielinski, W.J. & Stauffer, H.B. (1996) Monitoring Martes populations in California: survey design and power analysis. *Ecological Applications*, **6**, 1254–1267.
- Zuberogitia, I., Zabala, J. & Martínez, J.A. (2006) Evaluation of sign surveys and trappability of American mink: management consequences. *Folia Zoologica*, **55**, 257–263.

6. Anexos

6.1. Anexo I - Vestígios das espécies presentes na Área de Estudo



Figura a - Pegada identificada como sendo de visão-americano, após a aplicação da fórmula desenvolvida por Harrington *et al.* (2008b).



Figura b – Pegada identificada como sendo de toirão, após a aplicação da fórmula de Harrington *et al.* (2008b).



Figura c – Dejeito de visão-americano identificado geneticamente.

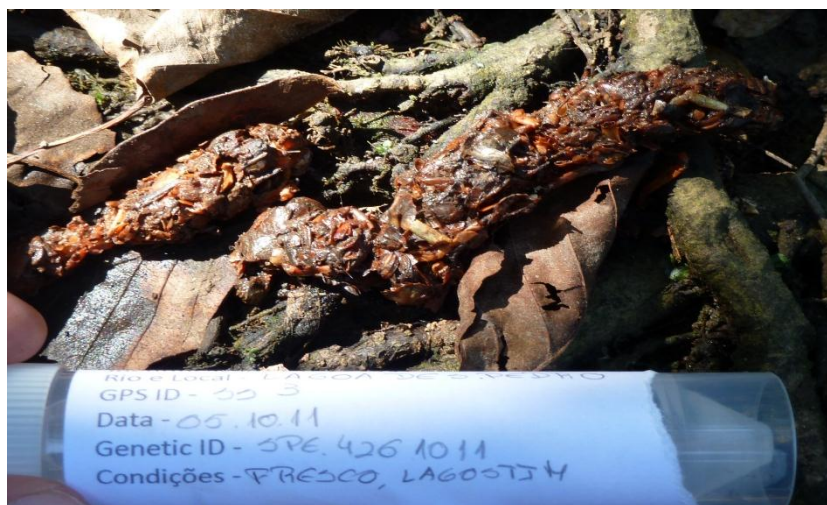


Figura d – Dejeito de lontra identificado geneticamente.

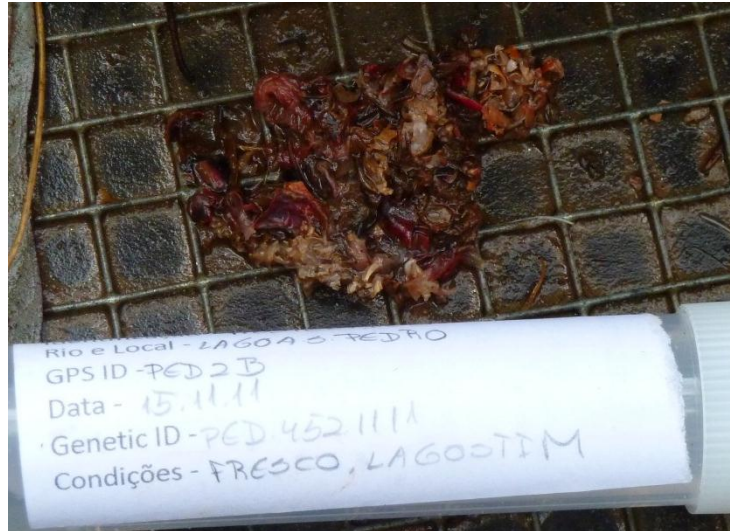


Figura e – Dejeito de fúinha identificado geneticamente.

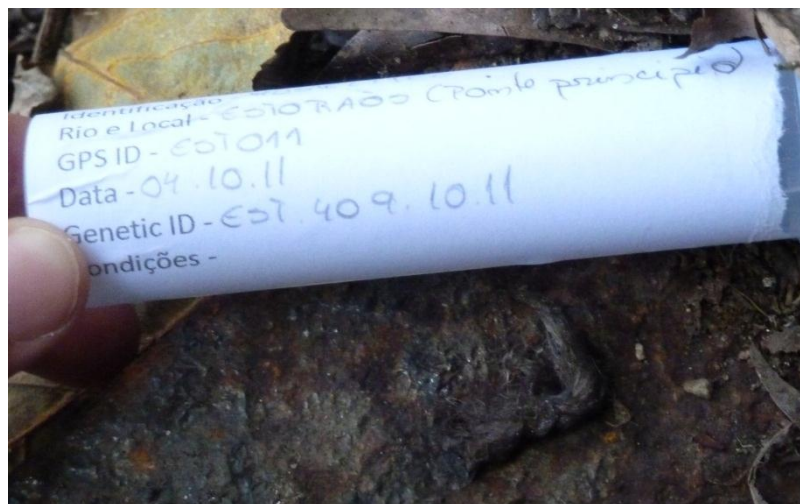


Figura f – Dejeito de geneta identificado geneticamente.

6.2. Anexo II – Ocorrência do Visão Americano e da Lontra ao longo do período de amostragem

Tabela a – Distribuição e ocorrência do visão-americano e da lontra ao longo do período de amostragem, em cada habitat, dividido em secções de 250m.

Habitat		Estorãos														Ribeiras do Mimoso												Ribeira de São Pedro						Lagoa do Mimoso			Lagoa de São Pedro						
Meses	Espécie	250	500	750	1000	1250	1500	1750	2000	2250	2500	2750	3000	3250	3500	250	500	750	1000	1250	1500	1750	2000	2250	2500	2750	3000	250	500	750	1000	1250	1500	250	500	750	250	500	750	1000	1250	1500	
Setembro	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	
Outubro	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	
Novembro	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0
Dezembro	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
Janeiro	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
Fevereiro	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Março	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	Lontra	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	
Abril	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Maio	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Junho	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Lontra	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
Julho	Visão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
Agosto	Visão	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
	Lontra	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total Visão		1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	3	0	1	2	0	0	0	2	0	0	4	4	4	3	3		
Total Lontra		1	1	1	0	0	0	1	2	3	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	2	0	1	1	2	3	0	3	5	3	2	1	

6.3. Anexo III – Tabela de ocorrências de pegadas nas jangadas colocadas

Tabela b – Apenas as pegadas de visão estão contabilizadas no total, uma vez que, foram as utilizadas para a construção do mapa de abundância do visão nas jangadas.

Jangadas	Coordenadas UTM (EPSG:32629 - WGS 84 /zone 29N)		Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Total
			14-16 Nov 2011	21-23 Nov 2011	28-30 Nov 2011	7-9 Dez 2011	13-15 Dez 2011	17-18 Jan 2012	
Estorãos 1	530086 E	4625622 N	0	0	0	0	Gato ou Geneta	0	0
Estorãos 2	530274 E	4625192 N	0	0	Gato ou Geneta	0	0	0	0
Estorãos 3	530376 E	4624587 N	0	Gato ou Geneta	Gato ou Geneta	0	0	Visão	1
Estorãos 4	530421 E	4624070 N	0	0	Visão	Visão	0	0	2
Estorãos 6	529899 E	4623286 N	0	0	0	0	0	Não identificada	0
Ribeira de São Pedro 1	529911E	4624487 N	0	0	Não identificada	0	0	0	0
Lagoa de São Pedro 1	529739 E	4623905 N	0	0	0	0	0	0	0
Lagoa de São Pedro 2	529893 E	4623627 N	Visão	Não identificada	Visão	Visão	Visão	0	4
Ribeira de São Pedro 2	529784 E	4623072 N	Não identificada	Visão	Não identificada	Visão	Toirão	Visão	3
Ribeira de São Pedro 3	529623 E	4622415 N	Visão	Visão	Visão	Não identificada	0	Visão	4
Ribeiras do Mimoso 1	530673 E	4624867 N	0	0	0	0	0	0	0
Lagoa do Mimoso 1	530575 E	4624360 N	0	0	0	0	0	0	0
Ribeiras do Mimoso 2	530805 E	4623848 N	0	0	Visão	Visão	Visão	Visão	4
Ribeiras do Mimoso 3	530346 E	4623524 N	Visão	Visão	0	0	0	0	2
Ribeiras do Mimoso 4	530244 E	4622977 N	0	Visão	Visão	Toirão	Toirão	Visão	3
Total			5	4	4	3	2	5	23

6.4. Anexo IV – Variáveis ambientais utilizadas na caracterização do habitat nos locais das jangadas

Tabela c – Variáveis utilizadas na construção do Modelo Linear Generalizado. Apenas se incluíram as variáveis finais utilizadas.

	Variáveis	Tipo	Mediana	Amplitude de valores
Estruturais	Altitude	Numérica	5,17	-5,65 -26,80
	Largura do Rio (m)	Numérica	3	0 – 10
	Largura da margem (m)	Numérica	1	0,5 – 8
	Tipo de estrato do fundo do rio	Ordinal	3 (suave)	2 – 3
Características do habitat importantes para o visão-americano	Potencial perturbação humana	Ordinal	1	1 – 7
	Qualidade geral do habitat	Ordinal	1 (habitat de muito boa qualidade)	1 – 3