

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Ciências**  
**ULisboa**

**Aperfeiçoamento das estratégias de amostragem e  
monitorização de comunidades de morcegos**

Maria Margarida Barreiros Martins da Silva

**Mestrado em Biologia da Conservação**

Dissertação orientada por:  
Professor Doutor Jorge Palmeirim

2021



## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Jorge Palmeirim agradeço profundamente todo o apoio e ajuda, bem como disponibilidade, sempre manifestados na orientação deste trabalho.

À Dra. Ana Leal quero expressar o meu sincero reconhecimento pelo auxílio e incentivo prestados nomeadamente no tratamento e análise estatística dos dados obtidos neste trabalho.

Agradeço também:

À Doutora Ana Rainho pela sua preciosa colaboração no ensino do processo de identificação das vocalizações dos morcegos.

Ao Doutor Sérgio Chozas por todo o apoio na disponibilização de conteúdos indispensáveis para a execução desta dissertação, tais como meios informáticos e fotografias, e ajuda no trabalho de campo.

À Liliana pela ajuda na identificação das espécies de morcegos que muito contribuiu para aligeirar o moroso processo do tratamento de dados.

À Alicia Pereira por, desde o início, ter partilhado todas as fases deste trabalho comigo. Por todo o apoio, ajuda e amizade incondicional, quero prestar o meu especial agradecimento. E ainda, por me ter sempre incentivado mesmo nas alturas mais difíceis.

Este trabalho foi executado no âmbito do projeto PORBIOTA, E-Infraestrutura Portuguesa de Informação e Investigação em Biodiversidade, POCI-01-0145-FEDER-022127, financiado pela FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia.



## Resumo

A monitorização da vida selvagem tem-se desenvolvido consideravelmente nos últimos anos com as novas tecnologias de deteção acústica. Esta fornece diversas informações a partir dos sons produzidos pelos animais que vão desde a simples identificação da presença de espécies até à sua abundância, posição e atividade. Entre as espécies monitorizadas acusticamente, destacam-se os morcegos que ecolocalizam. As populações de morcegos têm estado em declínio justificando a necessidade de monitorização para fins de conservação. O presente estudo tem como objetivo aperfeiçoar os métodos de amostragem, com estações acústicas, das comunidades de morcegos em três vertentes: 1) comparação entre a amostragem junto a pontos de água e em zonas secas; 2) comparação entre a amostragem com gravadores *AudioMoth* e *Song Meter SM4BAT*; 3) comparação entre amostragem usando estações de gravação duplas e individuais. Os resultados deste estudo sugerem que, numa região ou época seca, a amostragem de comunidades de morcegos utilizando estações acústicas é mais eficiente se estas forem colocadas junto de pontos de água, sendo estes os locais mais representativos. Quanto à comparação dos dois gravadores utilizados, foi identificada uma tendência na deteção do número de espécies superior com gravador *SM4BAT*, de maior custo, relativamente às detetadas com o *AudioMoth*, mais económico. Tendo em conta o elevado custo do *SM4BAT*, a sua escolha dependerá da avaliação entre o benefício na deteção e a limitação financeira do estudo. A utilização de um gravador AM extra por local de amostragem permitiu detetar um valor ligeiramente superior de riqueza específica de morcegos, somente para números reduzidos de gravadores e de noites de amostragem. Os resultados indicaram que só se justifica a colocação de dois gravadores por local se o número de locais disponíveis para a amostragem for reduzido e o número destes equipamentos não for limitado.

Palavras-chave: Riqueza específica de morcegos, *AudioMoth*, *Song Meter SM4BAT*, gravadores acústicos; Ecolocalização.



## **Abstract**

Wildlife monitoring has developed considerably in recent years with new acoustic detection technologies. Recorded sounds produced by animals provide diverse information ranging from the simple identification of species to their abundance, position and activity. Among the species monitored acoustically, are the bats that echolocate. Bat populations have been declining, which justifies the need of their monitoring for conservation efforts. This study aims to improve sampling methods, with acoustic stations of bat communities following three approaches: 1) comparison between sampling near water points and in dry areas; 2) comparison between sampling with AudioMoth and Song Meter SM4BAT recorders; 3) comparison between sampling using dual and single recording stations. The results of the present study suggest that, in a dry region or season, sampling bat communities using acoustic stations is more efficient if these are placed near water points. These are the most representative locations. When comparing the two recorders used, a trend was identified in the detection of a higher number of species with the SM4BAT recorder, of higher cost, relative to those detected with the AudioMoth, which is more economical. Given the high cost of the SM4BAT, its choice will depend on the assessment between the benefit in detection and the financial limitation of the study. The use of an extra AudioMoth recorder per sampling site allowed the detection of a slightly higher value of bat specific richness, in the case of a reduced numbers of recorders and sampling nights. The results indicated that placing two recorders per site is only justified if the number of sites available for sampling is small and the number of these devices is not limited.

**Keywords:** Bats Species Richness, AudioMoth, Song Meter SM4BAT, bat detectors, Echolocation.



## Índice

Agradecimentos.....	III
Resumo.....	V
Abstract.....	VII
Lista de Figuras.....	XI
Lista de Tabelas.....	XI
Lista de Abreviaturas.....	XII
1. Introdução.....	1
1.1. Riqueza específica e amostragem.....	1
1.2. Morcegos: ecologia e monitorização.....	1
I. Amostragem na época seca: locais junto a pontos de água vs locais em zonas secas.....	2
II. Amostragem com gravadores AudioMoth vs Song Meter SM4BAT.....	3
III. Amostragem com estações de gravação duplas vs individuais.....	5
1.3. Objetivos.....	6
2. Métodos.....	7
2.1. Amostragem.....	7
2.1.1. Local de amostragem.....	7
2.1.2. Amostragem para comparar locais junto a pontos de água com locais em zonas secas.....	7
2.1.3. Amostragem para comparar estações AM e SM4BAT.....	9
2.1.4. Amostragem para comparar estações de gravação individuais e duplas.....	11
2.2. Análise de dados.....	11
2.2.1. Análise automática das gravações.....	11
2.2.2. Análise manual das gravações.....	12
2.3. Análise estatística.....	12
2.3.1. Amostragem para comparar locais junto a pontos de água com locais em zonas secas.....	12
2.3.2. Amostragem para comparar estações AM e SM4BAT.....	13
2.3.3. Amostragem para comparar estações de gravação individuais e duplas.....	13
3. Resultados.....	13
3.1. Comparação da amostragem realizada em locais com e sem pontos de água.....	13
3.2. Comparação da amostragem realizada com gravadores AM e SM4BAT.....	15
3.3. Comparação dos resultados obtidos com uma ou duas estações em cada local.....	17
4. Discussão.....	19
4.1. Estações junto a pontos de água são mais eficientes na inventariação de espécies de morcegos.....	19
4.2. Amostragens com gravadores SM4 parecem ser mais eficazes na deteção de espécies de morcegos.....	20
4.3. Amostragens com estações de gravação AM duplas podem não compensar o esforço adicional.....	22
5. Considerações finais.....	23
6. Referências Bibliográficas.....	24
7. Anexo.....	31



## Lista de Figuras

<b>Figura 2.1-</b> Mapa dos locais de colocação dos gravadores AM da amostragem de agosto na CL. ....	8
<b>Figura 2.2-</b> A: Gravador AM colocado junto a um ponto de água; B: Gravador AM colocado numa zona de montado. (Fotografias de Jorge Palmeirim). ....	9
<b>Figura 2.3-</b> Mapa dos locais de colocação dos gravadores AM e SM4 da amostragem de setembro na CL. ....	10
<b>Figura 2.4-</b> Gravador SM4 colocado simultaneamente com os gravadores AM. ....	10
<b>Figura 2.5-</b> Gravadores AM colocados com os microfones para sentidos opostos. (Fotografias de Jorge Palmeirim). ....	11
<b>Figura 3.1-</b> Estações e noites necessárias para obter pelo menos 95% da riqueza específica da área de estudo em locais de amostragem com e sem pontos de água. ....	14
<b>Figura 3.2-</b> Número de espécies/sonotipos detetado para uma estação de gravação por noites de amostragem, para estações colocadas junto a pontos de água e em zonas secas. ....	15
<b>Figura 3.3-</b> Estações e noites necessárias para obter pelo menos 85% da riqueza específica da área de estudo, para estações SM4 e AM. ....	16
<b>Figura 3.4-</b> Comparação do número de espécies/sonotipos detetado com uma estação de gravação por noites de amostragem, para gravadores SM4 e AM. ....	17
<b>Figura 3.5-</b> Diferença do número de espécies/sonotipos detetadas com gravadores AM colocados aos pares ou individuais, para 1, 2, 3, 4 e 5 noites de amostragem. ....	18
<b>Figura 3.6-</b> Curva de rarefação do número de espécies/sonotipos detetadas em função do número de estações, para gravadores colocados aos pares ou isolados. As linhas a ponteadas representam os intervalos de confiança de 95%. Este gráfico contém cinco pontos correspondentes às cinco estações onde se consideram os resultados do par de gravadores e a média dos dois gravadores isolados de cada par. ....	19

## Anexo

<b>Figura A1-</b> Curvas de rarefação do número de espécies/sonotipos detetadas em função do número de estações de gravação, para gravadores colocados junto a pontos de água ou em zonas secas, para 1, 2, 3, 4 e 5 noites. As linhas a ponteadas representam os intervalos de 95% de confiança. ....	31
<b>Figura A2-</b> Curvas de rarefação do número de espécies/sonotipos detetadas em função do número de estações de gravação, para gravadores AM e SM4, para 1, 2, 3, 4, 5 e 6 noites. As linhas a ponteadas representam os intervalos de 95% de confiança. ....	32
<b>Figura A3-</b> Curvas de rarefação do número de espécies/sonotipos detetadas em função do número de gravadores, para gravadores colocados isolados e aos pares, para 1, 2, 3, 4 e 5 noites. As linhas a ponteadas representam os intervalos de 95% de confiança. ....	33

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 3.1-</b> Número de passagens registadas por espécie/sonotipo de morcegos. ....	14
<b>Tabela 3.2-</b> Número de passagens registadas por espécie/sonotipo de morcegos. ....	15
<b>Tabela 3.3-</b> Número de passagens registadas por espécie/sonotipo de morcegos. ....	17

## **Lista de Abreviaturas**

**AM** AudioMoth

**CL** Companhia das Lezírias

**MEMS** Microeletromecânicos

**PAM** Monitorização acústica passiva

**SM4** *Song Meter SM4BAT*

## **1. Introdução**

### **1.1. Riqueza específica e amostragem**

A manutenção dos serviços dos ecossistemas é uma prioridade na ciência da sustentabilidade e por sua vez os planos de conservação atribuem cada vez mais importância à melhoria desses serviços e à proteção global da biodiversidade (Graves et al. 2017). A biodiversidade é definida e medida de diversas formas como, por exemplo, através da riqueza específica (Cardinale et al. 2012). A riqueza específica é uma variável amplamente utilizada em estudos ecológicos e em programas de monitorização (Purvis e Hector 2000; Yoccoz et al. 2001).

Para uma conservação bem-sucedida são necessárias avaliações robustas de biodiversidade, que dependem, em grande parte, da relação custo-benefício da amostragem (Richardson et al. 2019). Estudos que avaliam as tendências espaciais ou temporais na riqueza específica ou os efeitos de diferentes fatores ambientais neste parâmetro, deparam-se com o problema da detetabilidade diferencial entre espécies, especialmente para taxas com elevado número de espécies, nas quais é improvável que todas estejam presentes num determinado sítio e no mesmo intervalo de tempo, levando à dificuldade na contagem (Kéry e Royle 2008). Deste modo, o conhecimento prévio a uma determinada amostragem, relativo às diferenças na detetabilidade entre espécies, é crucial. Além disso a adequação de um programa de monitorização de uma taxa depende da variabilidade das suas características intrínsecas e extrínsecas relacionadas com o desenho e método de amostragem (Meyer et al. 2011). A compreensão da variação normal na riqueza de espécies é fundamental para os esforços de conservação uma vez que é necessário decidir se estas alterações ao longo do tempo e espaço exigem ou não implementação de medidas de conservação (Skalak et al. 2012).

A monitorização da vida selvagem sofreu grandes alterações nos últimos anos com o desenvolvimento e introdução da tecnologia que expandiu, consideravelmente, as possibilidades de estudos de biodiversidade e ecologia (Pimm et al. 2015). O ambiente terrestre está repleto de sons de diversas fontes, maioritariamente, de animais que fornecem diversas informações que podem ir para além da simples identificação da presença de espécies, tais como a abundância, a posição, o tamanho corporal e a atividade (McGregor 2005; Wilkins et al. 2013).

### **1.2. Morcegos: ecologia e monitorização**

Os morcegos são mamíferos noturnos que adquiriram a habilidade de voar e são membros da ordem monofilética Chiroptera. Esta ordem apresenta a segunda maior riqueza específica da classe Mammalia, compreendendo mais de 1000 espécies e cerca de 20% da diversidade global de mamíferos (Teeling 2009).

Os morcegos insetívoros representam 70% de todas as espécies de morcegos e estão amplamente distribuídos (Simmons 2005). Este grupo de animais desempenha um papel ecológico muito importante na transferência de nutrientes nos ecossistemas e no controlo de populações de insetos, nomeadamente de pestes na agricultura (Boyles et al. 2011). Ocupam níveis tróficos elevados, são indicadores da qualidade do habitat e podem sofrer declínio populacional em resposta a perturbações ambientais (Jones et al. 2009; O'Donnell 2000).

O sucesso ecológico do grupo de morcegos com capacidade de ecolocalizar deve-se em grande parte a adaptações, morfológicas, fisiológicas e comportamentais, dos sistemas sensorial e motor à vida noturna,

especialmente, na evolução da ecolocalização (Schnitzler et al. 2003). Estes animais realizam vocalizações, maioritariamente na gama de frequências dos ultrassons (> 20 kHz) (Jones 2005) podendo variar entre ~8 até 200 kHz (Adams et al. 2012), para se orientarem durante a noite e localizarem as presas. Estes sinais são produzidos pela laringe e os sons refletidos, ecos, são analisados para detetar, localizar e caracterizar os alvos refletores (Schnitzler et al. 2003). Os morcegos necessitam de receber os ecos dos seus próprios sinais emitidos para a classificação e categorização dos alvos, usando padrões de informação do eco, e para a localização dos mesmos medindo o tempo entre o sinal emitido e o eco que regressa para estimar a distância.

Globalmente, cerca de 15% de todas as espécies de morcegos estão consideradas ameaçadas (*Criticamente em perigo, em perigo ou vulnerável*) (IUCN 2021). Estes mamíferos providenciam funções muito importantes nos ecossistemas, como referido anteriormente, mas estão cada vez mais ameaçados por fatores antropogénicos (Voigt e Kingston 2016). Nos últimos anos, as populações de morcegos a nível mundial têm estado em declínio devido, principalmente, à perda de habitat, fragmentação e degradação. A necessidade de implementação de redes globais e regionais de monitorização destas populações já foi reconhecida; são importantes não só para fins de conservação das espécies, mas também para tirar partido do potencial destes mamíferos como bioindicadores (Jones et al. 2009).

### **I. Amostragem na época seca: locais junto a pontos de água vs locais em zonas secas**

A distribuição da maioria dos morcegos está associada à abundância de alimento e à estrutura da vegetação. Áreas que favoreçam o movimento e possuam elevada disponibilidade de alimento têm maior presença de espécies (Rainho e Palmeirim 2010; Hagen e Sabo 2011). Nas zonas temperadas, os morcegos usam diferencialmente tipos de habitat tendo em geral preferência pela presença de árvores e corpos de água, sendo particularmente ativos em florestas e fragmentos florestais, em áreas rurais, e perto de rios, lagos e lagoas (Walsh e Haris 1996; Pettit e Wilkins 2012; Brooks 2009).

Durante os períodos secos, nos ecossistemas terrestres, a baixa disponibilidade de água pode levar a alteração de comportamentos como o de procura de alimento (McCluney e Sabo 2009). As temperaturas elevadas e pouca humidade do ar podem provocar nos morcegos perdas de água consideráveis por evaporação necessitando, por isso, de beber em maior quantidade para repor os níveis de água no corpo (Russo e Jones 2003). Assim, como a disponibilidade de água é um fator limitante nos ecossistemas mediterrânicos, os morcegos tendem a habitar e caçar perto de fontes de água onde podem ter acesso a água potável. Além do mais, os corpos de água oferecem outro recurso valioso para os morcegos insetívoros como a elevada abundância de insetos (Fukui et al. 2006). Rainho e Palmeirim (2011) reportaram que, geralmente, a atividade de procura de alimento destes animais aumenta com a diminuição da distância a corpos de água.

No entanto, a existência de zonas de água aumenta a diversidade de plantas e a estrutura complexa destes habitats, impondo desafios para o sistema de ecolocalização dos morcegos, o que pode afetar o comportamento da caça (Wenninger e Inouye 2008; Schnitzler e Kalko 2001). Estas dificuldades estão relacionadas com os mecanismos sensoriais que os morcegos realizam durante esta atividade, nomeadamente, a discriminação entre os ecos das presas alvo e os ecos de fundo, que variam significativamente de habitats abertos a estruturalmente fechados (Schnitzler e Kalko 2001; Schnitzler et al. 2003). A estrutura do habitat impõe, ainda, limitações mecânicas e energéticas ao desempenho e velocidade do voo, uma vez que morcegos que cacem em espaços restritos movimentam-se mais devagar para evitar colisões (Norberg e Rayner 1987). Em áreas florestais os morcegos tendem a ultrapassar as restrições físicas da vegetação ao utilizar corredores na floresta e as pequenas linhas de água e zonas

ripárias são por vezes bastante utilizadas por estes animais porque possuem estas aberturas (Sleep e Brigham 2003; Fukui et al. 2006). Ainda, a atividade de procura de alimento destes animais está positivamente correlacionada com a temperatura ambiente devido à maior abundância de insetos a temperaturas elevadas (Erickson e West 2002).

Num estudo de monitorização de morcegos, quando os recursos para realizar trabalho são limitados, aumentar a probabilidade de detetar mais espécies com menos esforço de amostragem envolvido pode ser importante. Deste modo, o conhecimento prévio dos locais mais frequentados por estes animais permite otimizar a amostragem. Existe abundante bibliografia que refere que os morcegos utilizam certas estruturas do habitat mais frequentemente que outras (Downs e Racey 2006). Os corpos de água estão, geralmente, entre estes locais mais utilizados e são o local onde se pode esperar maior atividade destes animais (Stahlschmidt e Bruhl 2012; Stahlschmidt et al. 2012). Bruckner (2016), numa investigação realizada na Áustria, reportou que as estações colocadas perto de linhas de água detetaram em média um maior número de espécies de morcegos do que os outros habitats testados, como a floresta e áreas abertas sem vegetação.

No caso de Portugal, o clima e a disponibilidade de água, especialmente durante o verão, e mais especificamente em tipos de habitat característicos como o montado, são diferentes dos países da Europa central. Deste modo, a avaliação, aí efetuada, da eficácia da amostragem em locais com existência de água permite uma recolha de dados mais eficaz e melhor gestão dos recursos.

## **II. Amostragem com gravadores *AudioMoth* vs *Song Meter SM4BAT***

As vocalizações emitidas pelos morcegos durante a ecolocalização podem ser registadas por gravadores sensíveis a altas frequências e a análise das gravações obtidas permite, em muitos casos, distinguir diferentes espécies e identificar atividades como a procura de alimento. Estes aparelhos, sensíveis às frequências acústicas produzidas por morcegos, são de extrema importância na investigação deste grupo de animais e têm sido utilizados frequentemente, tanto para o estudo do comportamento da ecolocalização, como de padrões de distribuição e níveis de atividade (Adams et al. 2012).

Nos últimos anos, os métodos de amostragem acústica têm sido cada vez mais utilizados em estudos de biodiversidade faunística podendo ser amostrados acusticamente um amplo conjunto de animais terrestres que produzem sons, maioritariamente, morcegos (Obrist et al. 2004), insetos (Chesmore e Ohya 2004), anfíbios (Huang et al. 2009) e aves (Wimmer et al. 2013). A monitorização acústica passiva (PAM) permite também recolher dados relativos à distribuição de espécies e suas abundâncias, providenciando, ainda, informações referentes à qualidade do habitat e à saúde do ecossistema (Blumstein et al. 2011). A PAM permite, ainda, estudar o uso do habitat pelas espécies e a pressão antropogénica aí exercida através de estudos a longo prazo que permitem detetar os impactos nas estruturas das comunidades (Russo e Jones 2003; Wickramasinghe et al. 2004).

Com os recentes progressos na capacidade de armazenamento de dados, na melhoria da tecnologia de deteção e identificação de espécies e redução no custo dos equipamentos de gravação acústica, a utilização deste tipo de monitorização oferece oportunidades favoráveis em estudos de biodiversidade, principalmente, para espécies pouco conspícuas (Barré et al. 2019; Gibb et al. 2019). Estes avanços tecnológicos traduzem-se em diversas vantagens nos inventários de espécies, como uma amostragem temporal e espacial mais abrangente, diminuição do enviesamento das observações e armazenamento a longo prazo das gravações (Farina e Gage 2017). A PAM possui, ainda, vantagens como o facto de não ser invasiva, ser de baixo custo, e facilitar a amostragem em habitats fechados como florestas, onde pode ocorrer a subestimação da riqueza de espécies (MacSwiney et al. 2008; Skalak et al. 2012). Além do

mais, amostragens acústicas detetam, geralmente, mais espécies do que aparelhos de captura ativa (Murray et al. 1999; O'Farrel e Miller 1999). Contudo, a utilização deste tipo de amostragem em monitorização de animais terrestres continua bastante reduzida quando comparada ao seu uso para a fauna marinha (Servick 2014). Compreender, assim, as aplicações atuais, as limitações e os desafios da PAM permitirá otimizar as aplicações futuras deste método em crescimento na investigação em ecologia.

Existem diversos tipos de gravadores acústicos e a sua utilização depende do objetivo do estudo, dos organismos alvo e das condições ambientais nas quais vão ser aplicados. Estes gravadores são aparelhos portáteis que gravam passivamente parâmetros de frequência do som e padrões de vocalizações, como a duração e a intensidade, permitindo que sejam identificadas posteriormente, por exemplo, ocorrências de ecolocalização a nível individual ou de grupo (Gannon et al. 2004). O tipo de microfone utilizado depende maioritariamente do grupo de animais a estudar, uma vez que este equipamento é em geral sensível a uma limitada determinada gama de frequências, que no estudo dos morcegos precisa de ser a gama dos ultrassons (Blumstein et al. 2011). Estes aparelhos de monitorização acústica passiva, que registam duração e intensidade das vocalizações (Gannon et al. 2004), necessitam de uma elevada capacidade de memória.

A monitorização a longo prazo é, também, limitada pelo tamanho do equipamento e carga das baterias, uma vez que apresentam um elevado consumo energético (Newson et al. 2017; Wrege et al. 2017). Equipamentos programáveis, com otimização do consumo de energia e do armazenamento, recolha de metadados e intervalos de gravação programados, permitem amostragens mais autónomas e flexíveis (Aide et al. 2013; Baumgartner et al. 2013). No entanto, os que têm microfones e equipamentos de melhor qualidade podem ter custos bastante elevados, como é o caso dos modelos *Song Meters* da *Wildlife Acoustics* (Gibb et al. 2018). O modelo *Song Meter SM4BAT* (SM4) é um equipamento dispendioso, cerca de € 1150, mas de elevada fiabilidade, que usa baterias que permitem 480 horas de gravação de grande capacidade de armazenamento de dados. Usam microfones ultrassónicos de baixo ruído, como o *SMM-U2*, com elevada sensibilidade de gravação e possibilitam a programação de filtros passa-alto que permitem a otimização das gravações em ambientes algo ruidosos. Processam dados a taxas de amostragem máximas de 500 kHz (Wildlife Acoustics s.d.a). Uma alternativa mais em conta são os equipamentos *AudioMoth* (AM), com custo médio de € 70, baixo consumo energético, de pequenas dimensões e facilidade de utilização. Estes gravadores com microfones microeletromecânicos (MEMS) processam dados a taxas de amostragem até 384 kHz em tempo real e armazenam um máximo de 64 GB de dados (Hill et al. 2017). Estes gravadores podem ser programados para gravar apenas sons com frequências seleccionadas e deste modo apenas os com interesse são guardados, reduzindo o tempo de processamento dos dados, assim como o consumo da bateria e da capacidade de armazenamento (Hill et al. 2017).

Os sons produzidos por morcegos têm uma enorme variabilidade, como por exemplo no que diz respeito à frequência e intensidade das vocalizações, o que pode influenciar a sua deteção, mesmo utilizando os melhores gravadores. Os morcegos que ecolocalizam a frequências elevadas são mais dificilmente detetados do que os que vocalizam a frequências baixas, uma vez que os sons de altas frequências se atenuam mais rapidamente por absorção pelo ar, resultando em subestimação da representação dessas espécies em amostragens acústicas (Murray et al. 2009). Nalguns casos, o uso de equipamentos de baixo custo de monitorização acústica de morcegos pode envolver o compromisso entre o custo do aparelho e a qualidade dos dados obtidos (Gibb et al. 2018). Com o aumento do número de equipamentos de deteção acústica de morcegos comercializados é necessário considerar as diversas tecnologias existentes, avaliando as capacidades e limitações dos equipamentos a utilizar, que podem levar a diferenças significativas nos resultados e diminuição da sua credibilidade (Adams et al. 2012). Considerando,

ainda, que estimar a riqueza específica como parte de um programa de monitorização de espécies de morcegos deve ser baseado em amostragens repetidas em diferentes pontos do local selecionado (Meyer et al. 2011), equipamentos de menor custo, cujos resultados sejam equiparados aos de superior qualidade, permitirão aumentar a qualidade dos resultados.

Têm vindo a ser realizados estudos de comparação de equipamentos acústicos na monitorização de comunidades de morcegos. Waters e Walsh (1994) reportaram que detetores com microfones com maior sensibilidade gravaram mais vocalizações de morcegos por hora e Parsons (1996) descobriu que diversas marcas de equipamentos apresentavam diferenças significativas na distância mínima e máxima de deteção. Por outro lado, num estudo realizado por Adams et al. (2012) foram testados 5 modelos de gravadores de morcegos o que resultou em diferenças no desempenho entre os mesmos devido à direcionalidade e à resposta em frequência dos microfones. Neste último estudo o gravador *SM2BAT*, antecessor do *SM4BAT*, apresentou um desempenho superior aos restantes gravadores. Mais recentemente, Kaiser e O'Keefe (2015) demonstraram que a capacidade de gravar vocalizações de morcegos, entre os aparelhos *ANABAT* e *SM2BAT*, em diferentes gamas de frequências varia com o tipo de microfone e equipamento de proteção de condições meteorológicas usado. Deste modo, e como até ao presente não se conhecem trabalhos referentes à comparação entre o equipamento mais recente da *Wildlife Acoustics SM4BAT* e o gravador *AudioMoth*, estudos que permitam adquirir este conhecimento são de máximo interesse.

### III. Amostragem com estações de gravação duplas vs individuais

Relativamente ao referido anteriormente, os gravadores acústicos *AudioMoth*, com microfones omnidirecionais, são mais económicos e por sua vez a sua utilização em programas de monitorização de morcegos pode ser vantajosa no que diz respeito ao aumento dos locais de amostragem. No entanto, é necessário ter em consideração que vários fatores podem afetar a qualidade das gravações de vocalizações e a probabilidade de deteção de espécies individuais, tais como a altura de colocação dos gravadores, a orientação relativa à vegetação, a orientação do microfone e o tipo de equipamento e microfone (Ratcliffe e Jakobsen 2018; Staton e Poulton 2012; Weller e Zabel 2002; Britzke et al. 2010).

Os microfones dos gravadores podem ser direcionais ou omnidirecionais e os cones de deteção diferem consideravelmente entre eles. Os microfones omnidirecionais têm um cone de deteção mais alargado que os unidirecionais, o que leva a que o volume de ar que amostram seja superior (Limpens e McCracken 2004). No entanto, os gravadores com microfones omnidirecionais tendem a captar mais não só ecos ou reflexões de superfícies do solo, o que pode distorcer as vocalizações gravadas, como também mais ruído da vegetação circundante (Kaiser e O'Keef 2015).

Para o desenvolvimento inicial de uma amostragem robusta é essencial que a recolha de dados seja apropriada e deste modo os ecologistas deparam-se com o conflito de escolha inevitável entre a recolha de dados mais completas de poucos locais ou recolha de dados menos completos de um número de locais superior. Este *trade-off* pode ser, em parte, resolvido ao conhecer as fontes de variabilidade nos dados recolhidos (Austin 2002; Fischer et al. 2009).

O ruído captado pelos microfones ou as diferenças na deteção de vocalizações de morcegos, resultantes do local de colocação do gravador, podem levar a alterações na obtenção dos dados. Muitos ecologistas que investigam morcegos têm tentado determinar o modo como as mudanças na metodologia de amostragem podem resultar no aumento de estimativas precisas da atividade dos animais em estudo (Duchamp et al. 2006). Podem ocorrer diferenças na capacidade de detetar morcegos entre vários

gravadores do mesmo tipo o que pode gerar variabilidade, mas os problemas dela resultantes podem ser reduzidos através da colocação de vários gravadores por local (Fischer et al. 2009).

Além disso, devido ao tipo de microfone do equipamento e à limitação imposta pelo cone de detecção, pode ser vantajosa a colocação de um equipamento extra por estação. Uma vez que mesmo os microfones omnidirecionais podem não ser igualmente sensíveis em todas as direções, a colocação de dois gravadores no mesmo local com os microfones a apontar para direções distintas pode melhorar a cobertura da área de estudo. Law et al. (2015), num estudo realizado com detetores *Anabat*, que possuem microfones omnidirecionais, recomendam a utilização de dois gravadores acústicos por local para amostragens com três ou mais noites consecutivas de gravação. Quando o número de gravadores é limitado e a variação espacial não for considerável, este tipo de amostragem pode permitir um uso mais eficiente dos recursos (Law et al. 2015). Para otimizar uma amostragem de monitorização, é necessário considerar os requisitos do tamanho da amostra e o custo-benefício do esforço de amostragem (Guillera-Arroita e Lahoz-Monfort 2012). Amostrar múltiplas vezes o mesmo local, através da utilização de mais do que um gravador, pode maximizar a precisão dos dados obtidos nesse mesmo ponto, no entanto uma vez que os recursos são limitados é necessário compensar com o número de locais selecionados aumentando a incerteza dos resultados (Law et al. 2015). Em suma, a utilização de um gravador extra por local de amostragem pode resultar numa obtenção de dados mais robustos devido ao tipo de microfone utilizado e à variabilidade associada a cada local sendo importante avaliar o custo-benefício do consequente aumento do esforço de amostragem.

Até ao momento, não foi avaliada a eventual vantagem da utilização de mais do que um gravador AM, com microfones omnidirecionais, por estação de amostragem, no que diz respeito à detecção de espécies de morcegos. Esta avaliação poderia contribuir para uma melhor decisão de metodologia aquando da monitorização de comunidades de morcegos.

Para que o esforço de amostragem possa seja adequado, é importante ter em consideração a variação espacial e temporal da atividade dos morcegos (Gorresen et al. 2008; Weller et al 2008; Milne et al. 2005). Assim, e de um modo geral, são necessárias várias amostragens para que seja possível detetar todas as espécies existentes numa determinada área (Moreno e Halfpeter 2000).

Finalmente, o esforço de amostragem realizado durante amostragens acústicas influencia a probabilidade de detecção de várias espécies pelo que a implementação e validação de metodologias que levem à melhoria da monitorização das comunidades de morcegos é de extrema importância.

### **1.3. Objetivos**

O presente estudo tem como objetivo responder às seguintes questões:

#### **I. Amostragem na época seca: locais junto a pontos de água vs locais em zonas secas**

Durante a época seca, em regiões onde existe forte variação sazonal na precipitação e os insetos são, geralmente, menos abundantes, objetiva-se conhecer se é necessário amostrar toda a área de estudo ou se é suficiente amostrar locais junto a pontos de água onde os morcegos se tendem a concentrar devido à sua necessidade frequente de ingestão de água e à maior abundância de insetos nestes locais. Deste modo pretende-se verificar se são obtidos os mesmos resultados com menos esforço de amostragem. Para responder a esta questão serão avaliadas as diferenças na riqueza específica de morcegos obtida em amostragens junto a pontos de água e em zonas secas.

## II. Amostragem com gravadores AM vs SM4BAT

Tem-se como propósito verificar se a utilização de um equipamento de gravação de baixo custo como o *AudioMoth* permite obter resultados comparáveis ao gravador de elevado custo mais utilizado, *Song Meter SM4BAT*. As amostragens acústicas de morcegos têm sido, tradicionalmente, realizadas com estações de gravação dispendiosas, limitando muito o número de locais amostrados. O desenvolvimento recente de gravadores com custos mais baixos permite amostragem simultânea de muitos locais. De modo a responder a esta questão serão comparadas as diferenças na riqueza de espécies identificadas com cada um dos tipos de equipamentos de gravação.

## III. Amostragem com estações de gravação duplas vs individuais

Pretende-se saber se a colocação de duas estações de gravação acústica *AudioMoth* colocados lado a lado com os microfones voltados para sentidos opostos permite obter resultados mais abrangentes em cada local de amostragem, uma vez que a omnidirecionalidade dos microfones dos AM não é perfeita. Avaliar-se-á o benefício da utilização de um equipamento extra e consequente esforço de amostragem. Ainda, quando o número de gravadores é limitado, será testado se a colocação de um par de gravadores por local é mais eficaz na deteção de espécies de morcegos do que a colocação do mesmo número de gravadores posicionados isoladamente no dobro dos locais. Para tal o número de espécies de morcegos detetadas pela colocação de um AM ou dois AM, simultaneamente, será comparado.

## 2. Métodos

### 2.1. Amostragem

#### 2.1.1. Local de amostragem

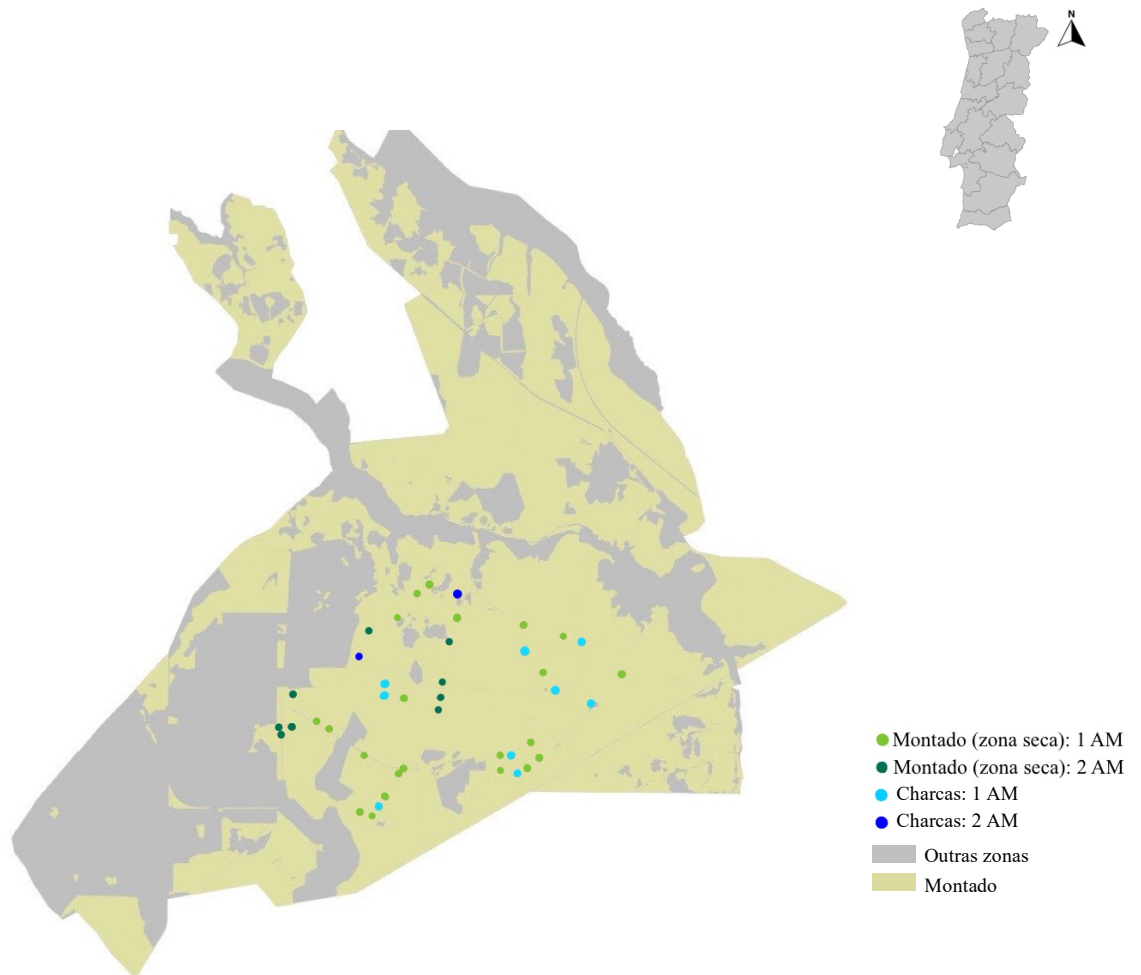
A Companhia das Lezírias (CL) é uma exploração agro-pecuária e florestal, com 17952 ha, distribuída pelos distritos de Lisboa e Santarém, Portugal (Companhia das Lezírias s.d.; Companhia das Lezírias 2016). A área florestal, correspondente a 81% da área total, é constituída por 75% de montado de sobro, 11% de pinhal bravo, 8% de pinhal manso e 6% de eucaliptal. Encontram-se, também, pontos de água de pequenas dimensões como charcas, pequenos açudes e bebedouros para o gado. A CL situa-se numa região de clima Mediterrânico de transição entre o Semi-Árido e o Sub-Húmido, com período seco entre maio-junho e setembro (Companhia das Lezírias 2016).

A primeira parte da amostragem foi realizada neste local entre os dias 3 e 10 de agosto de 2020 e a segunda entre os dias 25 de setembro e 1 de outubro de 2020.

#### 2.1.2. Amostragem para comparar locais junto a pontos de água com locais em zonas secas

Em agosto, de modo a testar se amostrar apenas locais com presença de água permite obter melhores resultados na deteção de espécies de morcegos em comparação com locais com a ausência desta foram colocados 42 gravadores *AudioMoth* no local de estudo (Figura 2.1). Destes, 31 foram dispostos em zonas de montado de sobro com densidade média-alta de árvores e 11 em zonas também de montado, mas na proximidade a pontos de água tais como pequenos açudes, charcas ou bebedouros, locais estes onde seria de esperar uma maior utilização por morcegos (Obrist et al. 2011; Marques e Rainho 2006) (Figura 2.2). Para a seleção dos locais percorreu-se de carro, entre cada ponto, uma distância mínima de 200 m, de modo a garantir que gravadores de diferentes locais não detetavam o mesmo animal, simultaneamente (Palmeirim com. pess.). Os aparelhos foram colocados, em geral em vedações, sempre

a cerca de 2 m de altura do solo. As estações de gravação foram programadas para gravar das 20 h 15 min às 6 h 15 do dia seguinte e no número máximo de noites permitidas pela memória de armazenamento e bateria disponíveis dos equipamentos AM, resultando numa média de 5 noites. As gravações foram realizadas a uma taxa de amostragem de 256 kHz e, continuamente, durante 58 min com pausas de 2 min. O ganho dos microfones foi estabelecido como médio para diminuir as distorções devido ao ruído.



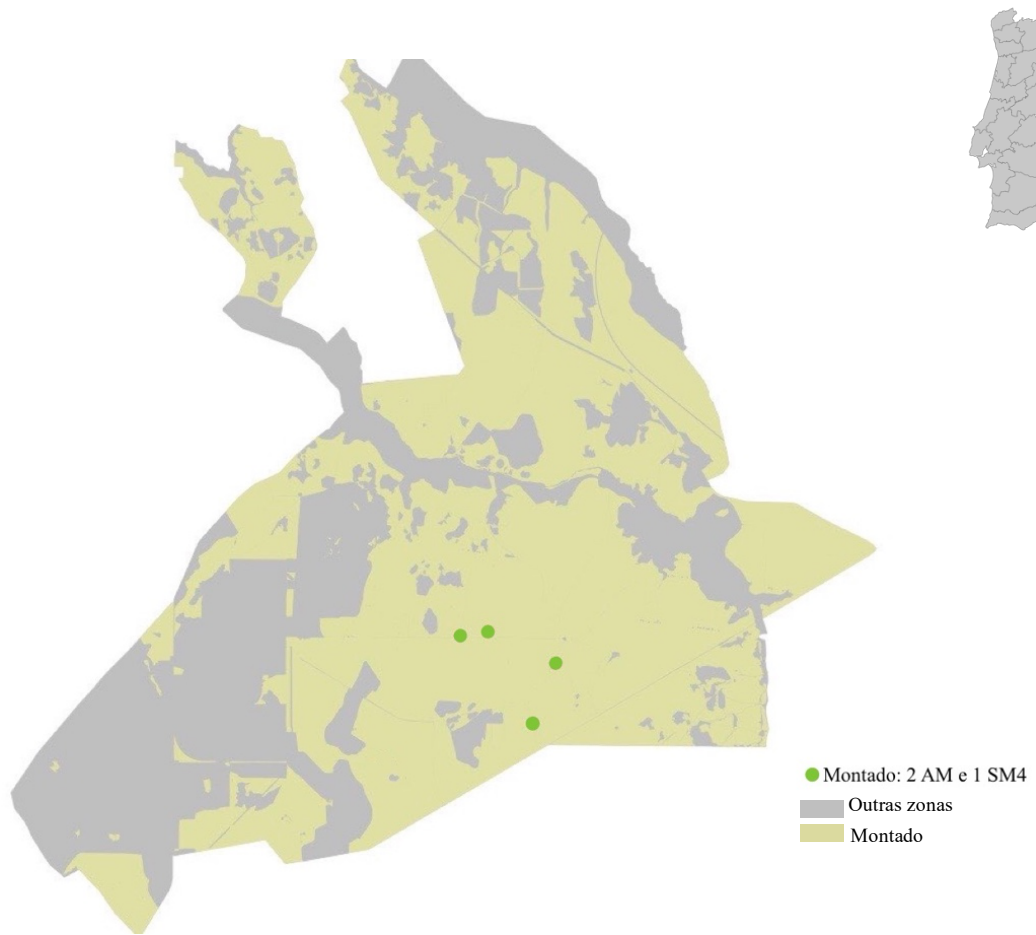
**Figura 2.1-** Mapa dos locais de colocação dos gravadores AM da amostragem de agosto na CL.



**Figura 2.2-** A: Gravador AM colocado junto a um ponto de água; B: Gravador AM colocado numa zona de montado. (Fotografias de Jorge Palmeirim).

### 2.1.3. Amostragem para comparar estações AM e SM4BAT

Em setembro foram colocados um gravador *SM4BAT* e dois gravadores *AudioMoth* em quatro locais caracterizados por montado de sobre (Figura 2.3). O segundo AM foi colocado apenas para garantir a disponibilidade de dados no caso de em algum deles se esgotar a bateria mais cedo do que no *SM4BAT* (Figura 2.4). A escolha dos pontos de colocação dos gravadores e a sua fixação foram realizadas de igual forma à realizada para a amostragem da questão anterior. Os gravadores acústicos foram programados para gravar das 19 h 15 min às 24 h do dia seguinte, de modo a gravar o número máximo de noites permitidas pela memória de armazenamento e bateria disponíveis dos equipamentos, o que resultou numa média de seis noites. As gravações foram realizadas a uma taxa de amostragem de 256 kHz e, continuamente, durante 58 min com pausas de 2 min. O ganho dos microfones foi estabelecido como médio para diminuir as distorções devido ao ruído.



**Figura 2.3-** Mapa dos locais de colocação dos gravadores AM e SM4 da amostragem de setembro na CL.



**Figura 2.4-** Gravador SM4 colocado simultaneamente com os gravadores AM.

#### 2.1.4. Amostragem para comparar estações de gravação individuais e duplas

Em agosto foram colocados 22 gravadores AM aos pares com os microfones voltados para sentidos opostos, em 11 locais (Figura 2.1; Figura 2.5). A seleção dos locais e o processo de colocação dos gravadores foram realizados de igual forma às amostragens referidas anteriormente. Os AM foram programados para gravar das 20 h 15 min às 6 h 15 do dia seguinte e no número máximo de noites permitidas pela memória de armazenamento e bateria disponíveis dos gravadores, resultando numa média de cinco noites. As gravações foram realizadas continuamente, durante 58 min com pausas de 2 min, a uma taxa de amostragem de 256 kHz e o ganho dos microfones foi estabelecido como médio para diminuir as distorções devido ao ruído.



**Figura 2.5-** Gravadores AM colocados com os microfones para sentidos opostos. (Fotografias de Jorge Palmeirim).

## 2.2. Análise de dados

### 2.2.1. Análise automática das gravações

Inicialmente, de modo a realizar a triagem do total de gravações acústicas obtidas na amostragem, descartando gravações que não continham vocalizações de morcegos, e identificar preliminarmente as espécies em estudo, foi utilizado o programa *Kaleidoscope Pro's Bat Auto-ID* versão 5.3.9 (Wildlife Acoustics s.d.b). Este programa analisa as vocalizações emitidas pelos morcegos durante a ecolocalização e sugere automaticamente as espécies mais prováveis com base nas características acústicas dos impulsos gravados (Wildlife Acoustics s.d.b). Para os gravadores AM da amostragem de setembro, relativo à comparação na deteção de espécies de morcegos entre estações SM4 e AM, apenas um dos aparelhos colocados no mesmo local foi analisado, correspondente ao gravador com todas as noites de gravação completa.

As gravações completas, de um total de 58 min, foram separadas em registos de 5 s. Cada uma destas gravações de 5 s corresponde a uma passagem de morcego e foram consideradas como uma observação. Os ficheiros considerados ruído foram automaticamente movidos para outra pasta pelo programa e os com presença de morcegos foram organizados por noite. Para os sinais a detetar foi estabelecida frequência mínima e máxima de 10 e 130 kHz, respetivamente, e duração mínima de 2 e máxima de 500 ms. A duração máxima do intervalo entre impulsos foi considerada 500 ms. Ainda, o número mínimo de impulsos a detetar pelo *Kaleidoscope Pro's Bat Auto-ID* foi de 3. A classificação selecionada foi de morcegos da Europa, mais especificamente de Portugal.

### **2.2.2. Análise manual das gravações**

Para confirmar os resultados obtidos através do programa *Kaleidoscope Pro's Bat Auto-ID* realizou-se uma análise manual de cada gravação. As gravações foram analisadas tendo em conta os tipos de impulsos no que diz respeito às frequências acústicas e duração das vocalizações emitidas pelas espécies cuja presença na Companhia das Lezírias seja provável. As identificações realizaram-se de acordo com Barataud 2015, à exceção do género *Myotis* no qual foram suportadas pela Chave de identificação das vocalizações dos Morcegos de Portugal Continental (Rainho et al. 2011).

A identificação foi realizada de forma conservadora, não tendo sido identificados nas gravações os impulsos que não correspondiam às características dos das possíveis espécies. Foram, ainda, descartadas gravações com número de impulsos detetados inferior a 3.

Para as passagens identificadas pelo programa *Kaleidoscope* como pertencentes ao género *Pipistrellus* foi aplicado um critério adicional. A identificação manual foi realizada utilizando apenas os valores do parâmetro Frequência média característica (Wildlife Acoustics s.d.b) dos impulsos de cada passagem de morcego para separação entre espécies. Não foram consideradas, ainda, gravações nas quais o *Match ratio* tinha valor inferior a 0,5. Este parâmetro é indicativo da proporção de impulsos identificados pelo *Kaleidoscope* como sendo da mesma espécie, numa gravação de 5 s (Wildlife Acoustics s.d.b).

Para as espécies nas quais a identificação e discriminação dos impulsos emitidos é difícil e poderia tornar provável a confusão entre estas, foram agrupadas em sonotipos. Sonotipos são conjuntos de espécies acusticamente semelhantes, nomeadamente na estrutura das vocalizações (Ochoa et al. 2000). Os dois sonotipos utilizados foram para as espécies do género *Myotis* e para as espécies *Nyctalus leisleri*, *Eptesicus serotinus* e *Eptesicus isabellinus*.

## **2.3. Análise estatística**

### **2.3.1. Amostragem para comparar locais junto a pontos de água com locais em zonas secas**

Os dados foram agrupados por noites e cada noite foi considerada completa se possuía gravações até pelo menos às 5 h da manhã. Apenas foram utilizadas as primeiras cinco noites de cada estação uma vez que na sexta noite alguns dos gravadores já não continham dados adequados por esgotamento da bateria ou memória. Para esta análise foi utilizado o programa Microsoft Excel versão 16.53.

Para determinar as diferenças no número de espécies de morcegos detetadas em gravadores colocados em locais com pontos de água e locais em zonas secas, durante a época seca, foram realizadas curvas de rarefação *Mao Tau* do número de espécies detetadas em função do tipo de local do gravador, para 1, 2, 3, 4 e 5 noites de amostragem, utilizando o programa *PAST 4.07b* (Hammer et al. 2001). As curvas de

rarefação foram realizadas com base numa matriz de dados de presença e ausência das espécies detetadas e a significância estatística foi verificada através da análise dos intervalos de confiança.

### **2.3.2. Amostragem para comparar estações AM e SM4BAT**

Os dados foram organizados por noites, utilizando o programa *Microsoft Excel*, e cada noite foi considerada completa se continha gravações até pelo menos às 5 h da manhã, resultando num total de seis noites de gravação consecutivas.

De modo a comparar a eficiência da amostragem da riqueza específica de morcego entre os aparelhos AM e SM4 foram realizadas, de igual modo com o programa referido anteriormente, curvas de rarefação *Mao Tau* do número de espécies detetadas em função do tipo de gravador, para 1, 2, 3, 4, 5 e 6 noites de amostragem. As curvas de rarefação foram realizadas com base numa matriz de dados de presença e ausência das espécies detetadas e a significância estatística foi verificada através da análise dos intervalos de confiança.

### **2.3.3. Amostragem para comparar estações de gravação individuais e duplas**

Os dados foram separados por noites e cada noite foi considerada completa se as gravações duravam até pelo menos às 5 h da manhã, sendo selecionadas apenas cinco noites de gravação seguidas. Este processo foi realizado de modo equivalente às para as amostragens anteriores, utilizando o programa de análise referido.

Com o intuito de verificar se a colocação de dois AM no mesmo local, com os microfones virados em direções opostas, é vantajosa para a deteção da riqueza específica de morcegos relativamente aos mesmos gravadores colocados individualmente os dados dos dois gravadores em conjunto foram comparados com os dados destes de forma isolada. Foram, também, realizadas curvas de rarefação *Mao Tau* do número de espécies detetadas em função do método de colocação dos AM, para 1, 2, 3, 4 e 5 noites de amostragem. Os dados obtidos foram analisados de igual forma aos das questões anteriores. De igual modo, as curvas de rarefação foram realizadas com base numa matriz de dados de presença e ausência das espécies detetadas e a significância estatística foi verificada através da análise dos intervalos de confiança.

## **3. Resultados**

### **3.1. Comparação da amostragem realizada em locais com e sem pontos de água**

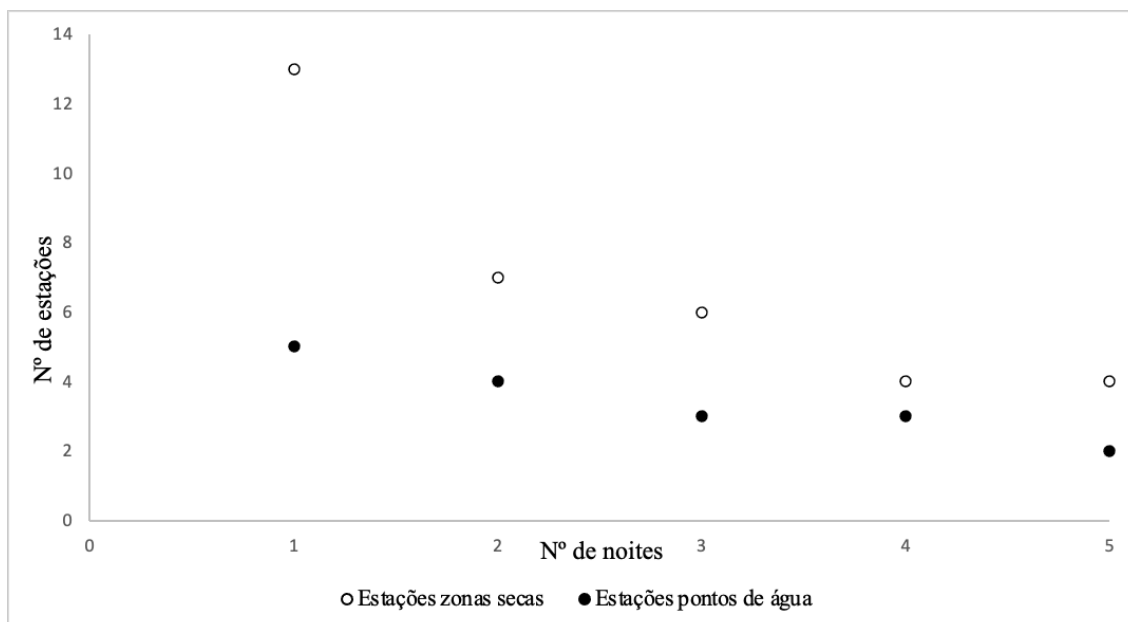
Em agosto de 2020, durante a época seca, foram obtidos dados acústicos de cinco noites de gravação com 11 estações colocadas junto a pontos de água, resultando num total de 55 noites de dados. Para os 31 gravadores posicionados em locais sem presença de água foram obtidos 155 noites de dados de gravação, resultado de cinco noites de gravação em cada estação. Após a eliminação dos ficheiros de ruído foram identificados 90174 ficheiros com passagens de morcegos. No total foram detetadas 9 espécies/sonotipos de morcegos (*Barbastella barbastellus*, *Nyctalus leisleri*/ *Eptesicus serotinus*/ *Eptesicus isabellinus*, *Nyctalus lasiopterus*, *Myotis* sps., *Pipistrellus kuhli*, *Pipistrellus pygmaeus*, *Pipistrellus pipistrellus*, *Plecotus auritus*/ *Plecotus austriacus*, *Tadarida teniotis*). A espécie com maior abundância de passagens foi a *Pipistrellus kuhli* e as espécies *Plecotus auritus*/ *Plecotus austriacus* foram as menos detetadas (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1-** Número de passagens registadas por espécie/sonotipo de morcegos.

Nome da espécie/ sonótipo	Nº de passagens
<i>Barbastella barbastellus</i>	190
<i>Myotis sps</i>	818
<i>Nyctalus lasiopterus</i>	130
<i>Nyctalus leisleri/ Eptesicus serotinus/ Eptesicus isabellinus</i>	6085
<i>Pipistrellus kuhli</i>	50731
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	22402
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>	9397
<i>Plecotus auritus/ Plecotus austriacus</i>	42
<i>Tadarida teniotis</i>	379

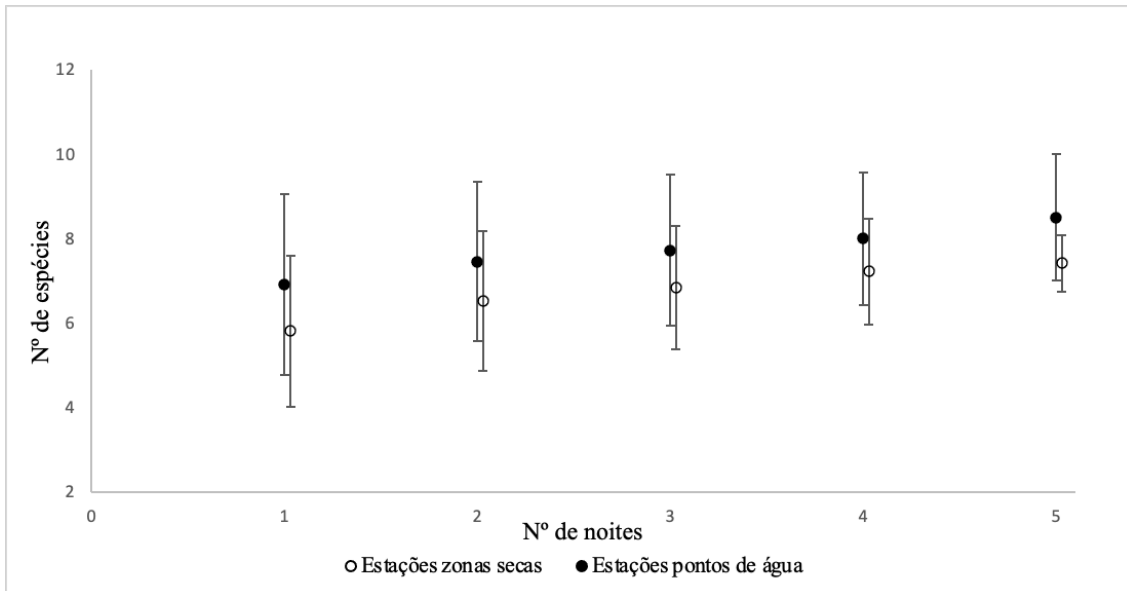
Através do número de espécies/sonotipos detetados durante a época seca verificou-se que este varia de acordo com os locais de colocação dos gravadores acústicos. As estações colocadas perto de pontos de água apresentaram um valor de riqueza específica detetada superior em comparação com os locais de amostragem em zonas secas (Figura 3.2; Figura A1, Anexo).

Para detetar 95% da riqueza específica total do local de estudo (8,55 espécies/sonotipos, N=9) observou-se serem necessárias menos estações de amostragem bem como menos noites de gravação consecutivas quando a amostragem é feita junto a pontos de água (Figura 3.1). Para uma noite de amostragem junto a pontos de água apenas foram necessárias cinco estações de gravação para detetar 95% do total de espécies/sonotipos, enquanto colocando as estações em zonas sem água, para o mesmo tempo de gravação, foram necessárias 13 estações. Esta diferença diminuiu quando a amostragem incluiu cinco noites, mas o número de locais de colocação de gravadores acústicos necessários para atingir o valor de espécies referido continuou a ser superior na amostragem em zonas de montado longe de pontos de água, nas quais foram necessárias quatro estações, tendo sido necessárias apenas duas junto aos pontos de água (Figura 3.1).



**Figura 3.1-** Estações e noites necessárias para obter pelo menos 95% da riqueza específica da área de estudo em locais de amostragem com e sem pontos de água.

Para uma amostragem relativa a uma estação de gravação (considerando as curvas de rarefação, Figura A1, Anexo) foi possível verificar, de igual modo, que o número de espécies/sonotipos captadas acusticamente foi superior quando os gravadores foram posicionados junto a pontos de água. Com o crescente número de noites de gravação consecutivas a riqueza específica identificada aumentou sucessivamente para ambos os tipos de amostragem testados. Mesmo com cinco noites de amostragem, em média as estações colocadas junto a pontos de água detetaram 8,5 espécies/sonótipos enquanto as sem pontos de água apenas 7,4 espécies/sonótipos (Figura 3.2).



**Figura 3.2-** Número de espécies/sonotipos detetado para uma estação de gravação por noites de amostragem, para estações colocadas junto a pontos de água e em zonas secas.

### 3.2. Comparação da amostragem realizada com gravadores AM e SM4

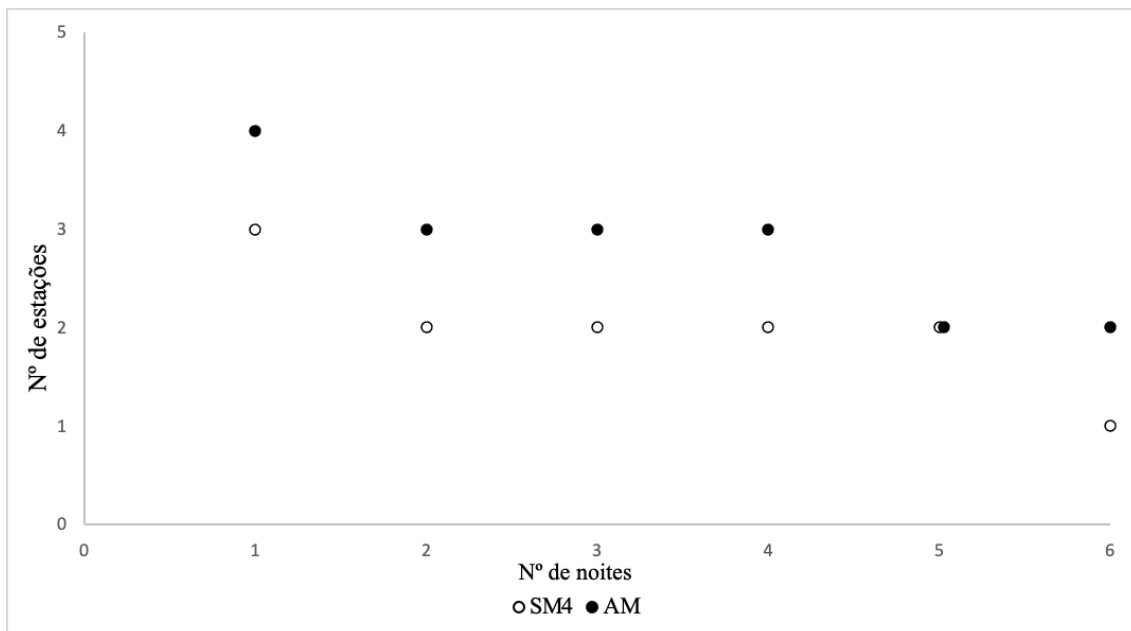
Na amostragem de setembro de 2020, foram gravados dados acústicos de seis noites de gravação para quatro locais com um gravador AM e um SM4 cada, resultando num total de 48 noites de dados de gravações. Após a triagem dos dados foram obtidos 4616 ficheiros com passagens de morcegos. No total foram detetadas nove espécies/sonotipos de morcegos (*Barbastella barbastellus*, *Nyctalus leisleri*/*Eptesicus serotinus*/*Eptesicus isabellinus*, *Nyctalus lasiopterus*, *Myotis sps.*, *Pipistrellus kuhli*, *Pipistrellus pygmaeus*, *Pipistrellus pipistrellus*, *Plecotus auritus*/*Plecotus austriacus*, *Tadarida teniotis*). As espécies mais e menos abundante foram *Pipistrellus kuhli* e *Nyctalus lasiopterus* (Tabela 3.2).

**Tabela 3.2-** Número de passagens registadas por espécie/sonotipo de morcegos.

Nome da espécie/ sonótipo	Nº de passagens
<i>Barbastella barbastellus</i>	25
<i>Myotis sps</i>	49
<i>Nyctalus lasiopterus</i>	3
<i>Nyctalus leisleri</i> / <i>Eptesicus serotinus</i> / <i>Eptesicus isabellinus</i>	505
<i>Pipistrellus kuhli</i>	1718
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	1618
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>	505
<i>Plecotus auritus</i> / <i>Plecotus austriacus</i>	8
<i>Tadarida teniotis</i>	185

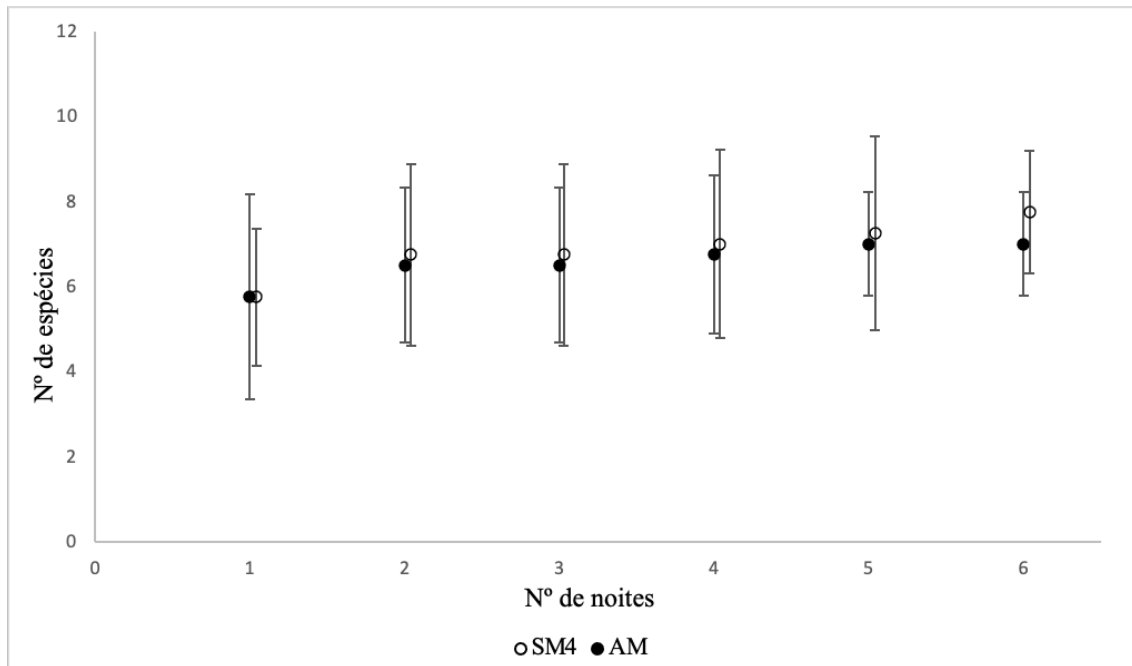
Através das curvas de rarefação realizadas com os dados obtidos foi possível verificar que os equipamentos de gravação SM4 apresentaram, de um modo geral, melhores resultados no que diz respeito à detecção de espécies/sonotipos de morcegos para todas as noites de amostragem (Figura A2, Anexo), sendo possível verificar diferenças, ainda que ligeiras, nos dois tipos de equipamento de gravação testados. O gravador AM não identificou todas as espécies/sonotipos presentes detetando apenas oito das nove referidas. O grupo taxonômico *Plecotus auritus/Plecotus austriacus* não foi detetado pelo equipamento de baixo custo (AM).

Para atingir 85% da riqueza de espécies total da área de estudo (7,65 espécies/sonotipos, N=9) os gravadores SM4 revelaram-se, ligeiramente, superiores na eficiência de detecção das vocalizações de morcegos detetando um maior número de espécies/sonotipos com menos noites e estações de amostragem (Figura 3.3). Para uma noite de gravação foram necessárias três e quatro estações para os gravadores SM4 e AM, respectivamente. Para o número de noites totais da amostragem verificou-se que seria necessário apenas um gravador SM4 e dois AM para detetar 85% das espécies/sonotipos presentes (Figura 3.3).



**Figura 3.3-** Estações e noites necessárias para obter pelo menos 85% da riqueza específica da área de estudo, para estações SM4 e AM.

Para uma estação de amostragem os dados sugerem que o gravador SM4 apresentou um desempenho ligeiramente melhor do que os AM, ainda que este resultado seja apenas indicativo, uma vez que a grande sobreposição dos intervalos de confiança demonstra que esta diferença não é estatisticamente significativa (Figura 3.4).



**Figura 3.4-** Comparação do número de espécies/sonotipos detetado com uma estação de gravação por noites de amostragem, para gravadores SM4 e AM.

### 3.3. Comparação dos resultados obtidos com uma ou duas estações em cada local

Em agosto de 2020, foram, ainda, gravados dados acústicos de cinco noites de gravação para 11 estações com dois gravadores cada colocados com os microfones posicionados para lados opostos num total de 110 noites de dados obtidas. Como resultado, um total de 51554 ficheiros com passagens de morcegos foram identificados. No total foram detetadas nove espécies/sonotipos de morcegos (*Barbastella barbastellus*, *Nyctalus leisleri*/*Eptesicus serotinus*/*Eptesicus isabellinus*, *Nyctalus lasiopterus*, *Myotis sps.*, *Pipistrellus kuhli*, *Pipistrellus pygmaeus*, *Pipistrellus pipistrellus*, *Plecotus auritus*/*Plecotus austriacus*, *Tadarida teniotis*). A espécie mais registada pelos gravadores foi a *Pipistrellus kuhli*. e o sonotipo *Plecotus auritus*/*Plecotus austriacus* foi o menos registado.

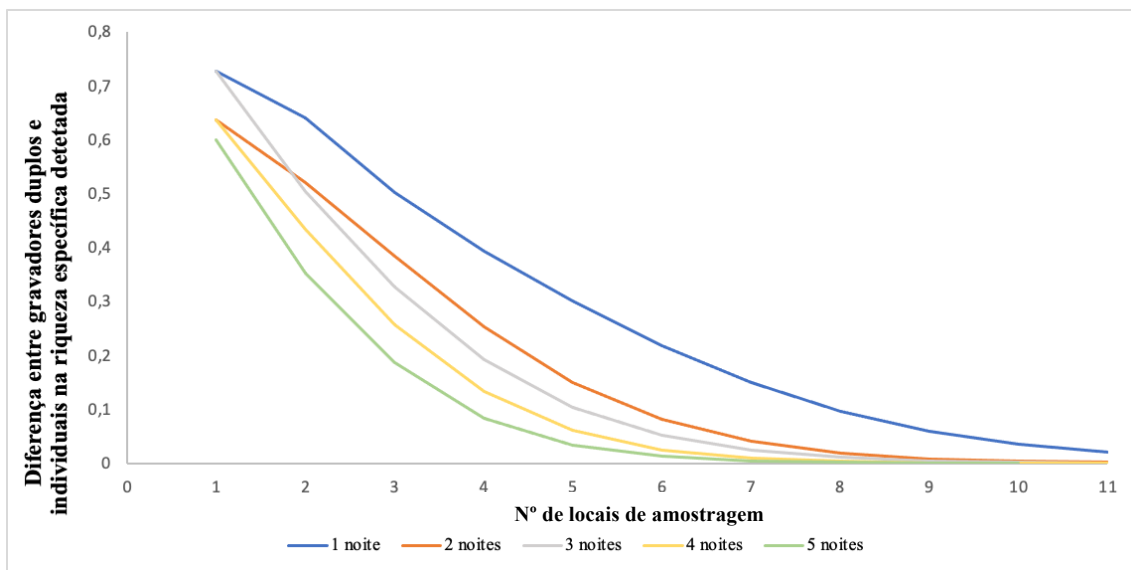
**Tabela 3.3-** Número de passagens registadas por espécie/sonotipo de morcegos.

Nome da espécie/ sonótipo	Nº de passagens
<i>Barbastella barbastellus</i>	69
<i>Myotis sps</i>	343
<i>Nyctalus lasiopterus</i>	76
<i>Nyctalus leisleri</i> / <i>Eptesicus serotinus</i> / <i>Eptesicus isabellinus</i>	4239
<i>Pipistrellus kuhli</i>	25318
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	15696
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>	5477
<i>Plecotus auritus</i> / <i>Plecotus austriacus</i>	32
<i>Tadarida teniotis</i>	304

Os resultados obtidos através da realização das curvas de rarefação do número de espécies em função das estações de gravação, para estações com gravadores duplos vs isolados, sugerem a existência de uma eventual pequena diferença entre estas, ainda que não tenha sido possível demonstrar significância

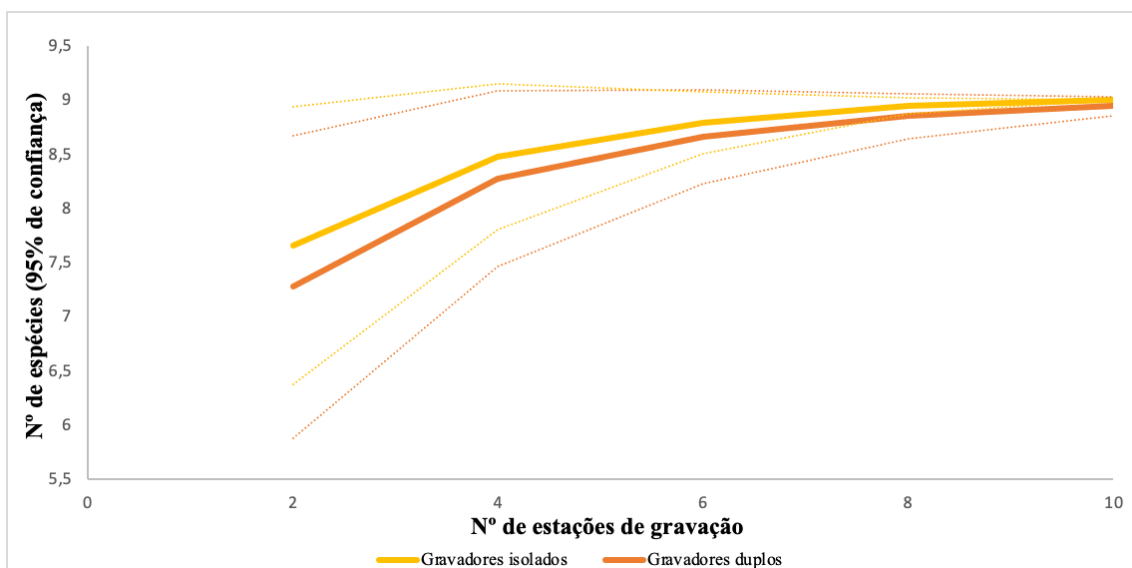
estatística. As estações com gravadores duplos parecem ser ligeiramente superiores relativamente as isoladas na detecção de espécies de morcegos (N=9) (Figura A3, Anexo).

Verificou-se que com menos noites de gravação e menos locais de amostragem, ou seja, com um esforço de amostragem menor, a diferença entre utilizar duas estações com os microfones posicionados em direções opostas e utilizar uma só estação é maior do que com um esforço de amostragem superior. Contudo, esta diferença é reduzida representando em média 0,5 espécies/sonotipos. No entanto, verificou-se, uma tendência para os AM colocados agrupados detetarem maior número de espécies/sonotipos. À medida que o número de noites e locais aumentam as diferenças entre os dois métodos de amostragem testados diminuem, revelando-se praticamente idênticos quando aplicado o máximo esforço de amostragem testado neste estudo. (Figura 3.5 e Figura A3, Anexo).



**Figura 3.5-** Diferença do número de espécies/sonotipos detetadas com gravadores AM colocados aos pares ou individuais, para 1, 2, 3, 4 e 5 noites de amostragem.

Quando o número de estações de gravação é limitado, para um total de 10 gravadores, foi possível observar uma ligeira diferença na detecção de espécies/sonotipos de morcegos (N=9) de acordo com o método de amostragem. Para uma noite de gravação, a colocação de 10 estações isoladas em 10 locais mostrou ser o método com maior desempenho para obter dados de riqueza específica de morcegos, em comparação com a colocação de 10 estações aos pares em cinco locais de amostragem (Figura 3.6). Note-se, no entanto, que esta diferença não pode ser confirmada estatisticamente.



**Figura 3.6-** Curva de rarefação do número de espécies/sonotipos detetadas em função do número de estações, para gravadores colocados aos pares ou isolados. As linhas a ponteadas representam os intervalos de confiança de 95%. Este gráfico contém cinco pontos correspondentes às cinco estações onde se consideram os resultados do par de gravadores e a média dos dois gravadores isolados de cada par.

## 4. Discussão

### 4.1. Estações junto a pontos de água são mais eficientes na inventariação de espécies de morcegos

Os resultados obtidos neste trabalho revelaram que, pelo menos durante o verão, que na região mediterrânica é a estação mais seca, a amostragem em zonas perto de pontos de água foi mais eficaz na deteção da riqueza específica de morcegos de uma área do que a amostragem em locais sem água em zonas de montado. Assim, utilizando uma noite de amostragem, apenas foram necessárias cinco estações colocadas junto a pontos de água para registar 95% das espécies/sonotipos presentes, e no caso das afastadas de zonas de água foram necessárias 13 estações. Isto apesar do número de espécies detetadas nos dois tipos de estação não ter sido, em média, estatisticamente diferente. No entanto, o facto da diferença favorecer sistematicamente a amostragem junto aos pontos de água, independentemente do número de noites utilizado na amostragem, também aponta para uma maior eficiência de amostragem nestes locais.

Como referido anteriormente, é conhecida a preferência dos morcegos insetívoros por certas estruturas do habitat, como zonas com a presença de água, uma vez que os morcegos têm necessidade de beber água com elevada frequência e, ainda, devido à maior abundância de presas nestes locais (Rainho e Palmeirim 2011; Stahlschmidt e Bruhl 2012; Stahlschmidt et al. 2012). Estas preferências podem ter levado às diferenças entre os locais de amostragem obtidas no presente estudo.

Para atingir o número máximo de espécies/sonotipos identificados, desde a primeira à quinta noite, verificou-se que foi sempre suficiente um menor número de estações junto a pontos de água do que o número de estações em locais secos. Para obter o total de riqueza específica a diferença entre o número de estações dos dois locais de amostragem é, geralmente, decrescente ao longo das noites consecutivas de gravação, ou seja, quanto maior este número de noites, menor é a diferença entre o número de estações necessárias para identificar o total de espécies em zonas secas comparativamente aos locais junto de água. No entanto, o esforço de tratamento de dados para atingir o mesmo objetivo é muito maior se forem consideradas só as estações secas em relação às estações em zonas húmidas. Aliás, essa diferença

entre o total de dados obtidos nas zonas secas e os das zonas de água aumenta ao longo das noites de gravação, pelo que se por um lado é necessário um maior número de noites para diminuir a variabilidade, há que ter em conta o custo do tratamento de dados que progressivamente aumenta para as zonas secas em comparação com as zonas de água. Estes resultados são concordantes com os apresentados por Bruckner (2016) que afirmam que a amostragem nos corpos de água permitiu obter maior número de registos de espécies num determinado intervalo de tempo. Deste modo, se o número de gravadores e/ou noites for limitado, poder-se-á maximizar o número de deteções de espécies de morcegos se a amostragem for realizada junto a pontos de água. Além do mais, se o principal objetivo for amostrar o maior número de espécies possível, com elevada confiança, é esperado que o tempo necessário para o conseguir seja inferior junto a pontos de água. Apesar de Bruckner (2016) afirmar que as diferenças encontradas entre habitats secos e com água serem inferiores ao esperado o que poderia justificar o facto de no presente estudo as diferenças não apresentarem significância estatística, Salsamendi et al. (2012) provou que a presença de água é a segunda variável ambiental mais importante para os morcegos na seleção dos locais de procura de alimento em regiões mediterrânicas com a presença de verões quentes e secos e disponibilidade de água sazonal. Este é o caso da amostragem deste trabalho, o que aponta para a necessidade de um estudo mais prolongado no tempo para ser possível comprovar estatisticamente a tendência observada, tal como se verificou para uma amostragem relativa a uma estação de gravação, por exemplo, que exibiu sempre valores de riqueza específica superiores em pontos de água e que necessitou do total de noites do estudo para identificar todas as espécies existentes no local de estudo.

De qualquer forma, a amostragem em locais húmidos pode favorecer a redução de custos de trabalho de campo e de tratamento de dados, conseqüentemente, ser útil para estudos de curto prazo com recursos limitados onde não é possível amostrar locais individuais com elevado número de noites de gravação.

Em conclusão, os resultados sugerem que, numa região ou época seca, a amostragem de comunidades de morcegos utilizando estações acústicas é mais eficiente se as estações forem colocadas junto de pontos de água, sendo estes os locais mais representativos.

#### **4.2. Amostragens com gravadores SM4 parecem ser mais eficazes na deteção de espécies de morcegos**

Os resultados do presente estudo indicam a existência de diferenças, ainda que não estatisticamente significativas, na eficácia de deteção de espécies/sonotipos de morcegos pelos dois equipamentos de gravação acústica testados. Mais especificamente, o gravador *SM4BAT*, de custo elevado, apresentou uma melhor capacidade de deteção do que o gravador *AudioMoth*, de menor valor comercial. A diferença deve-se ao facto deste último não ter detetado o sonotipo *Plecotus auritus/Plecotus austriacus*

As diferenças identificadas na eficiência de deteção dos equipamentos de gravação podem dever-se, principalmente, às especificidades dos microfones. Variações na sensibilidade dos microfones podem produzir diferentes bases de dados (Adams et al. 2012). O gravador acústico AM é constituído por um microfone MEMS (Prince et al. 2019) enquanto o microfone *SMM-U2* do *SM4BAT* apresenta um sensor FG (Bat Detectors UK s.d.; Agranat 2014). O sensor FG possui uma resposta em frequência mais plana, que é importante para se obter uma gravação mais fiel visto que não ocorre aumento nem diminuição de certas frequências no espectro gravado, e geralmente apresentam uma razão sinal/ruído maior comparado com os sensores MEMS (Agranat 2014). Esta razão relaciona o sinal gravado e o ruído eletrónico do dispositivo e é o fator mais importante para a comparação da taxa de deteção das vocalizações de morcegos - quanto menor o ruído mais vocalizações de menor amplitude ou de maior distância vão ser captadas (Agranat 2014), sendo que o microfone *SMM-U2* apresenta esta razão bastante elevada (Wildlife Acoustics s.d.a). As referidas características do microfone *SMM-U2* podem

resultar na deteção de um número maior de espécies de morcegos, concordante com os resultados obtidos neste trabalho. O facto do equipamento AM não ter captado as espécies do género *Plecotus* vai ao encontro do referido anteriormente no que diz respeito à sensibilidade do microfone e capacidade de deteção do mesmo. Tipicamente, os morcegos insetívoros produzem vocalizações de elevada intensidade e baixa frequência, no entanto as espécies do género *Plecotus* ecolocalizam a baixas intensidades e frequências elevadas sendo consideradas “*whispering bats*” (Griffin 1958). Não só a relação sinal/ruído afeta a capacidade de deteção de sinais de baixa intensidade, uma vez que qualquer sinal para ser detetado e discriminado deve ter uma amplitude em dB superior ao nível base de ruído do microfone para a gama de frequências em causa, como o facto do microfone *SMM-U2* do SM4 possuir um diafragma de maiores dimensões, por ser um microfone condensador, permite maior sensibilidade a perturbações sonoras de menor intensidade, como é o caso de sons de menor amplitude (Agranat 2014; Darras et al. 2021). Deste modo, como o gravador AM apresenta uma membrana mais pequena e, conseqüentemente, menos sensível necessita de ondas sonoras mais intensas, acima dos limites de deteção mais elevados que apresenta, para ser capaz de as detetar. Tal pode justificar a falta de dados das espécies *Plecotus*, presentes na área de estudo, obtidos por este equipamento. A colocação dos gravadores AM dentro de caixas, para proteção das condições climáticas, pode também ter contribuído para a diminuição da sensibilidade do microfone.

As diferenças nas taxas de amostragem no processamento de dados dos dois equipamentos de gravação podem estar, de igual modo, relacionadas com as diferenças na deteção de espécies. O gravador acústico SM4 apresenta uma taxa de amostragem no processamento de dados superior ao do *AudioMoth*, 500 kHz e 384 kHz, respetivamente (Wildlife Acoustics s.d.a; Hill et al. 2017). Para ser possível gravar uma frequência em particular, esta taxa de amostragem deve ser pelo menos duas vezes o seu valor (Hill et al. 2019). Assim, o AM apenas deteta espécies de morcegos cuja frequência máxima seja 192 kHz enquanto o SM4 capta frequências até 250 kHz. Esta diferença pode resultar na deteção de menor número de espécies pelo gravador de baixo custo, uma vez que as espécies que ecolocalizam a frequências superiores a 192 kHz apenas vão ser detetadas pelo gravador SM4. No entanto, apenas três das espécies presentes em Portugal ecolocalizam a frequências superiores a 110 kHz, as *Rinolophus hipposideros*, *Myotis emarginatus* e *M. bechsteinii*, razão pela qual a taxa de amostragem na recolha de dados no presente trabalho foi de 256 kHz para os dois tipos de equipamentos, por ser suficiente para as espécies existentes em Portugal (Rainho et al. 2011). Aquelas três espécies não foram detetadas durante a amostragem e, conseqüentemente, a referida diferença não tem relevância neste trabalho, mas deve ser tida em consideração para a escolha do equipamento para determinados estudos. O facto das quatro espécies do género *Rhinolophus*, que ecolocalizam a frequências elevadas, não estarem, aparentemente, presentes na área de estudo ou a sua utilização da área ser tão baixa que não permitiu a deteção pelos equipamentos SM4, constitui uma limitação neste estudo, uma vez que é conhecida a capacidade destes equipamentos as detetarem corretamente (Rainho et al. 2013; Palmeirim com. pess.).

Concretamente, para espécies de morcegos acusticamente conspícuas, e que foram detetadas pelos AM, pode não valer a pena a utilização dos gravadores de custo elevado, permitindo a economia de recursos. Por outro lado, para estudos realizados em locais com a presença de *Plecotus sps.* e de espécies que ecolocalizam a frequências mais elevadas, a utilização de SM4 parece ser mais vantajosa uma vez que a utilização do outro equipamento testado neste estudo pode levar à subestimação da riqueza específica.

Os resultados obtidos, embora não apresentem significância estatística devido à elevada variabilidade dos dados, são consistentes com as conclusões de Fenton (2000) onde se afirma que quando se trata de detetores de morcegos e sistemas de análises, a qualidade dos dados que se obtêm está diretamente relacionada com o seu custo. No entanto, nenhum sistema de gravação é ideal para todas as situações e cabe ao investigador considerar de que forma o desempenho do gravador irá afetar os resultados e as

conclusões do estudo, sendo necessário para cada metodologia ter em consideração as capacidades e limitações do equipamento a utilizar, uma vez que diferentes gravadores poderão levar à obtenção de diferentes resultados, mesmo quando a mesma metodologia é posta em prática (Adams et al. 2012). Apesar de ter sido identificada uma tendência, ainda que não significativa estatisticamente, na deteção do número de espécies superior com gravador SM4 comparado aos AM, é necessário avaliar o custo-benefício da utilização de cada gravador. O equipamento SM4 pode, realmente, apresentar melhor capacidade de deteção da riqueza específica de morcegos, no entanto o seu elevado custo poderá limitar a aquisição de aparelhos suficientes para a amostragem a realizar. Deste modo, a escolha do gravador AM deve ser tomada em conta se o benefício que se obtém ao dispor de maior número de equipamentos e, conseqüentemente, abranger uma maior área e número de locais amostrados, compensar a menor sensibilidade do gravador.

### **4.3. Amostragens com estações de gravação AM duplas podem não compensar o esforço adicional**

Neste estudo foi possível constatar, através dos resultados obtidos, que a utilização de um gravador AM extra por estação de amostragem permitiu detetar um valor ligeiramente superior (0,5 espécies/sonotipos, em média) no que se refere à riqueza específica de morcegos, mas somente se considerarmos um reduzido número de locais e noites de amostragem. Para além disso, para uma amostragem com um número limitado de gravadores, verificou-se que gravadores colocados isoladamente apresentam melhor desempenho na deteção de espécies/sonotipos de morcegos em comparação com a utilização do mesmo número de estações de gravação em metade dos locais.

As diferenças encontradas entre o número de AM colocados por estação, quando o esforço de amostragem foi reduzido, podem dever-se ao cone de deteção dos microfones omnidirecionais dos AM, que tendem a ter um alcance superior, mas maior ruído do que os microfones direcionais, e ao facto de, apesar da sua omnidirecionalidade, serem menos sensíveis aos sons produzidos do lado oposto ao do microfone (Limpens e McCracken 2004). Assim, a colocação de um segundo gravador com o microfone voltado para o lado oposto do primeiro permite detetar melhor os animais que passam desse lado e pode ter contribuído para resultados de riqueza específica superiores nas primeiras noites de gravações, considerando um número reduzido de estações. À medida que se aumenta o número de noites de gravação a diferença esbate-se produzindo resultados semelhantes e indicando que o aumento do cone de deteção perde a relevância na deteção de espécies dos animais em estudo. Verificou-se que apesar de relevante a diferença da utilização de um segundo detetor por local de amostragem, quando estes são em número reduzido, a sua contribuição não apresentou significância estatística tal como no trabalho de Duchamp et al. (2006).

Quando o número de estações de gravação é um fator limitante os resultados mostraram que amostragens com uma só estação por local permitem identificar um maior número de espécies por duplicar a área amostrada. De facto, diversos autores afirmam que quanto maior for a área estudada e, conseqüentemente, maior variabilidade nas estruturas do habitat amostrados permitindo garantir a heterogeneidade espacial, maior a probabilidade de deteção das espécies aí existentes e maior fiabilidade dos resultados (Fischer et al. 2009; Stahlschmidt e Bruhl 2012; Law et al. 2015).

Por fim, os resultados deste trabalho indicam que apenas se justificaria a colocação de um gravador extra por local e, conseqüente aumento do esforço de tratamento de dados e custo monetário, se o número de locais possíveis de amostrar fosse reduzido e o número de equipamentos de gravação acústico não fosse uma limitação. No entanto, deve ser ponderada a razão custo-benefício da utilização de dois gravadores por local pois a diferença nos resultados é pouco relevante indicando que a utilização desta estratégia pode não compensar o esforço global, pois apesar da colocação de um segundo gravador no terreno ser

aparentemente uma tarefa acessível, a análise e tratamento dos sons gravados aumenta substancialmente o esforço.

## 5. Considerações finais

Os programas de monitorização de comunidades de morcegos são fundamentais para a sua conservação principalmente tendo em conta o nível de ameaças a que estão sujeitas, tanto por fatores antropogénicos diretos como pelas alterações climáticas. A riqueza específica é amplamente utilizada para estudos de avaliação da biodiversidade em programas de monitorização pelo que é fundamental estabelecer as metodologias de amostragem que permitam reduzir esforço e custos sem comprometer a qualidade dos resultados.

Pretendeu-se, assim, avaliar se a informação obtida monitorizando um menor número de locais junto a pontos de água comparativamente a uma maior área estudada em locais sem água, durante a estação de menor disponibilidade de água, era representativa. Conclui-se ser mais eficaz a amostragem em locais junto a corpos de água observando-se uma tendência biológica clara para a utilização destas estruturas do habitat pelas espécies de morcegos da área estudada.

Por outro lado, tendo em conta a necessidade de aumentar os locais de estudo, a utilização de estações acústicas de maior custo económico pode ser um impedimento enquanto equipamentos menos onerosos podem permitir a realização da amostragem necessária. Verificou-se neste estudo que o gravador *SM4BAT*, de custo elevado, apresentou uma melhor capacidade de deteção de espécies do que o gravador *AudioMoth*, de menor custo, embora a diferença nos resultados não seja estatisticamente significativa. O gravador AM deve por isso ser considerado de modo a poder abranger um maior número de locais amostrados, compensando a perda de sensibilidade, quando existem limitações financeiras.

Para validar os dados obtidos com gravadores AM estudou-se o eventual ganho em colocar um aparelho extra por local de amostragem na deteção da riqueza específica de morcegos devido aos microfones omnidirecionais, de menor alcance, que estes equipamentos possuem. Os resultados deste trabalho indicaram que só se justifica a colocação de dois gravadores por local se o número de locais disponíveis para a amostragem for reduzido e o número destes equipamentos não for limitado.

Os resultados da questão deste trabalho que pretende comparar a eficácia na deteção de espécies de morcegos entre gravadores SM4 e AM permitiu verificar que a informação fornecida pelos dados obtidos com os gravadores AM é comparável à obtida pelos equipamentos SM4, apesar das diferenças sem significância estatística. Esta constatação valida não só os resultados da questão que compara a amostragem em locais com água com locais sem a presença desta, conferindo-lhes credibilidade, como permite escolher metodologias que incluam estes aparelhos sempre que forem necessárias monitorizações em áreas de elevada extensão.

Como perspetivas futuras de continuação deste estudo, importa prosseguir os estudos com o recente equipamento *SM4BAT* com o microfone *SMM-U2* devido à escassez de dados disponíveis na bibliografia, realizando uma amostragem com maior número de noites e estações de gravação, o que permitirá reduzir a presente variabilidade dos dados. Estudos de resolução, limites de deteção do equipamento e amostragens em locais com a presença de espécies com vocalizações de elevadas frequências, como *Rhinolophus sps.*, são muito importantes, bem como de reprodutibilidade das medidas das frequências emitidas pelas espécies presentes na área de estudo. Quanto às respostas que foi possível obter às três questões colocadas, todas carecem de dados suficientes para comprovar estatisticamente as tendências observadas, devido à elevada variabilidade deste tipo de estudos

ecológicos. Assim, também nestes casos, deverão ser levadas a cabo campanhas de monitorização com maior número de estações e aumentando o período de tempo das amostragens de modo a contribuir com dados de maior fiabilidade para as futuras tomadas de decisão nos estudos de conservação das espécies de morcegos.

## 6. Referências Bibliográficas \*

- Adams AM, Jantzen MK, Hamilton RM, Fenton MB. 2012. Do you hear what I hear? Implications of detector selection for acoustic monitoring of bats. *Methods in Ecology and Evolution* **3**:992-998.
- Agranat I. 2014. Detecting bats with ultrasonic microphones: Understanding the effects of microphone variance and placement on detection rates. *Wildlife Acoustics Inc.*, Maynard, MA.
- Aide TM, Corrada-Bravo C, Campos-Cerqueira M, Milan C, Vega G, Alvarez R. 2013. Real-time bioacoustics monitoring and automated species identification. *PeerJ* **1**:e103.
- Austin MP. 2002. Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modelling. *Ecological Modelling* **157**:101–118.
- Barataud M. 2015. Acoustic ecology of European bats. Species, identification, study of their habitats and foraging behaviour. *Biotope, Mèze, FR*.
- Barré K, Le Viol I, Julliard R, Pauwels J. 2019. Accounting for automated identification errors in acoustic surveys. *Methods in Ecology and Evolution* **10**:1171-1188.
- Bat Detectors UK. s.d. The Wildlife Acoustics SM4BAT FS. Bat Detectors UK. Disponível em <https://batdetectors.uk/SM4BATfs> (acedido a 8 de janeiro, 2021).
- Baumgartner MF, Fratantoni DM, Hurst TP, Brown MW, Cole TV, Van Parijs SM, Johnson M. 2013. Real-time reporting of baleen whale passive acoustic detections from ocean gliders. *The Journal of the Acoustical Society of America* **134**:1814-1823.
- Blumstein DT, Mennill DJ, Clemins P, Girod L, Yao K, Patricelli G, Hanser SF. 2011. Acoustic monitoring in terrestrial environments using microphone arrays: applications, technological considerations and prospectus. *Journal of Applied Ecology* **48**:758-767.
- Boyles JG, Cryan PM, McCracken GF, Kunz TH. 2011. Economic importance of bats in agriculture. *Science* **332**:41-42.
- Britzke ER, Slack BA, Armstrong MP, Loeb SC. 2010. Effects of orientation and weatherproofing on the detection of bat echolocation calls. *Journal of Fish and Wildlife Management* **1**:136–141.
- Brooks RT. 2009. Habitat-associated and temporal patterns of a bat activity in a diverse forest landscape of southern New England, USA. *Biodiversity and Conservation* **18**:529- 545.
- Bruckner A. 2016. Recording at water bodies increases the efficiency of a survey of temperate bats with stationary, automated detectors. *Mammalia* **80**:645-653.

---

\* De acordo com a formatação de *Conservation Biology Journal*

- Cardinale BJ, Duffy E, Gonzalez A, Hooper DH. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **486**:59–67.
- Chesmore ED, Ohya E. 2004. Automated identification of field-recorded songs of four British grasshoppers using bioacoustic signal recognition. *Bulletin of Entomological Research* **94**:319–330.
- Companhia das Lezírias. 2016. Resumo do Plano de Gestão Florestal. Companhia das Lezírias, S.A., Vila Franca de Xira.
- Companhia das Lezírias. s.d. A CL. Companhia das Lezírias. Disponível em <https://www.cl.pt/a-cl> (acedido a 30 de dezembro, 2020).
- Darras K, Kolbrek B, Knorr A, Meyer V. 2021. Assembling cheap, high-performance microphones for recording terrestrial wildlife: the Sonitor system. *F1000Research* **7**:1984.
- Downs NC, Racey PA. 2006. The use by bats of habitat features in mixed farmland in Scotland. *Acta Chiropterologica* **8**:169–185.
- Duchamp JE, Yates M, Muzika RM, Swihart K. 2006. Estimating probabilities of detection for bat echolocation calls: an application of the double-observer method. *Wildlife Society Bulletin* **34**:408–412.
- Erickson JL, West SD. 2002. The influence of regional climate and nightly weather conditions on activity patterns of insectivorous bats. *Acta Chiropterologica* **4**:17–24.
- Farina A, Gage SH. 2017. *Ecoacoustics: The ecological role of sounds*. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, UK.
- Fenton MB. 2000. Choosing the correct bat detector. *Acta Chiropterologica* **2**:215–224.
- Fischer J, Stott J, Law BS, Adams MD, Forrester RI. 2009. Designing effective habitat studies: quantifying multiple sources of variability in bat activity. *Acta Chiropterologica* **11**:27–137.
- Fukui DAI, Murakami M, Nakano S, Aoi T. 2006. Effect of emergent aquatic insects on bat foraging in a riparian forest. *Journal of Animal Ecology* **75**:1252–1258.
- Gannon WL, O'Farrel MJ, Corben C, Bedrick EJ. 2004. Call character lexicon and analysis of field recorded bat echolocation calls. Páginas 478–483 em JA Thomas, CF Moss e M Vater, editores. *Echolocation in bats and dolphins*. University of Chicago Press, Chicago, EUA.
- Gibb R, Browning E, Glover-Kapfer P, Jones KE. 2018. Emerging opportunities and challenges for passive acoustics in ecological assessment and monitoring. *Methods in Ecology and Evolution* **10**:169–185.
- Gibb R, Browning E, Glover-Kapfer P, Jones KE. 2019. Emerging opportunities and challenges for passive acoustics in ecological assessment and monitoring. *Methods in Ecology and Evolution* **10**:169–185.

- Gorresen PM, Miles AC, Todd CM, Bonaccorso FJ, Weller TJ. 2008. Assessing bat detectability and occupancy with multiple automated echolocation detectors. *Journal of Mammalogy* **89**:11-17.
- Graves RA, Pearson SM, Turner MG. 2017. Species richness alone does not predict cultural ecosystem service value. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **114**:3774-3779.
- Griffin DR. 1958. *Listening in the Dark*. Yale University Press, New Haven, Connecticut.
- Guillera-Arroita G, Lahoz-Monfort JJ. 2012. Designing studies to detect differences in species occupancy: power analysis under imperfect detection. *Methods in Ecology and Evolution* **3**:860-869.
- Hagen EM, Sabo JL. 2011. A landscape perspective on bat foraging ecology along rivers: does channel confinement and insect availability influence the response of bats to aquatic resources in riverine landscapes? *Oecologia* **166**:751-760.
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* **4**:9.
- Hill AP, Prince P, Piña Covarrubias E, Doncaster CP, Snaddon JL, Rogers A. 2017. AudioMoth: Evaluation of a smart open acoustic device for monitoring biodiversity and the environment. *Methods in Ecology and Evolution* **9**:1199-1211.
- Hill AP, Prince P, Snaddon JL, Doncaster CP, Rogers A. 2019. AudioMoth: A low-cost acoustic device for monitoring biodiversity and the environment. *HardwareX* **6**:e00073.
- Huang CJ, Yang YJ, Yang DX, Chen YJ. 2009. Frog classification using machine learning techniques. *Expert Systems with Applications* **36**:3737-3743.
- IUCN 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Disponible em: <https://www.iucnredlist.org/search/stats?query=bats&searchType=species> (accedido a 30 de agosto, 2021)
- Jones G. 2005. Echolocation. *Current Biology* **15**:R484-R488.
- Jones G, Jacobs DS, Kunz TH, Willig MR, Racey PA. 2009. Carpe noctem: the importance of bats as bioindicators. *Endangered Species Research* **8**:93-115.
- Kaiser ZD, O'Keefe JM. 2015. Data acquisition varies by bat phonic group for 2 types of bat detectors when weatherproofed and paired in field settings. *Wildlife Society Bulletin* **39**:635-644.
- Kéry M, Royle JA. 2008. Hierarchical Bayes estimation of species richness and occupancy in spatially replicated surveys. *Journal of Applied Ecology* **45**:589-598.
- Law B, Gonsalves L, Tap P, Penman T. 2015. Optimizing ultrasonic sampling effort for monitoring forest bats. *Austral Ecology* **40**:886-897.
- Limpens HJGA, McCracken. 2004. Choosing a bat detector: theoretical and practical aspects. Pages 28-37 in Brigham RM, Kalko EKV, Jones G, Parsons S, editors. *Bat echolocation research: tools, techniques and analysis*. Bat Conservation International, Austin, Texas.

- MacSwiney G MC, Clarke FM, Racey PA. 2008. What you see is not what you get: the role of ultrasonic detectors in increasing inventory completeness in Neotropical bat assemblages. *Journal of Applied Ecology* **45**:1364-1371.
- Marques JT, Rainho A. 2006. GAPS - Gestão Activa e Participada do Sítio de Monfurado - Relatório Técnico e Financeiro Final. CMMN, ICNF, Lisboa, PT.
- McCluney KE, Sabo JL. 2009. Water availability directly determines per capita consumption at two trophic levels. *Ecology* **90**:1463-1469.
- McGregor PK. 2005. *Animal communication networks*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Meyer CF, Aguiar LM, Aguirre LF, Baumgarten J. 2011. Accounting for detectability improves estimates of species richness in tropical bat surveys. *Journal of Applied Ecology* **48**:777-787.
- Milne DJ, Fisher A, Rainey I, Pavey CR. 2005. Temporal patterns of bats in the top end of the Northern Territory, Australia. *Journal of Mammalogy* **86**:909-920.
- Moreno CE, Halfpter G. 2000. Assessing the completeness of bat biodiversity inventories using species accumulation curves. *Journal of Applied ecology* **37**:149-158.
- Moss CF, Schnitzler HU. 1995. Behavioral studies of auditory information processing. *Hearing by bats* **5**:87-145.
- Murray K, Britzke E, Hadley B, Robbins L. 1999. Surveying bat communities: a comparison between mist nets and the Anabat II bat detector system. *Acta Chiropterologica*, **1**:105–112.
- Murray KL, Fraser E, Davy C, Fleming TH, Fenton MB. 2009. Characterization of the echolocation calls of bats from Exuma, Bahamas. *Acta Chiropterologica* **11**:415-424.
- Newson SE, Bas Y, Murray A, Gillings S. 2017. Potential for coupling the monitoring of bush-crickets with established large-scale acoustic monitoring of bats. *Methods in Ecology and Evolution* **8**:1051-1062.
- Norberg UM, Rayner JM. 1987. Ecological morphology and flight in bats (Mammalia; Chiroptera): wing adaptations, flight performance, foraging strategy and echolocation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences* **316**:335-427.
- O'Donnell CF. 2000. Conservation status and causes of decline of the threatened New Zealand Long-tailed Bat *Chalinolobus tuberculatus* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Mammal Review* **30**:89-106.
- Ochoa J, O'Farrell MJ, Miller BW. 2000. Contribution of acoustic methods to the study of insectivorous bat diversity in protected areas from northern Venezuela. *Acta Chiropterologica* **2**:171-183.
- O'Farrell MJ, Miller BW, Gannon WL. 1999. Qualitative identification of free-flying bats using the Anabat detector. *Journal of Mammalogy* **80**:11–23.
- Obrist MK, Boesch R, Flückiger PF. 2004. Variability in echolocation call design of 26 Swiss bat species: consequences, limits and options for automated field identification with a synergetic pattern recognition approach. *Mammalia* **68**:307-322.

- Obrist MK, Rathey E, Bontadina F, Martinoli A, Conedera M, Christe P, Moretti M. 2011. Response of bat species to sylvo-pastoral abandonment. *Forest Ecology and Management* **261**:789-798.
- Parsons S. 1996. A comparison of the performance of a brand of broad-band and several brands of narrow-band bat detectors in two different habitat types. *Bioacoustics* **7**:3343.
- Pettit TW, Wilkins KT. 2012. Canopy and edge activity of bats in a quaking aspen (*Populus tremuloides*) forest. *Canadian Journal of Zoology* **90**:798-807.
- Pimm SL, Alibhai S, Bergl R, Dehgan A, Giri C, Jewell Z, Joppa L, Kays R, Loarie S. 2015. Emerging technologies to conserve biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution* **30**:685–696.
- Prince P, Hill A, Piña Covarrubias E, Doncaster P, Snaddon JL, Rogers A. 2019. Deploying acoustic detection algorithms on low-cost, open-source acoustic sensors for environmental monitoring. *Sensors* **19**:553.
- Purvis A, Hector A. 2000. Getting the measure of biodiversity. *Nature* **405**:212-219.
- Rainho A, Augusto AM, Palmeirim JM. 2010. Influence of vegetation clutter on the capacity of ground foraging bats to capture prey. *Journal of Applied Ecology* **47**:850-858.
- Rainho A, Amorim F, Marques T, Alves P, Rebelo H. 2011. Chave de identificação de vocalizações dos morcegos de Portugal continental. ICNB, CIBIO, CBA, Plecotus, Lisboa, PT.
- Rainho A, Palmeirim JM. 2011. The importance of distance to resources in the spatial modelling of bat foraging habitat. *PloS one* **6**:e19227.
- Rainho A, Alves P, Amorim F, Marques JT, editors. 2013. Atlas dos morcegos: de Portugal continental. Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, Lisboa, PT.
- Ratcliffe JM, Jakonsen L. 2018. Don't believe the mike: behavioural, directional, and environmental impacts on recorded bat echolocation call measures. *Canadian Journal of Zoology* **96**:283–288.
- Richardson SM, Lintott PR, Hosken DJ, Mathews F. 2019. An evidence-based approach to specifying survey effort in ecological assessments of bat activity. *Biology Conservation* **231**:98–102.
- Russo D, Jones G. 2003. Use of foraging habitats by bats in a Mediterranean area determined by acoustic surveys: Conservation implications. *Ecography* **26**:197–209.
- Salsamendi E, Arostegui I, Aihartza J, Almenar D, Goiti U, Garin I. 2012. Foraging ecology in Mehely's horseshoe bats: influence of habitat structure and water availability. *Acta Chiropterologica* **14**:121–132.
- Schnitzler HU, Kalko EK. 2001. Echolocation by insect-eating bats: we define four distinct functional groups of bats and find differences in signal structure that correlate with the typical echolocation tasks faced by each group. *Bioscience* **51**:557-569.
- Schnitzler HU, Moss CF, Denzinger A. 2003. From spatial orientation to food acquisition in echolocating bats. *Trends in Ecology & Evolution* **18**:386-394.
- Servick K. 2014. Eavesdropping on ecosystems. *Science* **343**:834–837.

- Simmons NB. 2005. Order chiroptera. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference **1**:312-529.
- Skalak SL, Sherwin RE, Brigham RM. 2012. Sampling period, size and duration influence measures of bat species richness from acoustic surveys. *Methods in Ecology and Evolution* **3**:490-502.
- Sleep DJ, Brigham RM. 2003. An experimental test of clutter tolerance in bats. *Journal of Mammalogy* **84**:216-224.
- Stahlschmidt P, Brühl CA. 2012. Bats as bioindicators – the need of a standardized method for acoustic bat activity surveys. *Methods in Ecology and Evolution* **3**:503–508.
- Stahlschmidt P, Pätzold A, Ressler L, Schulz R, Bruhl CA. 2012. Constructed wetlands support bats in agricultural landscapes. *Basic and Applied Ecology* **13**:196–203.
- Staton T, Poulton S. 2012. Seasonal variation in bat activity in relation to detector height: a case study. *Acta Chiropterologica* **14**:401–408.
- Teeling EC. 2009. Bats (Chiroptera). Pages 499-503 in Hedges SB, Kumar S, Editors. *The Timetree of Life*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Voigt CC, Kingston T. 2016. *Bats in the Anthropocene: conservation of bats in a changing world*. Springer Nature, Cham, Switzerland.
- Walsh AL, Harris S. 1996. Foraging habitat preferences of vespertilionid bats in Britain. *Journal of Applied Ecology* **33**: 508-518.
- Waters DA, Walsh AL. 1994. The influence of bat detector brand on the quantitative estimation of bat activity. *Bioacoustics* **5**:205-221.
- Weller TJ, Zabel CJ. 2002. Variation in bat detections due to detector orientation in a forest. *Wildlife Society Bulletin* **30**:922–930.
- Weller TJ. 2008. Using occupancy estimation to assess the effectiveness of a regional multiple-species conservation plan: bats in the Pacific Northwest. *Biological Conservation* **141**:2279-2289.
- Wenninger EJ, Inouye RS. 2008. Insect community response to plant diversity and productivity in a sagebrush–steppe ecosystem. *Journal of Arid Environments* **72**:24-33.
- Wickramasinghe LP, Harris S, Jones G, Jennings NV. 2004. Abundance and species richness of nocturnal insects on organic and conventional farms: and effects agricultural intensification on bat foraging. *Conservation Biology* **18**:1283–1292.
- Wildlife Acoustics. s.d.a Song Meter SM4BAT FS Ultrasonic Recorder. Wildlife Acoustics. Disponível em <https://www.wildlifeacoustics.com/products/song-meter-SM4BAT> (acedido a 30 de dezembro, 2020).
- Wildlife Acoustics. s.d.b Kaleidoscope Pro Analysis Software. Wildlife Acoustics. Disponível em <https://www.wildlifeacoustics.com/products/kaleidoscope-pro> (acedido a 2 de janeiro, 2021).

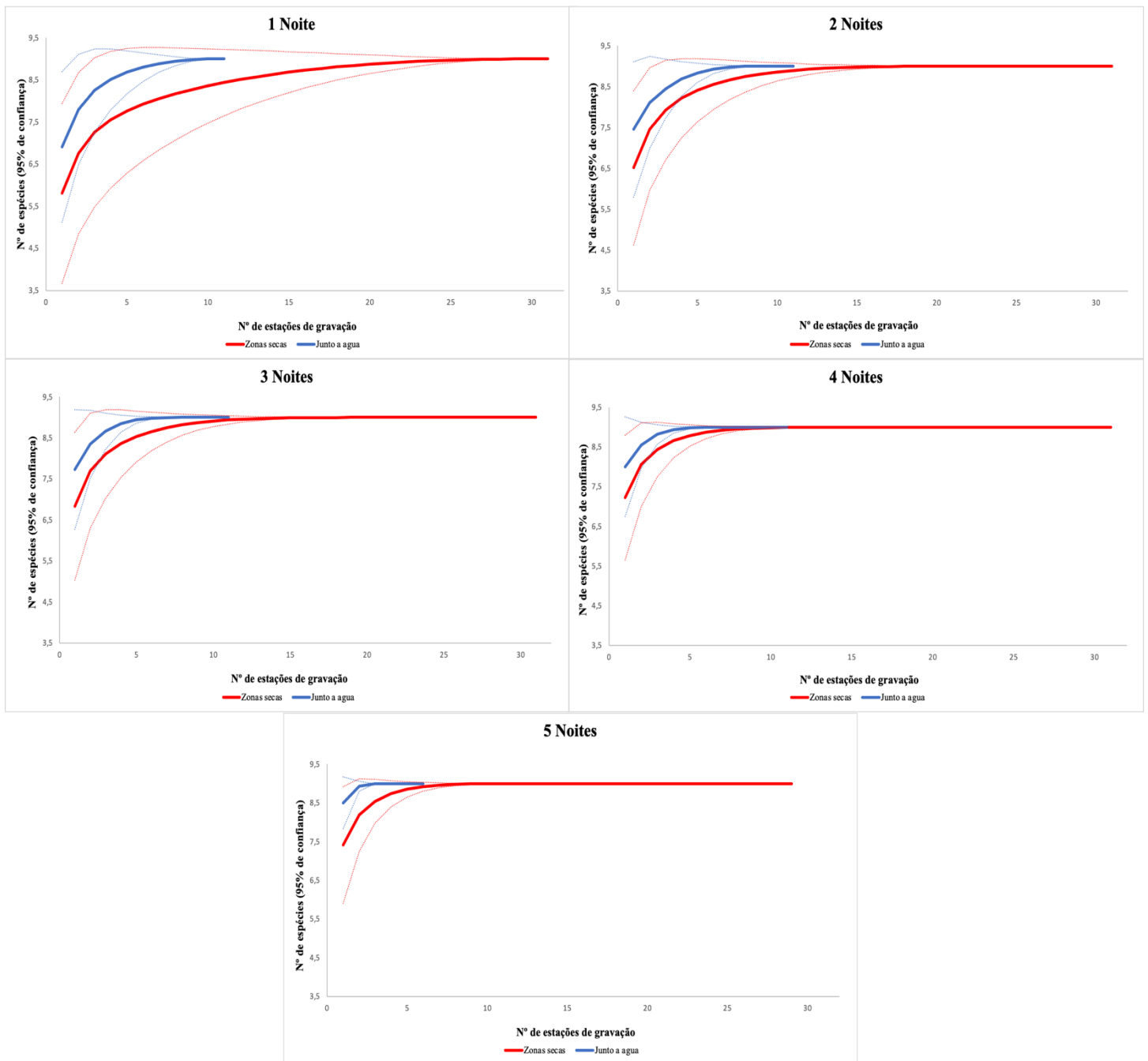
Wilkins MR, Seddon N, Safran RJ. 2013. Evolutionary divergence in acoustic signals: Causes and consequences. *Trends in Ecology and Evolution* **28**:156–166.

Wimmer J, Towsey M, Roe P, Williamson I. 2013. Sampling environmental acoustic recordings to determine bird species richness. *Ecological Applications* **23**:1419-1428.

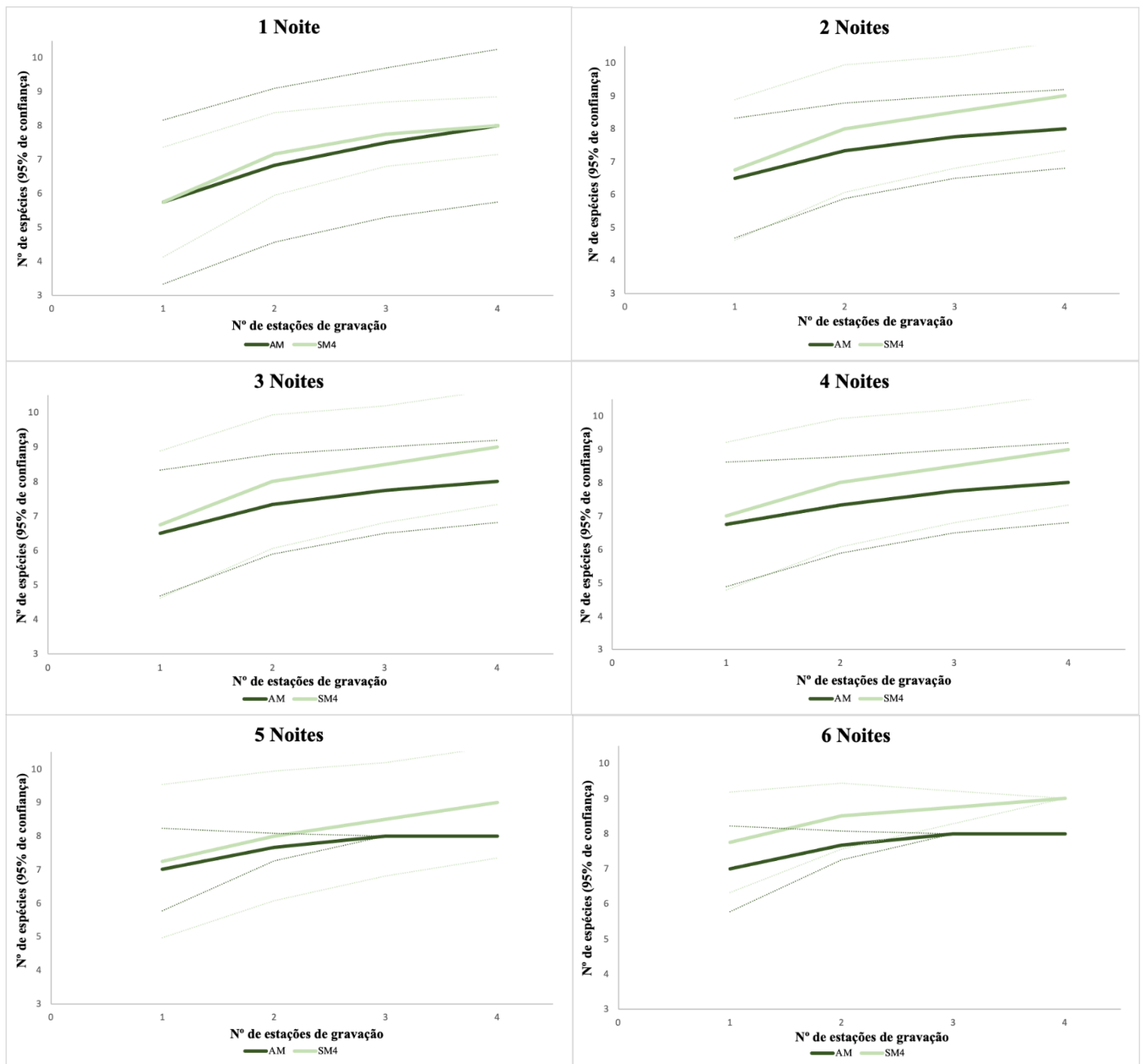
Wrege PH, Rowland ED, Keen S, Shiu Y. 2017. Acoustic monitoring for conservation in tropical forests: examples from forest elephants. *Methods in Ecology and Evolution* **8**:1292-1301.

Yoccoz NG, Nichols JD, Boulinier T. 2001. Monitoring of biological diversity in space and time. *Trends in Ecology & Evolution* **16**:446-453.

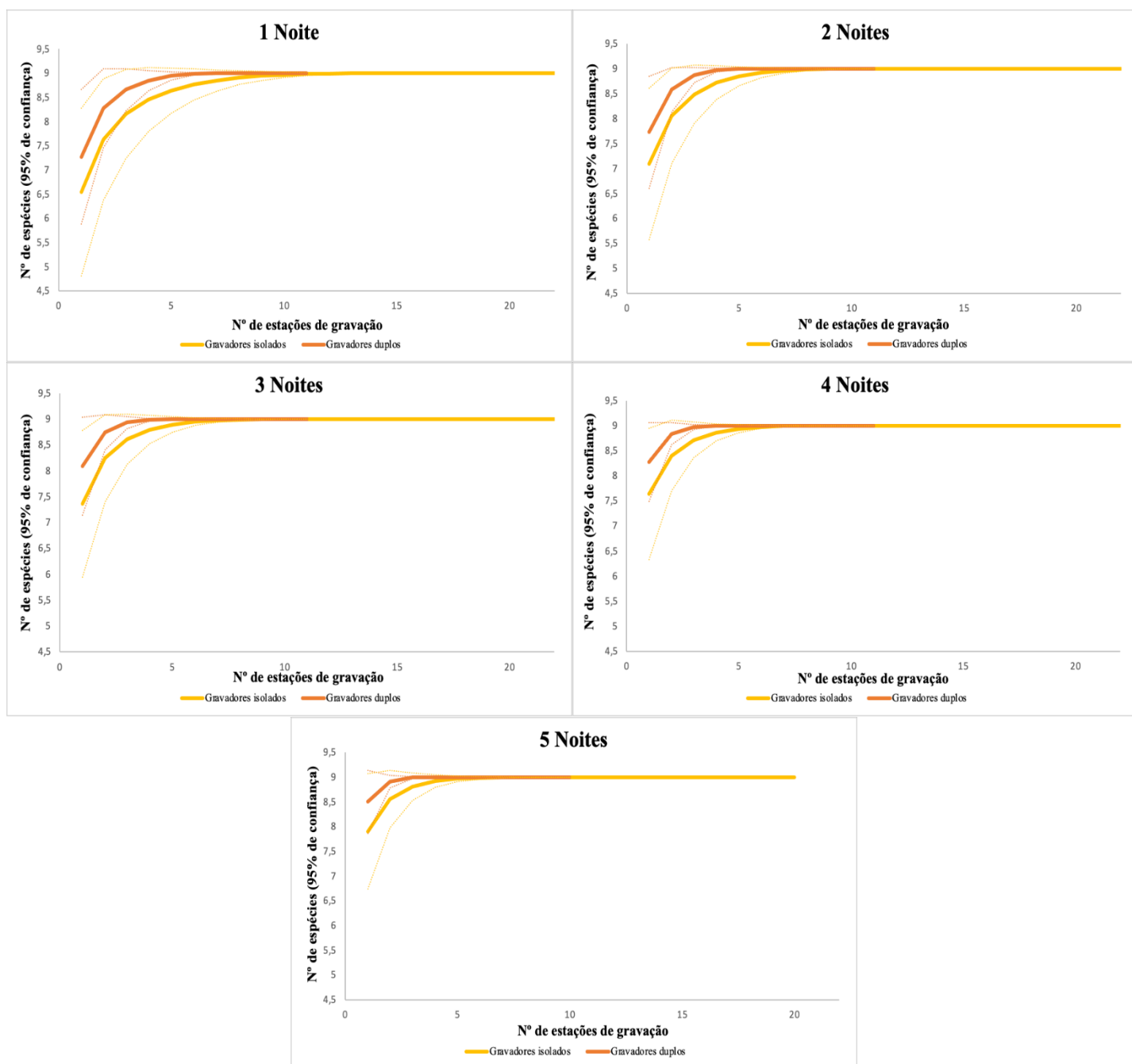
## 7. Anexo



**Figura A1-** Curvas de rarefação do número de espécies/sonotipos detetadas em função do número de estações de gravação, para gravadores colocados junto a pontos de água ou em zonas secas, para 1, 2, 3, 4 e 5 noites. As linhas a pontado representam os intervalos de 95% de confiança.



**Figura A2-** Curvas de rarefação do número de espécies/sonotipos detetadas em função do número de estações de gravação, para gravadores AM e SM4, para 1, 2, 3, 4, 5 e 6 noites. As linhas a ponteadas representam os intervalos de 95% de confiança.



**Figura A3-** Curvas de rarefação do número de espécies/sonotipos detetadas em função do número de gravadores, para gravadores colocados isolados e aos pares, para 1, 2, 3, 4 e 5 noites. As linhas a ponteadas representam os intervalos de 95% de confiança.