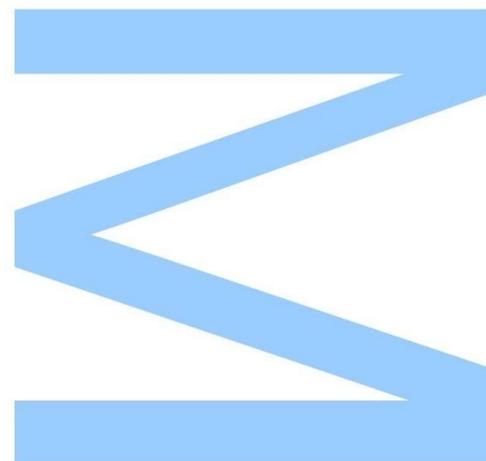


Os mamíferos do Rio Febras: situação atual e medidas de conservação das espécies vulneráveis



Bruna Filipa Silva Oliveira

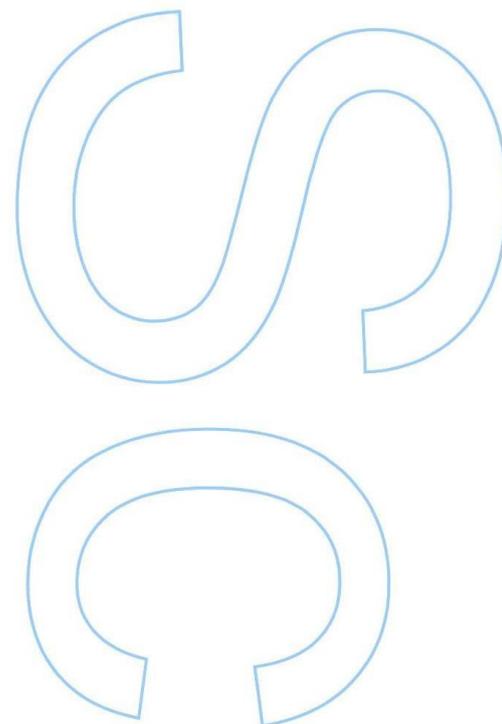
Mestrado em Ecologia e Ambiente

Departamento de Biologia 2018/2019

Orientadores

Joana Maria Jorge Pereira de Castro Paupério, Investigadora de Pós-Doutoramento no CIBIO-InBIO (Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos)

Paulo Célio Pereira Martins Alves, Professor Associado, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto e Investigador no CIBIO-InBIO (Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos)

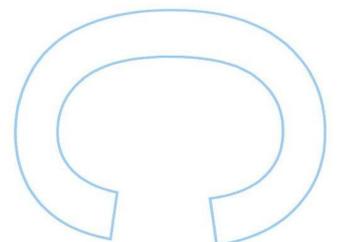
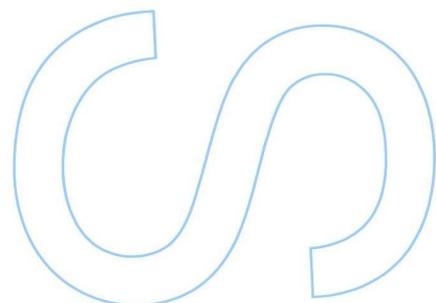
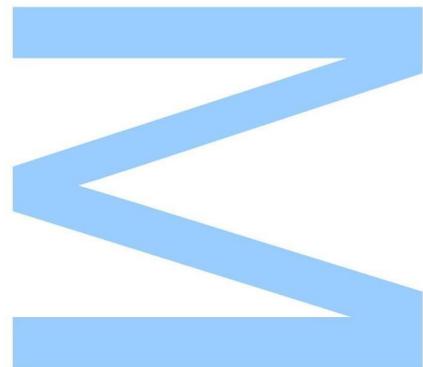




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Agradecimentos

Antes de tudo e todos, agradeço à minha mãe por sempre me ter dado todas as condições e apoio que permitiram que eu realizasse um dos meus grandes objetivos de vida, concluindo um curso na área que desde sempre me imaginei a trabalhar. Por me ter ensinado a ser autónoma e a lutar pelo que quero.

À Joana Paupério, por ter aceite orientar-me neste projeto e por me ter introduzido ao mundo da investigação científica permitindo que tivesse ainda mais a certeza de que este é o caminho que eu quero percorrer. Por me ter feito apaixonar pelos ratinhos. Ao Professor Paulo Célio Alves pela sugestão de tema, pela disponibilidade de recursos e pela simpatia.

À Inês Freitas, pela ajuda no tratamento das amostras no laboratório e por toda a disponibilidade.

Ao Dr. Henrique Nepomuceno, à Dra Vanessa Soeiro e ao Hugo Oliveira, por toda a disponibilidade de tempo e recursos, por terem-me acolhido tão bem no Parque Biológico de Gaia e por terem mostrado sempre uma simpatia inqualificável.

Ao Vasco, por me ter acompanhado no trabalho de campo incessantemente, ao sol e à chuva, por partilhar comigo esta aventura. Parte desta tese deve-se a ele.

A todos os professores do Mestrado em Ecologia e Ambiente, pela acessibilidade e simpatia que sempre mostraram ao longo destes dois anos, pela preocupação com o estado de desenvolvimento deste trabalho. Um especial agradecimento ao Professor Nuno Formigo, por tudo.

E porque este é o culminar da minha vida académica, não podia deixar de agradecer à família de coração que me acolheu no Porto. À Lara, à Maria, à Neia, à Pinga e à Marisa, ao Rui e ao Toni, à Cátia, à Fujitsu e ao Link, por me terem acompanhado nestes que foram os melhores anos da minha vida, muito graças a eles.

Ao Gonçalo, por me ter acompanhado no trabalho de campo quando estava em risco de me aventurar sozinha, e ao Bernardo. Obrigada por serem os melhores afilhados.

Ao Zé, por me ter acompanhado em saídas de campo, à Rita, ao Paulo, ao Chico e ao Ivo, por serem o melhor grupo de amigos que eu podia ter encontrado no mestrado. Por todo o apoio, suporte e por me levantarem sempre a moral e me fazerem

acreditar em mim mesma. Por serem as pessoas mais livres de preconceitos, as mais desinibidas. Sem eles isto teria sido muito mais complicado e monótono.

Por último, ao Jota, por me ter aguentado nos meus dias maus. Por me ter ajudado em tudo e mais alguma coisa neste trabalho, por me ter acompanhado no trabalho de campo e por ajudar com os mil e quinhentos problemas informáticos que enfrentei. Pelo apoio incondicional, companheirismo e por todo o amor demonstrado durante todos estes anos.

Resumo

Os ecossistemas fluviais são um dos mais importantes hotspots de biodiversidade a nível mundial, albergando cerca de 9,5% de todas as espécies descritas na atualidade e cerca de um terço de todas as espécies de vertebrados. No entanto, são um dos ecossistemas mais ameaçados pela intervenção antropogénica pondo em risco a sua integridade e a sobrevivência das espécies a eles associadas.

O Rio Febros é um dos afluentes do Rio Douro e corre inteiramente no concelho de Vila Nova de Gaia. De forma a conhecer a comunidade de pequenos mamíferos associados a este ecossistema fluvial, foram selecionados nove pontos de amostragem ao longo da sua extensão, sendo dois deles dentro do Parque Biológico de Gaia. Nestes pontos foram utilizadas diferentes metodologias de estudo, nomeadamente armadilhagem de animais vivos, *camera trapping* com câmaras sensíveis ao movimento, *hair trapping* com tubos de PVC de diferentes diâmetros adaptados com fita adesiva e prospeção de indícios de presença. A armadilhagem foi o método que produziu maior quantidade de informação: no total foram capturados 80 indivíduos de seis espécies diferentes (um insectívoro e cinco roedores). O pequeno mamífero mais capturado foi o *Apodemus sylvaticus*, correspondendo a 72,5% das capturas. As restantes metodologias aplicadas permitiram confirmar a distribuição e diversidade de espécies detetada através do método de armadilhagem e detectar a presença de lontra.

Apesar do esforço de amostragem e das diferentes metodologias aplicadas, não foi possível confirmar a presença de *Arvicola sapidus* ou *Galemys pyrenaycus* no Rio Febros. No entanto, considerando a importância de conservação destas espécies e a sua deteção no passado, seria importante a aplicação de metodologias adicionais, direcionadas especificamente para a toupeira-de-água por exemplo, como o uso de armadilhas de rede semi-submersas.

Por fim, considerando a não deteção destas espécies na área de estudo, foi definido um plano de recuperação do Rio Febros com potencial de aplicação no Parque Biológico de Gaia. Este plano inclui medidas direcionadas a intervenções no Rio Febros e nas zonas ripícolas associadas, com o intuito de corrigir alguns dos problemas identificados.

Palavras-chave: pequenos mamíferos, Rio Febros, armadilhagem, camera trapping, hair trapping, prospeção de indícios, conservação

Abstract

River ecosystems are one of the most important biodiversity hotspots in the world, holding about 9.5% of all species described today and about one third of all vertebrate species. However, these are one of the most threatened ecosystems by anthropogenic intervention, endangering their integrity and the survival of the associated species.

The Febros River is one of the tributaries of the Douro River and runs entirely in the municipality of Vila Nova de Gaia. In order to characterise the community of small mammals associated with this fluvial ecosystem, nine sampling sites were selected along its extension, two of them within the Gaia Biological Park. At these sites, different methods were applied, namely live-trapping, camera trapping, hair-trapping with PVC pipes of different diameters adapted with adhesive tape, and presence sign searches. Live-trapping was the method that provided more information: in total 80 individuals of six different species (one insectivorous and five rodents) were captured. The small mammal with higher trapping success was *Apodemus sylvaticus*, accounting for 72.5% of the captures. The other methods applied allowed to confirm the distribution of the species previously detected by live-trapping and to detect the presence of the otter.

The presence of *Arvicola sapidus* or *Galemys pyrenaycus* was not detected in the Febros River. However, considering the importance for conservation of these species and their detection in a recent past, we suggest the application of other additional methods specifically targeted for the detection of the Pyrenean desman, namely the use of semi-submerged net traps.

Finally, considering the results of this study, we have elaborated a conservation plan for the Febros river, to be applied in the Gaia Biological Park. The proposed conservation measures include intervention in the Febros River and associated riparian zones, for rectifying some of the issues identified.

Keywords: small mammals, Febros River, live-trapping, camera trapping, hair trapping, presence signs, conservation

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vi
Índice	vii
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	x
Lista de Abreviaturas	xi
1. Introdução	1
1.1- Os ecossistemas fluviais	1
1.1.1-Os elementos espaciais de um ecossistema fluvial	1
1.1.2- Ameaças aos ecossistemas fluviais	3
1.2- Mamíferos associados a um ecossistema fluvial	5
1.2.1- Os pequenos mamíferos	5
1.3- Métodos de estudo dos pequenos mamíferos	11
1.3.1- Armadilhagem	12
1.3.2- Prospecção de indícios de presença	16
1.3.3- Análise da dieta de predadores	19
1.3.4- <i>Camera trapping</i>	19
1.3.5- <i>Hair trapping</i>	20
1.4- Conservação de espécies e reabilitação de ecossistemas ribeirinhos.....	21
1.5- Enquadramento e objetivos do trabalho	25
2. Material e métodos.....	25
2.1- Local de estudo: O Rio Febros	25
2.1.1- Clima.....	27
2.1.2- Flora.....	28
2.1.3- Pontos de Amostragem	29
2.2- Métodos de estudo	30
2.2.1- Armadilhagem	30
2.2.2- <i>Camera trapping</i>	32
2.2.3- Prospecção de indícios de presença	33
2.2.4- <i>Hair trapping</i>	34
2.3- Análise molecular para identificação de espécies	35
2.3.1- Amostras de excrementos.....	35

2.3.2- Amostras de pelos e tecidos da orelha	36
2.4- Ocupação de solo dos pontos de amostragem	36
2.5- Tratamento de dados	37
2.5.1- Análise dos dados da armadilhagem	37
2.5.2- Análise dos dados de <i>camera trapping</i>	38
2.5.3- Análise estatística da correlação entre a ocupação do solo e outras variáveis	39
3. Resultados	39
3.1- Armadilhagem: Diversidade e sucesso de captura de pequenos mamíferos	39
3.2- Prospecção de indícios de presença e <i>hair trapping</i>	43
3.3- <i>Camera trapping</i>	45
3.4- Efeito do tipo de ocupação do solo na diversidade	46
4. Discussão.....	47
5. Conclusão	51
6. Medidas para a conservação das espécies mais vulneráveis do Rio Febros	52
7. Bibliografia	56

Lista de Figuras

Figura 1 - Esquema de uma armadilha Longworth (Sibbald, Carter, & Poulton, 2006)

Figura 2 - Esquema de uma armadilha Sherman (Sibbald, Carter & Poulton, 2006)

Figura 3 - Esquema de uma armadilha Ugglan (Esq. modelo 1 e Drt modelo 2) (Sibbald, Carter & Poulton, 2006)

Figura 4 - Esquema de uma armadilha Havahart (Sibbald, Carter & Poulton, 2006)

Figura 5 - Esquema de uma armadilha Pitfall com redes-guia (Sibbald, Carter & Poulton, 2006)

Figura 6 - Pegadas de *Rattus* sp (Foto: Miguel Vanzeller)

Figura 7 - Representação esquemática dos conceitos de reabilitação, restauração e requalificação. Adaptado de Lemos (2010)

Figura 8 - Contexto geográfico do Rio Febros (Silva & Graça, 2006)

Figura 9 - Perfil longitudinal do Rio Febros (*in* Gaia, 2015)

Figura 10 - Contextualização geográfica dos pontos de amostragem

Figura 11 - Detalhe de como realizar a medição morfométrica. Adaptado de Boyer (1994)

Figura 12 – Câmara instalada nas margens do Rio Febros, dentro do Parque Biológico de Gaia

Figura 13 - Localização das *camera traps* no Parque Biológico de Gaia

Figura 14 – Diferentes classes de ocupação de solo (representadas a diferentes cores) e buffer de 250 metros à volta do ponto de amostragem PB1 (círculo amarelo).

Figura 15- Número de capturas de cada espécie em cada sessão de armadilhagem, nos quatro pontos amostrados nas duas sessões

Figura 16 - Sucesso de captura por espécie por sessão, com base nas capturas obtidas nos quatro pontos amostrados nas duas sessões

Figura 17- Percentagem das classes de ocupação do solo nos diferentes pontos amostrados

Lista de Tabelas

Tabela 1- Espécies de pequenos mamíferos confirmados em Portugal e respetivo estatuto de conservação segundo o Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal (Cabral *et al.* 2005; LC- pouco preocupante, DD- falta de dados, NE- não avaliado, VU- vulnerável)

Tabela 2 - Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem

Tabela 3 - Número de indivíduos capturados (I) e número total de capturas (T) (capturas+recapturas), ambas apresentadas para cada espécie e para cada local

Tabela 4- Esforço de armadilhagem (armadilhas-noite), sucesso de captura (capturas/noite-armadilha x 100), riqueza específica (S) e Índice de Shannon-Wiener (H') para cada ponto de amostragem em cada sessão de armadilhagem

Tabela 5 - Identificação das espécies às quais correspondem as amostras obtidas através da prospeção de indícios de presença, correspondendo NI a amostras para as quais a identificação da espécie não foi possível

Tabela 6- Identificação das espécies às quais correspondem as amostras obtidas através do *hair trapping* (*- falharam a sequenciação, NI- não foi possível identificar a espécie)

Tabela 7 – Número de registos fotográficos por espécie e Índice de Shannon-Wiener (H') em cada *camera trap* (excluindo os dados pertencentes a *Rattus* sp e Não identificados)

Tabela 8 – Valores de p resultantes do teste de correlação de Spearman entre as variáveis referentes aos pequenos mamíferos (ALL= sucesso de captura total, AS= sucesso de captura da espécie mais abundante, Sprich= riqueza específica, Shannon= Índice de Shannon-Wiener) e as diferentes percentagens de classes de ocupação do solo

Lista de Abreviaturas

- ADN** Ácido desoxirribonucleico
- dNTP's** Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
- FABA** Freshwater Animal Biodiversity Assessment
- ICNF** Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas
- PCR** Polymerase Chain Reaction
- PVC** Policloreto de vinila
- SAP** Shrimp Alkaline Phosphatase

1. Introdução

1.1- Os ecossistemas fluviais

Um rio, conforme definido por Mendes *et al.* (2009), “apresenta uma realidade muito complexa e ampla, que vai muito além da definição de um simples curso de água e respectiva margem”. Assim, o conceito de “ecossistema fluvial”, que é um conceito mais abrangente, é mais utilizado em estudos ecológicos do que o conceito simplista de “rio”.

1.1.1-Os elementos espaciais de um ecossistema fluvial

Um ecossistema fluvial é um sistema aberto composto por um conjunto de subsistemas, que podem variar nas suas características, e que se distinguem transversal, longitudinal e verticalmente (Mendes *et al.* 2009). Estes subsistemas incluem o leito, o corpo de água, que corresponde ao rio propriamente dito, as margens, que correspondem a zonas de transição entre o leito de estiagem e o ambiente terrestre, e a zona ripícola, nas margens do rio.

O leito refere-se ao espaço físico por onde corre a água de escoamento. Apresenta variação sazonal da sua extensão, dependendo do volume de água existente. Assim, tem o seu extremo máximo, em ambientes sem intervenção antrópica extrema, nas estações com maior pluviosidade, em que existe um maior *input* hídrico quer através do escoamento superficial, quer através da carga proveniente diretamente da chuva. Nas estações mais secas, em que existe um balanço hídrico negativo, atinge o seu extremo mínimo uma vez que ocorre uma elevada taxa de evaporação enquanto o *input* proveniente da pluviosidade é reduzido ou inexistente.

O corpo de água, mais comumente designado de rio, é um curso de água que efetua transporte de sedimentos, organismos e energia e no qual se verificam processos e interações entre os componentes do rio em si e entre estes e os ecossistemas circundantes. É considerado o elemento central de todo o ecossistema fluvial, influenciando, de várias formas, os restantes subsistemas.

As margens dos corpos de água correspondem a linhas de transição entre os meios aquático e o meio terrestre, onde se fazem sentir processos de erosão, sedimentação e inundação periódica, que são dependentes das dinâmicas dos rios e ribeiras a que são contíguos (Fabião & Fabião 2007).

Por fim, a zona ripícola é uma área de transição entre os sistemas aquático e terrestre, que se estende desde as margens até à orla dos sistemas que já não estão sob influência do curso de água (Gregory *et al.* 1991; Naiman & Décamps 1997; Stanford, Lorang & Hauer 2005). Estas zonas proporcionam diversos serviços de ecossistema, essencialmente de suporte e regulação.

As zonas ripícolas, além de serem influenciadas pelo meio aquático a que são próximas também o influenciam. Por um lado, funcionam como zonas tampão, em que tanto a parte aérea quanto a radicular da vegetação, e as comunidades microbianas a estas associadas, retêm parte significativa dos nutrientes e materiais provenientes da bacia hidrográfica através de escoamento superficial ou sub-superficial (Tabacchi *et al.* 1998) sendo, por isso, muito importantes no controlo de poluentes. Por outro lado, o material lenhoso proveniente da vegetação ripícola providencia habitat e refúgio para diversa flora e fauna, servindo, também, como fonte de matéria orgânica e nutrientes (Gurnell *et al.* 2005; Hughes 1997). Além disto, a deposição de ramos e troncos cria zonas de remanso onde a velocidade da corrente é atenuada e onde, por isso, existe um aumento da sedimentação de partículas (Fabião & Fabião 2007). A vegetação ripícola proporciona a existência de alternância de troços fluviais ensombrados e com iluminação plena, dependendo da densidade e altura da flora presente. Esta alternância permite que existam, em troços adjacentes, organismos aquáticos com preferências térmicas distintas. A sombra impede que a temperatura da água seja muito elevada, o que leva a que os níveis de oxigénio dissolvido sejam maiores e condiciona, também, a fixação de macrófitas no leito do rio que, intolerantes ao ensombramento, geralmente se encontram ausentes ou em pouca densidade nestes troços (Fabião & Fabião 2007; Moreira *et al.* 1999). As características das comunidades de vegetação têm, ainda, influência na diversidade e complexidade das comunidades faunísticas, onde geralmente comunidades mais complexas de vegetação suportam comunidades complexas de fauna. Estas áreas ripícolas, fornecem um conjunto abundante e diverso de recursos alimentares para as comunidades faunísticas tanto terrestres como aquáticas, o que permite a utilização destes habitats por um elevado número de espécies, tornando-se um importante refúgio para estas. Deste modo, as áreas ripícolas são consideradas “*hotspots*” de importância global para a biodiversidade (Naiman & Décamps 1997).

1.1.2- Ameaças aos ecossistemas fluviais

Segundo o inventário global *Freshwater Animal Biodiversity Assessment* (FABA) (Balian et al. 2008), cerca de 9,5% de todas as espécies de animais descritas e mais de um terço de todas as espécies de vertebrados podem ser encontradas neste tipo de habitat. No entanto, os ecossistemas de água doce são um dos ecossistemas mais ameaçados a nível global (Dudgeon et al. 2006) e o declínio da diversidade associada a estes habitats é bastante mais elevado do que para a maior parte dos ecossistemas terrestres (Sala et al. 2000). A grande vulnerabilidade destes habitats resulta de uma convergência entre a grande diversidade biológica que apresentam e a grande pressão antropogénica a que estão expostos, nomeadamente nas zonas mais a jusante onde existe uma maior densidade populacional humana (Reid et al. 2019). De acordo com Dudgeon et al. (2006), as ameaças que os ecossistemas dulciaquícolas enfrentam podem ser agrupados em cinco categorias que interagem entre si: sobreexploração, poluição da água, alterações do fluxo, destruição ou degradação do habitat e invasões de espécies exóticas.

A sobreexploração, principalmente de organismos para consumo, é um dos maiores causadores de perda de biodiversidade e afeta não só as espécies alvo, mas também as que são capturadas acidentalmente (Dudgeon et al. 2006; Reid et al. 2019), incluindo muitas espécies de peixes, répteis e anfíbios. Também a sobreexploração dos recursos, como a água que é utilizada para regadio, consumo humano, aquacultura e indústrias, ou os sedimentos do leito que são usados para construção, é um problema que contribui para o declínio e degradação dos ecossistemas aquáticos de água doce.

A poluição dos rios é um problema que foi aumentando com o crescimento demográfico exponencial que tem sido observado nas últimas décadas, conjuntamente com o aumento da indústria e da agricultura intensiva. O facto destas duas atividades económicas se terem desenvolvido, inicialmente, em zonas próximas a ecossistemas dulciaquícolas veio facilitar a entrada de poluentes tóxicos, tanto orgânicos como inorgânicos, nos sistemas aquáticos. A entrada destes poluentes ocorreu através de descargas ilegais ou da infiltração destes poluentes no solo através da lavagem pela água das chuvas, levando à contaminação dos lençóis freáticos. No entanto, apesar da maior parte dos países industrializados estar a implementar esforços no sentido de reverter ou evitar a poluição dos rios por fontes de origem industrial ou doméstico, estão a surgir novos poluentes como os disruptores endócrinos (Colborn, Dumanoski & Myers 1996) que trazem novos desafios ao combate à poluição.

A alteração do fluxo dos rios por ação antropogénica é um problema que varia em tipo e gravidade e é mais implementada em zonas onde existe grande variação natural do caudal, dada a necessidade de precaver a sobrevivência humana quer através do controlo de inundações, quer através do armazenamento de água para ser usado nos mais diversos fins (Dudgeon *et al.* 2006). A larga escala, a construção de barragens é uma das intervenções humanas que mais altera o ciclo hidrológico e resulta não só em alterações biológicas e químicas, mas também em alterações físicas sendo das atividades que mais contribuem para as alterações de fluxo (McCartney, Acreman & Sullivan 2001). Segundo Nilsson & Berggren (2000), as barragens que naquele período se encontravam ativas retinham aproximadamente 10 000 km³ de água, o equivalente a cinco vezes o volume total de água existente nos rios a nível mundial. Porém, a menor escala, também são observadas alterações no fluxo através de canalização dos corpos de água e de desvios por exemplo para irrigação na agricultura.

A destruição ou degradação do habitat nos ecossistemas fluviais pode ser provocado por vários fatores que interagem entre si e que podem provocar efeitos diretos no ambiente fluvial, como a dragagem, ou então efeitos indiretos que resultam de alterações nas bacias de drenagem. Por exemplo, o desbaste de floresta próxima a rios normalmente é associado a modificações na escorrência superficial e nas cargas de sedimentos que alcançam os corpos de água, provocando alterações nos habitats, como a erosão da linha costeira ou o assoreamento das planícies de inundação (Dudgeon *et al.* 2006)

Também a introdução de espécies exóticas nos ecossistemas fluviais tem sido um problema muito relevante, principalmente para a fauna e flora nativos. Apesar da introdução das espécies poder não ser deliberada, estas podem constituir uma ameaça principalmente pelo facto de, nos habitats onde são introduzidas, não existirem predadores para as controlar naturalmente, e por competirem com as espécies nativas pelos recursos (Dudgeon *et al.* 2006). Por outro lado, com a introdução de novas espécies, são introduzidos, também, novos agentes patogénicos que podem afetar gravemente as espécies nativas, que não possuem defesas imunitárias para estas novas ameaças emergentes (Reid *et al.* 2019).

Apesar destas cinco categorias inicialmente identificadas por Dudgeon *et al.* (2006), Reid *et al.* (2019) sugerem que, mais de uma década depois, estas ameaças evoluíram ou aumentaram os seus efeitos nos habitats, e surgiram novas ameaças: as mudanças climáticas, comércio electrónico, novas doenças infecciosas, blooms de algas, aumento

exponencial do número de barragens, a emergência de novos contaminantes, microplásticos, poluição luminosa e sonora e salinização da água.

1.2- Mamíferos associados a um ecossistema fluvial

Como referido anteriormente, os ecossistemas fluviais são ambientes onde uma grande diversidade, tanto de vegetação quanto de fauna, pode ser encontrada. Os mamíferos são espécies que beneficiam destes ambientes, aproveitando diversos serviços destes ecossistemas. Por exemplo, nos territórios sob influência mediterrânea, os ecótonos ripícolas associados aos rios têm um papel de extrema importância para a maioria das espécies de mamíferos. Uma vez que os verões quentes e secos condicionam a sobrevivência dos mamíferos destas regiões, a obtenção de água e o aproveitamento de um ambiente mais fresco, característica importante das zonas ripícolas, é uma das formas de estes animais, muitas vezes, conseguirem sobreviver a esta estação do ano (Mendes *et al.* 2009).

Para além das espécies com uma dependência sazonal dos ecossistemas fluviais, na região mediterrânica, ocorrem mamíferos com hábitos de vida semi-aquáticos que utilizam estes ambientes fluviais para diversas funções biológicas como reprodução, alimentação e refúgio e locomovendo-se, essencialmente, por natação e ao longo dos corredores ripícolas.

1.2.1- Os pequenos mamíferos

O grupo dos pequenos mamíferos inclui espécies que encontram grande parte dos seus requisitos ecológicos nos ecossistemas fluviais.

Os pequenos mamíferos correspondem a mamíferos de pequenas dimensões que pertencem às Ordens Rodentia e Eulipotyphla (antiga ordem Insectivora), partilhando características biológicas e ecológicas relacionadas com o seu reduzido tamanho, nomeadamente uma taxa metabólica mais elevada e um período de vida mais curto (Gonçalves 2006). Esta classificação exclui os quirópteros e os animais com um peso superior a 1 kg.

Estes pequenos animais tem um papel muito importante nos ecossistemas que habitam e influenciam diversos aspetos bióticos e abióticos do meio, devido às diversas funções ecológicas que desempenham:

- a) Constituem um recurso alimentar básico, tanto para outros mamíferos, como para aves e répteis carnívoros, influenciando diretamente a diversidade, abundância e sucesso reprodutivo de muitas espécies de predadores (Michel, Burel & Butet 2006). Os pequenos mamíferos seguem uma “estratégia r”, onde existe um rápido amadurecimento sexual dos indivíduos que, associado ao grande número de crias por ninhada, contribui para a ocorrência de elevadas densidades populacionais de algumas espécies.
- b) Os insectívoros são importantes predadores de artrópodes, como os gafanhotos, as centopeias e as aranhas, podendo assim contribuir para o controlo de possíveis pragas, que podem provocar graves prejuízos económicos na agricultura e outros setores.
- c) São essenciais na regeneração vegetal, tanto através da dispersão de sementes (Gonçalves 2006), como através do revolvimento e arejamento do solo, aquando da construção de ninhos, túneis e galerias subterrâneos que usam como locais de refúgio, de nidificação ou de deslocação.

Apesar de todas as funções benéficas, os pequenos mamíferos são historicamente considerados como pragas e vetores de doenças para humanos e animais, gerando uma opinião pública negativa, e levando a que existam mais esforços para o seu extermínio e controlo populacional do que para a sua conservação.

I. Ordem Rodentia

A ordem *Rodentia* é a mais numerosa ordem de mamíferos placentários contendo mais de 2200 espécies, o que corresponde a cerca de 40% de todas as espécies de mamíferos atualmente existentes (Wilson & Reeder 2005). Apesar da grande diversidade de espécies, todas têm em comum a dentição especialmente adaptada à função de roer.

Esta ordem encontra-se subdividida em 5 subordens, a *Sciuromorpha*, *Castorimorpha*, *Myomorpha*, *Hystricomorpha* e *Anomaluroomorpha*, sendo que apenas as primeiras 4 estão presentes na Europa, incluindo 8 famílias e 33 géneros. Em Portugal estão atualmente descritas 14 espécies com ocorrência confirmada, distribuídas pelas seguintes 4 famílias: *Cricetidae* (ratos), *Gliridae* (leirão), *Muridae* (ratinhos e ratazanas) e *Sciuridae* (esquilo) (Bencatel *et al.* 2017).

Em Portugal, as 14 espécies de roedores de ocorrência confirmada estão identificadas na Tabela 1 (Bencatel *et al.* 2017).

Tabela 1- Espécies de pequenos mamíferos confirmados em Portugal e respetivo estatuto de conservação segundo o Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal (Cabral *et al.*, 2005; LC- pouco preocupante, DD- falta de dados, NE- não avaliado, VU- vulnerável)

Ordem	Nome científico	Nome comum	Estatuto de conservação
Rodentia	<i>Sciurus vulgaris</i>	Esquilo-vermelho	LC
	<i>Eliomys quercinus</i>	Leirão	DD
	<i>Arvicola sapidus</i>	Rato-de-água	LC
	<i>Chionomys nivalis</i>	Rato-das-neves	-
	<i>Microtus lusitanicus</i>	Rato-cego	LC
	<i>Microtus duodecimcostatus</i>	Rato-cego-mediterrânico	LC
	<i>Microtus arvalis</i>	Rato-dos-prados	NE
	<i>Microtus cabrerae</i>	Rato-de-cabrera	VU
	<i>Microtus agrestis</i>	Rato-do-campo-de-rabo-curto	LC
	<i>Apodemus sylvaticus</i>	Rato-do-campo	LC
	<i>Mus musculus</i>	Rato-caseiro	LC
	<i>Mus spretus</i>	Rato-das-hortas	LC
	<i>Rattus rattus</i>	Ratazana-cinzenta	LC
	<i>Rattus norvegicus</i>	Ratazana-castanha	NE
Eulipotyphla	<i>Erinaceus europaeus</i>	Ouriço cacheiro	LC
	<i>Talpa occidentalis</i>	Toupeira	LC
	<i>Galemys pyrenaicus</i>	Toupeira-de-água	VU
	<i>Sorex minutus</i>	Musaranho-anão-de-dentes-vermelhos	DD
	<i>Sorex granarius</i>	Musaranho-de-dentes-vermelhos	DD
	<i>Crocidura suaveolens</i>	Musaranho-de-dentes-brancos- pequeno	NE
	<i>Crocidura russula</i>	Musaranho-de-dentes-brancos	LC
	<i>Neomys anomalus</i>	Musaranho-de-água	DD
	<i>Suncus etruscus</i>	Musaranho-anão-de-dentes-brancos	LC

É importante salientar algumas espécies que estão relacionadas e/ou podem ser encontradas em ecossistemas ribeirinhos:

→ O rato-de-água (*Arvicola sapidus*) depende diretamente de habitats onde existam cursos e massas de água doce estáveis, com corrente brandas e com vegetação ripícola densa

nas margens. A sua alimentação é feita à base de plantas aquáticas, gramíneas e ervas podendo, ocasionalmente, alimentar-se de insetos, lagostins-de-água-doce, peixes e anfíbios (Bencatel *et al.* 2017; Macdonald & Barrett 1993). Trata-se de um endemismo da Península Ibérica e França continental. O seu estatuto de conservação varia nos países onde pode ser encontrada, sendo que em Espanha, e a nível global, tem um estatuto “vulnerável” (Palomo, Gisbert & Blanco 2007; Rigaux *et al.* 2008) enquanto em Portugal é considerado “Pouco Preocupante” (Cabral *et al.* 2005). Esta discrepância de classificação pode dever-se à falta de informação atualizada relativa à extensão da distribuição e abundância desta espécie em Portugal. Assim, é considerado necessário um estudo mais aprofundado sobre esta espécie de forma a reavaliar o seu estatuto de conservação.

- O rato-dos-bosques (*Apodemus sylvaticus*), também conhecido como rato-do-campo, é dos pequenos mamíferos da Europa com mais ampla distribuição. Pode ser encontrado em toda a Europa Continental, Ilhas Britânicas e estende-se até à Escandinávia Meridional e Norte de África. Está presente em praticamente toda a extensão do território continental português, sendo considerada uma espécie bastante abundante e com populações estáveis. Por ser uma espécie com extrema facilidade de adaptação, é registada a sua ocorrência nos mais diversos tipos de habitats semi-naturais e antropogénicos, como as florestas, campos agrícolas, jardins, dunas e zonas ripícolas, neste último principalmente quando é ladeado por campos agrícolas ou com gramíneas e matos na sua constituição vegetal (Bencatel *et al.* 2017; Macdonald & Barrett 1993).
- A ratazana-castanha (*Rattus norvegicus*) é uma espécie que é maioritariamente encontrada em locais associados à presença do Homem, como zonas residenciais, lixeiras, armazéns de cereais, sistemas de esgotos entre outros (Macdonald & Barrett 1993). Porém, algumas populações passam o ano, ou pelo menos parte, em campos agrícolas e nas orlas destes, sendo propícia a existência de cobertura vegetal densa junto a canais fluviais. São animais oportunistas e facilmente adaptáveis, pelo que são passíveis de ser encontrados nos mais diversos ambientes e estendem-se por toda a Europa Ocidental. No território português, há registos destes animais essencialmente no norte e centro-sul.
- A ratazana-preta (*Rattus rattus*) pode ser encontrada, principalmente, em zonas urbanas e rurais. Pode também ocorrer em habitats naturais e semi-naturais como florestas, matos, zonas ripícolas e hortas. Apesar de ter uma distribuição ampla, é menos comensal do que a ratazana-castanha. Em Portugal, esta espécie pode ser encontrada por todo o território continental.

- O rato-caseiro (*Mus musculus*) é tipicamente comensal e ocorre, geralmente, em habitats antropogénicos, como casas, fábricas, lojas, armazéns e campos agrícolas. Nas zonas rurais, podem ser encontrados exemplares deste pequeno mamífero em celeiros, moinhos e recintos de animais. São muito abundantes em todo o território português.
- O rato-das-hortas (*Mus spretus*) pode ser encontrado em locais com pouca influência antrópica e em habitats abertos, como por exemplo campos agrícolas, jardins, bosques e áreas ripícolas. É uma espécie típica da região mediterrânica, podendo ser encontrada no sudoeste europeu e no norte de África. Na península ibérica, à exceção da faixa mais a norte, está presente em todo o território.
- O rato-de-Cabrera (*Microtus cabrerae*) é uma espécie endémica da Península Ibérica onde, em Portugal, se encontra na área de transição entre as zonas de clima mediterrânico e atlântico. Ocorre em zonas de formações de gramíneas perenes, juncais, comunidades nitrófilas e junto a áreas de um nível freático elevado.
- O rato-do-campo-de-rabo-curto (*Microtus agrestis*) habita uma vasta gama de habitats, desde pradarias, charnecas, florestas e margens de rios preferindo, no entanto, áreas húmidas com elevado coberto vegetal de gramíneas e herbáceas.

II. Ordem Eulipotyphla

A ordem Eulipotyphla, anteriormente denominada de Insectivora, é uma ordem de mamíferos que conta com cerca de 450 espécies a nível mundial. Na Europa, são cerca de 30 as espécies e, em Portugal, ocorrem 9 espécies (Tabela 1) divididas por 3 famílias: *Erinaceidae* (ouriços), *Soricidae* (musaranhos) e *Talpidae* (toupeiras). Esta ordem tem uma larga distribuição a nível mundial, tendo, no entanto, uma distribuição limitada na América do Sul e encontrando-se apenas ausente na Antártida e na Austrália (onde foram ecologicamente substituídos pelos marsupiais).

Como o antigo nome desta ordem indica, a alimentação destes pequenos mamíferos assenta, essencialmente, nos insetos e/ou outros pequenos invertebrados. Têm características fisionómicas diferentes dos roedores, nomeadamente um focinho longo e móvel associado a um sentido olfativo bastante apurado que compensa, em parte, o tamanho reduzido dos olhos e baixa capacidade visual; as orelhas e a cauda também são, em geral, de pequeno tamanho. Alguns dos elementos desta ordem apresentam características muito particulares e únicas, como por exemplo os espinhos defensivos dos ouriços-cacheiros, as secreções venenosas das glândulas salivares nos musaranhos e as patas largas e fortes especializadas para cavar existentes nas

toupeiras. Apesar destas especializações, detém algumas características que são consideradas primitivas, nomeadamente a existência de uma cloaca que funciona como uma saída comum para os sistemas urinário, excretor e reprodutor.

Nos ecossistemas fluviais, essencialmente nas margens e ecótonos ripários, podem ser encontrados muitos destes pequenos mamíferos:

- A toupeira-de-água (*Galemys pyrenaicus*) é um dos animais desta ordem de mamíferos que está mais intrinsecamente ligado aos ecossistemas fluviais. Habita em cursos de água fria e bem oxigenada e raramente é encontrada em barragens ou em cursos de água poluídos, sendo muito sensível a perturbações antropogénicas. A sua alimentação é feita à base de invertebrados aquáticos e que vivem junto à água (por exemplo larvas de insectos), crustáceos, minhocas e, ocasionalmente, pequenos vertebrados, como peixes. Tem uma distribuição muito restrita, tratando-se de um endemismo ibérico, encontra-se apenas no Norte de Portugal e Espanha e na vertente francesa dos Pirinéus centrais (Bencatel *et al.* 2017; Macdonald & Barrett 1993). A informação até agora recolhida revela que esta espécie está em clara regressão, tanto no que diz respeito ao tamanho das populações como à dimensão da área de ocupação. Por exemplo, nas bacias hidrográficas dos rios Tua e Sabor, em apenas 20 anos, as populações de toupeira-de-água residentes diminuíram em cerca de 63,5% (Quaglietta *et al.* 2018). Está classificada com um estatuto de conservação “Vulnerável” tanto a nível global, como em Portugal e Espanha (Fernandes *et al.* 2008; Nores 2007; Queiroz *et al.* 2005). É essencial, assim, um maior esforço na compreensão dos fatores de ameaça e apurar com maior exatidão os níveis de regressão, para que sejam postas em prática medidas de proteção.
- O musaranho-de-água (*Neomys anomalus*) é uma espécie semiaquática que ocorre com distribuição fragmentada na Europa continental e na Ásia Menor. As populações existentes na península ibérica encontram-se geograficamente isoladas das restantes populações europeias existindo evidência desta espécie na região norte e centro-norte de Portugal, havendo a possibilidade da sua ocorrência em baixas densidades e com uma área de distribuição relativamente restrita. Estudos confirmaram a presença do musaranho-de-água nos Parques Naturais do Alvão, Montesinho e Serra da Estrela e no Parque Nacional da Peneda-Gerês (Bencatel *et al.* 2017). Os habitats preferenciais desta espécie são, principalmente, zonas de pequenos cursos de água, charcos e zonas ripícolas podendo ocorrer em ambientes com características mais mediterrânicas.

- O musaranho-anão-de-dentes-vermelhos (*Sorex minutus*) é uma espécie que pode ser encontrada numa grande variedade de habitats, desde prados, zonas rochosas e florestas, com elevada humidade e coberto vegetal como as zonas ripícolas. É uma espécie com ampla distribuição, na região euroasiática. Na Península Ibérica, estende-se desde o norte de Portugal até ao sul dos Pirinéus, embora esta distribuição seja razoavelmente fragmentada com populações isoladas na região central da península. A sua alimentação baseia-se em invertebrados da manta morta do solo (escaravelhos, aranhas e piolhos da madeira) e geralmente utiliza esconderijos de outras espécies para se refugiar (Bencatel *et al.* 2017).
- O musaranho-de-dentes-vermelhos (*Sorex granarius*) habita tendencialmente em zonas com coberto arbustivo, especialmente em terrenos com uma vegetação mais densa e com alguma humidade, junto a massas de água. É um endemismo ibérico, e só é encontrado numa faixa no litoral noroeste, desde a Galiza até ao centro do território português e no interior centro de Espanha, onde habitam as zonas montanhosas acima dos 1000 m perto de linhas de água ou zonas húmidas (Bencatel *et al.* 2017).
- O musaranho-de-dentes-brancos-grande (*Crocidura russula*) pode ocorrer nos mais diversos habitats, preferencialmente mediterrânicos. Podem ser encontrados em zonas abertas e margens de florestas com boa cobertura vegetal, em zonas urbanizadas como jardins e locais junto a habitações. Esta espécie tem ocorrência no sul e oeste da Europa e no Norte de África e, na Península Ibérica, tem uma ampla distribuição, com a exceção das zonas de maior altitude. Em Portugal, é considerado o insectívoro mais comum, ocorrendo praticamente em todo o território (Bencatel *et al.* 2017).

1.3- Métodos de estudo dos pequenos mamíferos

As características dos pequenos mamíferos, como o seu pequeno tamanho, fazem com que estes animais sejam facilmente manipulados e que não haja grande dano resultante de mordeduras e ataques mais agressivos, mas torna a sua observação em campo aberto extremamente difícil em comparação com mamíferos de maior porte. Outra característica que torna a observação direta destes animais difícil são os seus hábitos crepusculares e/ou noturnos, aliado ao facto de muitas espécies serem elusivas. Assim sendo, os métodos usualmente utilizados no estudo destas espécies incluem os métodos de armadilhagem, bem como, métodos indirectos.

1.3.1- Armadilhagem

Um dos métodos de estudo mais utilizado para inventariar as comunidades de pequenos mamíferos de uma dada área é o método de armadilhagem (Gurnell & Flowerdew 1990). Este método permite obter diversas amostras biológicas (sangue, tecidos, ectoparasitas, etc) e dados biométricos, como o peso e o tamanho corporal, tendo um risco de mortalidade associado reduzido. No entanto, a armadilhagem apresenta algumas desvantagens, como facto de ser um método monetariamente dispendioso, demorado e fisicamente exaustivo, além de ser pouco adequado para ser usado em meio urbano onde o acesso às armadilhas pode causar o seu furto, vandalismo ou distúrbio e, assim, pôr em causa a validade do estudo bem como o bem-estar dos animais capturados (Sibbald, Carter & Poulton 2006). Outro fator limitador é o facto de implicar o manuseamento de animais selvagens, pelo que este método deve ser aplicado por pessoas com experiência na área e com a devida autorização das entidades competentes, sendo em Portugal o ICNF (Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas) que emite a licença para a captura de animais silvestres.

Normalmente, as armadilhas utilizadas são metal uma vez que este material é extremamente resistente tanto a dano mecânico como às condições climatéricas. Em países cujas temperaturas atingem valores negativos, podem ser utilizadas armadilhas de madeira, de forma a manter a temperatura dos animais capturados. Existem diversos tipos de armadilhas utilizadas para a captura *in vivo* de pequenos mamíferos, das quais se descrevem abaixo alguns destes:

a) **Armadilhas Longworth**: constituído por duas partes distintas: um túnel inicial, por onde os animais entram, e uma caixa- abrigo no final do túnel onde os animais ficam “alojados” depois de a armadilha se fechar. Este túnel pode ser recuado para o interior da caixa-abrigo, de forma a tornar a armadilha mais facilmente transportável (Gurnell & Flowerdew 2006) (Figura 1). Vantagens: é uma armadilha relativamente leve (menos de 250 g) e sensível (o pedal de ativação da armadilha pode ser calibrado para um mínimo de 2 g). Além disso, pode ser usado para animais de diferentes tamanhos uma vez que a sensibilidade do pedal é facilmente ajustável (Little & Gurnell 1989) e as caixa-abrigo são espaçosas, o que permite a colocação de material para ninho e de alimento, essenciais em climas temperados para a sobrevivência dos animais. Por fim, a caixa-abrigo pode ser colocada com um ângulo mais elevado relativamente ao túnel, permitindo a escorrência para fora da armadilha de líquidos provenientes de

condensação, de chuva ou da urina do animal. Desvantagens: devido ao pequeno diâmetro do túnel, as capturas ficam limitadas a animais de dimensões mais reduzidas, normalmente de peso abaixo dos 70 g (Barnett & Dutton 1995). Por outro lado, animais de grandes dimensões, como as ratazanas, conseguem entrar na armadilha e prender a porta de fecho, permitindo que recue e saia sem ser capturada. Este facto pode fazer com que estas espécies sejam deficientemente representadas em estudos populacionais de longo prazo. Os pequenos animais, como os musaranhos, devido ao seu baixo peso, poderão não ser suficientemente pesados para ativar o mecanismo da armadilha.



Figura 1 - Esquema de uma armadilha Longworth (Sibbald, Carter & Poulton 2006)

b) **Armadilhas Sherman:** caixa retangular de metal com duas portas, sendo apenas uma delas usada para permitir a entrada do animal na armadilha (Figura 2). Só é ativada quando o animal se encontra totalmente na armadilha, uma vez que o pedal que ativa o fecho da porta se encontra na outra ponta da armadilha. Junto à porta oposta à usada para a entrada dos animais, é colocado o alimento e o material para ninho. **Vantagens:** vários tamanhos desta armadilha (pequeno, médio e grande) em versão colapsável ou não-colapsável, que permitem que seja usada para animais de diferentes dimensões sendo, normalmente, o tamanho grande usado para animais maiores ou de cauda comprida. A opção colapsável torna as armadilhas Sherman facilmente transportáveis, uma vez que ficam de dimensões bastante mais reduzidas comparativamente à versão “montada” (ficam com uma espessura de cerca de 15 mm). Outro fator que torna estas armadilhas de fácil transporte, é o seu peso (cerca de 250 g). Estas características são particularmente úteis para trabalho de campo em que o equipamento tem de ser transportado para diversos locais. **Desvantagens:** são relativamente caras, embora não tão caras como as Longworth. Quanto a porta de entrada é ativada, poderá prender a

cauda de alguns pequenos mamíferos, cortando-a ou arrancando pele. Esta armadilha tem de ser lavada regularmente para remover restos de alimento e de material de ninho e, assim, evitar que fiquem alojados debaixo do pedal de ativação da porta, que poderá inativar a armadilha e pôr em causa o sucesso do estudo.

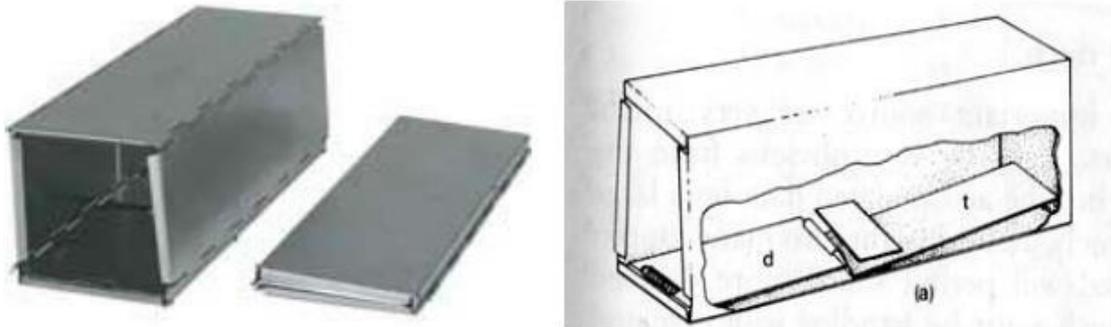


photo: www.shermantraps.com

Figura 2 - Esquema de uma armadilha Sherman (Sibbald, Carter & Poulton 2006)

c) **Armadilhas Ugqlan**: consiste numa caixa retangular de rede metálica com uma cobertura metálica completamente tapada e que é removível (Figura 3). Existem três modelos diferentes, destinados a capturar diferentes espécies. O seu funcionamento é simples: os animais entram na armadilha e, num nível superior ao nível de entrada, existe um alçapão que, depois de o animal o pisar, se abre para baixo deixando o animal cair novamente no nível inferior (a parte onde o animal cai encontra-se totalmente vedada para que este não possa voltar a sair) e, ao existir um contrapeso, o alçapão volta a fechar-se. Para retirar o animal existe uma porta traseira que pode ser aberta ou então é possível remover o chão da armadilha. **Vantagens:** a armadilha é controlada pela gravidade (o alçapão só baixa quando o animal se encontra em cima dele), logo não está sujeita a ativação accidental, além de permitir que exista simultaneamente múltiplas capturas numa mesma armadilha. O mecanismo da armadilha pode ser ativado por animais com peso mínimo de 5 g. A caixa providencia uma boa ventilação e possui espaço suficiente para que estejam confortáveis enquanto se encontram presos na armadilha. Além disto, é uma armadilha pequena e leve, o que permite um fácil transporte. **Desvantagens:** alta taxa de mortalidade associado a esta armadilha atribuída ao facto de as paredes desta armadilha serem de rede, o que permite que os animais capturados estejam extremamente expostos aos elementos naturais como chuva, radiação solar e vento, condicionando a utilização das armadilhas Ugqlan em ambientes mais frios.

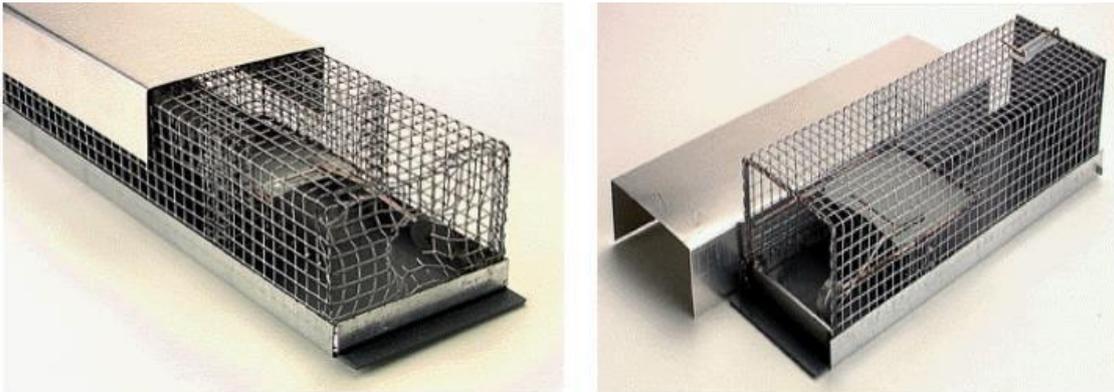


photo: www.tapirback.com/ugglan

Figura 3 - Esquema de uma armadilha Uggan (Esq. modelo 1 e Drt modelo 2) (Sibbald, Carter & Poulton 2006)

d) **Armadilha Havahart:** armadilhas em forma de caixa constituída, inteiramente, por rede de arame. Têm portas em ambas a pontas do túnel que são simultaneamente abertas aquando da armadilhagem (Figura 4). Dentro da armadilha, no centro, encontra-se um mecanismo de pedal que, quando pressionado pelo animal, liberta os suportes que seguram as portas ficando estas impedidas de abrirem novamente por um sistema simples de tranca na parte externa. Este tipo de armadilha está disponível em diversos tamanhos, sendo o tamanho mais pequeno utilizado para a captura de pequenos mamíferos. Vantagens: com aberturas em ambas as pontas da armadilha, a intenção é dar, às espécies mais cautelosas, a ilusão de que se trata de uma zona de passagem. Além disso, é uma armadilha de produção barata, é leve e fácil de usar. Desvantagens: paredes da armadilha de rede, como as armadilhas Uggan, o que poderá atrair predadores, aumentar o nível de stress do animal capturado e condiciona a utilização da armadilha em climas mais frios. Esta armadilha tem, ainda, relativamente pouco espaço para ser colocado alimento e material de ninho. Outra desvantagem é o facto de o mecanismo do pedal ser muito sensível, podendo ser acionado até pelo peso da chuva.

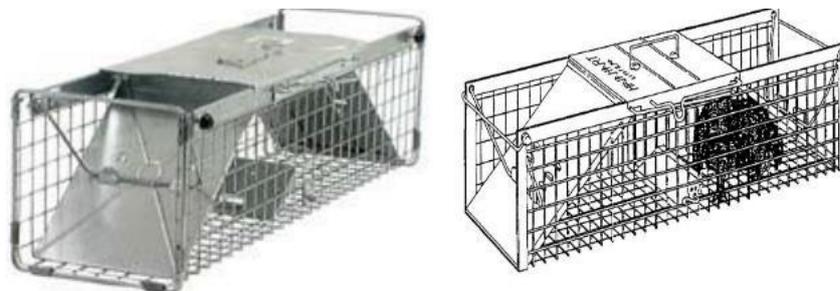


Figura 4 - Esquema de uma armadilha Havahart (Sibbald, Carter & Poulton 2006)

e) **Armadilhas Pitfall**: consiste em recipientes enterrados no solo, onde os animais caem e, devido à profundidade da armadilha, acabam por não conseguir sair (Figura 5). Os recipientes que podem ser usados dependem das espécies alvo, e vão desde baldes de plástico e garrafas PET até pequenos copos plásticos. **Vantagens**: funcionamento extremamente simples, estas armadilhas são não-selectivas, pelo que poderão existir múltiplas capturas. Desta forma, as Pitfall conseguem capturar uma maior diversidade de espécies de pequenos mamíferos quando comparados com outras armadilhas e o esforço necessário para as instalar é compensado pela sua necessidade de uma baixa manutenção. **Desvantagens**: É necessário esforço físico e um solo adequado para as instalar, nomeadamente em terreno pouco inclinado e drenante, uma vez que em caso de alagamento as Pitfall ficam cheias de água, podendo causar mortalidade nos animais capturados. Além disto, estas armadilhas não são de fácil deslocação como as armadilhas Sherman e Longworth. Têm também a inconveniência de capturarem espécies que não são o alvo do estudo, como répteis, insetos e até outros mamíferos de pequeno porte, causando mortalidade adicional. Além disso, os animais capturados ficam extremamente expostos, podendo atrair predadores e, assim, pôr em causa o sucesso do estudo.



photo: www.bio.davidson.edu

Figura 5 - Esquema de uma armadilha Pitfall com redes-guia (Sibbald, Carter & Poulton 2006)

1.3.2- Prospeção de indícios de presença

Outros dos métodos mais utilizado para o estudo das populações de pequenos mamíferos é a prospeção de indícios de presença que surge, muitas vezes, como um complemento a outros métodos de estudo. Esta técnica, ao contrário da armadilhagem, é considerada um método de estudo indireto uma vez que não implica a captura e manipulação física dos indivíduos, mas sim a observação, recolha e análise de sinais

resultantes da sua presença e atividade num determinado habitat. Este método é extremamente útil no estudo de animais mais sensíveis ou elusivos, cujas taxas de captura são usualmente baixas, e permite inferir diversas informações ecológicas e biológicas como presença/ausência de espécies, hábitos alimentares, comportamento, território e parasitologia (Chame 2003). Os indícios de presença variam com a espécie em estudo, sendo normalmente os mais encontrados os trilhos de pegadas, pelos, dejetos e urina e restos alimentares, tocas e túneis, ossadas e cadáveres.

Os trilhos de pegadas são uma excelente forma de identificar a presença ou passagem de um animal num determinado sítio. Estes dão-nos diversas informações como o número de animais que se movimentaram por aquele local, a espécie responsável por deixar o trilho (recorrendo a guias especializados existentes), o comportamento dos animais, a idade, o modo de locomoção e o modo de marcha. No entanto, a deteção destes indícios nem sempre é fácil, estando dependente de vários fatores como o tipo de solo e de vegetação, bem como o clima, que irá influenciar a marcação e permanência destes indícios de presença. Solos húmidos ou lamacentos próximo de rios e lagos ou derivados de poças originadas por chuvas, são substratos favoráveis à deteção de trilhos e impressões de pegadas. Áreas com climas temperados, com deposição de neve no inverno, são também propícios para a deteção deste tipo de indício de presença. No entanto, nem todo o tipo de neve é adequado, sendo mais favoráveis camadas de neve pouco profundas e ligeiramente húmidas. Ao contrário destas características, solos secos e arenosos são pouco propícios à marcação e deteção de trilhos de pegadas (Wemmer *et al.* n.d.).

No caso dos pequenos mamíferos, o estudo através de pegadas é bastante dificultado uma vez que, tratando-se de animais muito pequenos e leves, a impressão de pegadas no solo é praticamente inexistente ou, quando acontece, as pegadas são de tal modo pequenas que muito dificilmente conseguem ser encontradas. Contudo, em casos de pequenos mamíferos de maiores dimensões como as ratazanas, esquilos, toupeira-de água e rato-de-água, é possível a deteção de pegadas em algumas áreas (Figura 6) ser encontrada.



Figura 6 - Pegadas de *Rattus* sp (Foto: Miguel Vanzeller)

Quanto aos dejetos, estes são considerados, também, bons indicadores da presença de certa espécie. Existe, atualmente, um vasto leque de bibliografia que descreve, normalmente com ajuda de imagens, a relação entre as características físicas de determinado dejecto e a espécie a que pertence (Bang & Dahlstrom 1975; Chame 2003). Através dos dejetos é, também, possível obter informação relativa à dieta dos animais a que o dejecto pertence, bem como efetuar estudos de parasitologia. No entanto, existem bastantes situações em que as características físicas dos dejetos são ambíguas e não permitem uma identificação imediata da espécie a que pertencem sendo, assim, necessário a sua recolha para análise genética e identificação em laboratório. Esta análise permite também obter a identificação individual dos dejetos, que irá permitir obter dados de território utilizado por um certo indivíduo, permite a estimativa de densidades populacionais através de técnicas de armadilhagem baseados em genética não invasiva e de outros parâmetros populacionais, como a estrutura social e o sistema reprodutivo (Ferreira *et al.* 2018; Sabino-Marques *et al.* 2018). Em condições climáticas mais desfavoráveis, como regiões ou ambientes mais chuvosos, nem sempre os dejetos podem ser facilmente encontrados, uma vez que podem ser dissolvidos ou arrastados pela água. No caso de mamíferos aquáticos e semi-aquáticos, por exemplo, a sua deteção é muito difícil e a sua busca tem de ser minuciosa, uma vez que estes animais depositam os seus dejetos em áreas elevadas acima do nível da água como rochas e troncos, o que requer equipamento específico que nos permita a procura dos dejetos destes animais. No caso dos pequenos mamíferos, os dejetos são, no geral, de difícil identificação e, por serem de tão reduzidas dimensões, é necessária bastante experiência para a realização deste tipo de trabalho.

1.3.3- Análise da dieta de predadores

A recolha e observação de dejetos e regurgitações de predadores é outro método indireto muito frequentemente usado para estudar os pequenos mamíferos e que permite inferir a distribuição geográfica das espécies e a diversidade presente numa dada área, bem como obter informação sobre parâmetros biológicos das espécies (e.g. morfometria), permitindo estudar, também, os hábitos de caça e alimentares do predador (Avenan 2016). Egagrópila é o nome dado à massa regurgitada por certas aves, que é composta por partes das presas por elas caçadas e que estas não conseguem digerir. Como estas presas são deglutidas inteiras, podem ser encontradas nas egagrópilas, intactos, restos de pequenos mamíferos e pequenas aves como crânios, maxilares e dentes, garras, penas e pelos. Normalmente, são as egagrópilas provenientes de corujas e mochos que mais são usadas e analisadas para estudar pequenos mamíferos, nomeadamente as da Coruja-das-torres (*Tyto alba*). Este método é considerado mais preciso, simples e com uma melhor relação custo-benefício em estudos sobre a ocorrência e diversidade de espécies quando comparado com os métodos tradicionais de armadilhagem. Em Heisler (2016) foram analisados 27 trabalhos publicados que permitiram cerca de 32 comparações entre o estudo simultâneo dos dados obtidos através de egagrópilas e através de armadilhagem concluindo que a análise de egagrópilas permitia a obtenção de melhores resultados na estimativa da composição das comunidades de pequenos mamíferos. No entanto, para a identificação das espécies é necessário um conhecimento adquirido da morfologia cranial dos pequenos mamíferos e a utilização de chaves dicotómicas e bibliografia adequada que auxilie uma correta identificação.

1.3.4- *Camera trapping*

Camera trapping é um método em que é usada uma câmara automática que é ativada por movimento, e a sua finalidade é obter dados fotográficos ou em vídeo (McCallum 2013). Este método é relativamente recente, tendo sido observado entre 1994 e 2011, cerca de 419 trabalhos publicados em que este método é utilizado, sendo que este número se refere apenas a estudos com mamíferos (cerca de 18% destes estudos incluem, simultaneamente, outras classes de animais). Apesar de ser claramente validado como método de estudo, a maioria dos estudos realizados está focado para os médios e grandes mamíferos, que podem ser facilmente identificados a nível individual,

através do padrão de pelagem: destes 419 trabalhos, apenas 22% (92) se referem a estudos realizados com animais da ordem Rodentia (De Bondi *et al.* 2010; McCallum 2013). Apesar desta lacuna, o camera trapping tem potencial para obter informações importantes no que diz respeito aos pequenos mamíferos uma vez que é uma técnica não invasiva, não perturbando os indivíduos, e que as câmaras podem ser colocadas nos locais de estudo durante longos períodos de tempo não sendo necessário incursões diárias para a obtenção de dados. Por outro lado, permite a observação de espécies de mais rara observação e captura (De Bondi *et al.* 2010). No entanto, o estudo de pequenos mamíferos através deste método é dificultado pelo pequeno tamanho que as espécies apresentam sendo, por vezes, bastante difícil identificar qual a espécie do animal fotografado nas câmaras (DeSa *et al.* 2012). Por outro lado, também a implementação do *camera trapping* como método usual de estudo fica restringida pelas condições ambientais, uma vez que muitos modelos de câmaras não conseguem suportar humidade, calor extremo ou congelamento e tem, também, a desvantagem de obter dados fotográficos ou de vídeo de espécies que não são as espécies alvo (McCleery *et al.* 2014). Uma vez que o disparo se faz com a presença de movimento, a vegetação agitada pelo vento poderá também ativar a câmara. Outro dos fatores que limita o uso deste método é o facto de ser monetariamente dispendioso, uma vez que o material usado ainda não se encontra financeiramente acessível. No entanto, o potencial deste método é cada vez maior, uma vez que com o desenvolvimento constante da tecnologia permite um aperfeiçoamento das câmaras quanto à sua durabilidade, tempo de bateria, memória de armazenamento e definição de imagem.

1.3.5- *Hair trapping*

O *hair trapping* é um método que tem sido utilizado desde a década de 1970 e, apesar de ter sido inicialmente aplicado no estudo de pequenos mamíferos arborícolas da Austrália (Suckling 1978), o seu uso tem aumentado significativamente no estudo de mamíferos de médio e pequeno tamanhos, no mais variado leque de habitats (Harris & Nicol 2010). No entanto, continua a haver uma lacuna na avaliação quantitativa desta técnica enquanto indicador de atividade e abundância de pequenos mamíferos, principalmente em estudos em que várias espécies são analisadas simultaneamente, além de que não existe informações acerca do uso dos *hair tubes* no estudo de espécies de pequenos mamíferos com ampla distribuição geográfica (Chiron *et al.* 2018). Com a implementação e aceitação deste método pela comunidade científica, surgiram diferentes designs das armadilhas utilizadas, mas o princípio destas tem sido constante:

uma estrutura cilíndrica ou afunilada, que contém isco no seu interior, com uma superfície com propriedades adesivas, quase sempre proporcionadas pelo uso de fita-cola, onde os animais deixam amostras de pelo ao tentarem obter o isco (Catling, Burt & Kooyman 1997; Harris & Nicol 2010; Murray 2005; Scotts & Craig 1988). O pelo obtido pode ser utilizado para a identificação de espécies, através de análises morfológicas (Teerink 1991) ou genéticas (Schlegel *et al.* 2012), sendo também possível identificar o sexo e os indivíduos (Chiron *et al.* 2018).

As atuais limitações deste método prendem-se com o facto de o material adesivo perder a sua adesividade em condições húmidas (Nelson 2006) ou de existir material indesejado (como por exemplo pólen) em suspensão no ar que poderá aderir à superfície adesiva e, assim, diminuir a probabilidade de serem obtidos pelos. Além disto, quando usados para identificação genética, é necessário um certo número de pelos, mais especificamente os seus folículos que é onde se pode encontrar o ADN, para diminuir significativamente os erros de genotipagem. Gagneux, Boesh & Woodruff (1997) sugerem que este número seja, no mínimo, entre três e dez folículos. No entanto, este método de estudo tem também várias vantagens que justificam a sua utilização: as armadilhas de pelo tem um design simples, são de construção e manutenção económicos, não necessitam de monitorização frequente e não envolvem o confinamento dos animais, nem o seu manuseamento, pelo que é uma técnica não invasiva.

1.4- Conservação de espécies e reabilitação de ecossistemas ribeirinhos

A Biologia da Conservação foi uma disciplina apresentada por Michael E. Soulé em 1985, que apresenta esta área como sendo uma nova etapa na aplicação da Ciência na resolução de problemas de conservação e que aborda campos como a biologia das espécies, das comunidades e dos ecossistemas, que são diretamente ou indiretamente influenciados por atividades antrópicas e outros agentes.

Num mundo em mudança cada vez mais rápida, e em que as ameaças aos ecossistemas e às espécies cada vez são mais expressivas e de mais difícil mitigação e controlo, tem-se verificado um aumento acentuado dos esforços conjuntos entre entidades governativas e entidades científicas, numa tentativa de evitar perdas irreversíveis de espécies e de habitats e de recuperar aqueles que já pereceram ao ritmo

acelerado das extinções e da degradação ecológica.

Têm sido várias as metodologias utilizadas na elaboração de planos de conservação e de recuperação, variando também os aspetos avaliados, bem como as escalas de intervenção. Com o surgimento recente de ferramentas computacionais como a modelação ecológica tem sido possível fazer previsões sobre o futuro de determinado ecossistema, habitat ou espécie tendo em consideração as mais diversas variáveis.

No entanto, apesar desta diversidade de técnicas, iremos abordar a metodologia apresentada por Rutherford, Jerie & Marsh (2000), utilizada na reabilitação de ecossistemas ribeirinhos australianos. As designações restauração, reabilitação e requalificação são, muitas vezes, utilizadas como tendo significados idênticos mas, como observável na Figura 7, estes conceitos em termos ecológicos têm diferentes significados.

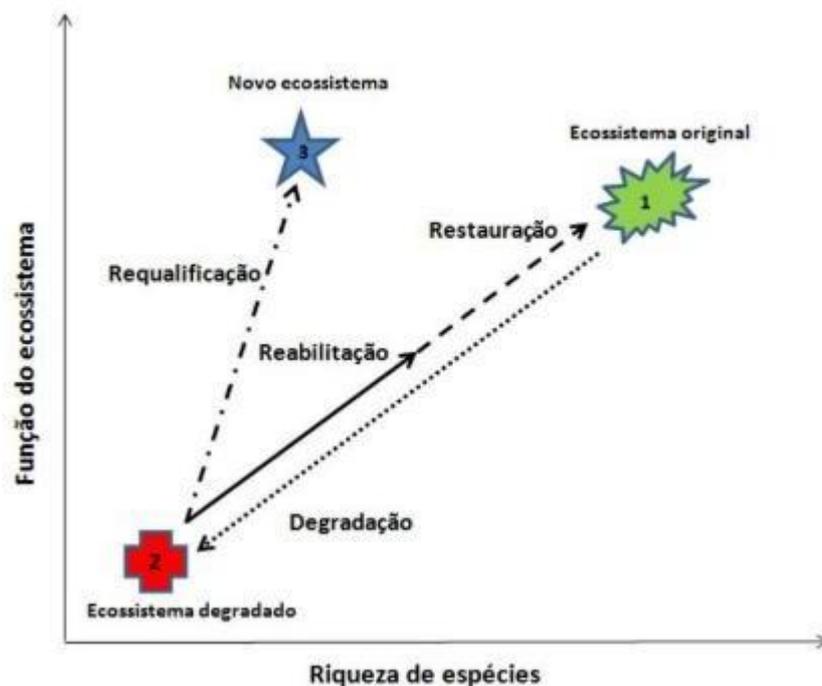


Figura 7 - Representação esquemática dos conceitos de reabilitação, restauração e requalificação. Adaptado de Lemos (2010)

Restauração consiste em obter uma reposição total das condições originais do rio, incluindo condições naturais da qualidade da água, dos sedimentos, regimes de cheias, condições do canal, galeria ripícola e comunidades faunísticas e florísticas, num sistema autossustentável e autorregulado (Rodrigues 2009). Este tipo de plano torna-se complicado quando não é conhecido o ecossistema de referência, ou seja, o ecossistema original que deveria existir em condições ecológicas ideais e que servirá,

mais tarde como um termo de comparação e de avaliação do sucesso do projeto.

Reabilitação refere-se a um processo de obtenção de um ecossistema com as características tanto quanto possível semelhantes às do ecossistema de referência.

Muitas vezes este é o percurso a percorrer quando não é possível, por diversas razões, obter uma total restauração do ecossistema

Requalificação consiste num processo onde se obtêm melhorias ecológicas do ecossistema, mas em que as suas características são totalmente diferentes do ecossistema de referência.

Idealmente, a aplicação de um plano de recuperação/reabilitação irá providenciar os requisitos ecológicos mínimos necessários aos organismos para que estes possam completar os seus ciclos de vida, remover ou controlar os agentes que estão a danificar o ecossistema, devolver a complexidade natural, morfológica e hidrológica que providenciam o habitat e os recursos necessários para os organismos.

Segundo estes autores, existem seis passos que devem ser considerados aquando da elaboração e implementação de um plano de recuperação/reabilitação de um ecossistema ribeirinho: 1) prevenção 2) avaliação das condições, 3) avaliação dos estragos, 4) avaliação do tipo de intervenção que pode ser feita, 5) aplicação do plano de reabilitação.

- 1) Prevenir de forma a que não seja sequer necessária intervenção humana para a manutenção ou recuperação do ecossistema deverá ser o ponto mais importante de todos, uma vez que é muito mais fácil e económico manter a qualidade ecológica do que elaborar e aplicar um plano de forma a recuperar essa mesma qualidade.
- 2) Avaliar as condições em que um ecossistema ribeirinho se encontra envolve caracterizar o estado do ecossistema de acordo com cinco parâmetros diferentes mas que estão interligados: a estrutura física do sistema (forma e dimensões do canal e tipo e quantidade de sedimentos); a qualidade da água (parâmetros físico-químicos e biológicos); quantidade de água (caudal de estiagem, caudal de cheia e velocidade da corrente); as margens do rio (composição e qualidade do corredor ripário); diversidade e composição das comunidades de organismos presentes no sistema.

- 3) Avaliar os impactos causados no habitat que põe em causa a sua qualidade ecológica. Estes podem ser danos mecânicos como a regularização dos caudais dos rios, a redução das planícies inundáveis, drenagem de zonas húmidas e extração de inertes, danos químicos como introdução nos sistemas aquáticos de agrotóxicos, fármacos (por exemplo disruptivos endócrinos) e poluentes industriais e ainda danos biológicos como a introdução de espécies exóticas, a sobreexploração de espécies autóctones e destruição da vegetação ripícola.
- 4) Identificados os problemas, pode-se apresentar soluções para que estes sejam resolvidos estabelecendo-se objetivos e prioridades. Segundo a Society for Ecological Restoration (2004) os planos de recuperação devem incluir sempre:
 - Razões para a necessidade de restauração
 - Descrição ecológica do local a restaurar
 - Definição dos objetivos e metas a atingir
 - Descrição detalhada do ecossistema de referência, ou seja, aquele que queremos idealmente obter
 - Explicação de como a restauração do ecossistema irá enquadrar-se na paisagem e integrar os organismos e materiais presentes
 - Inclusão de planos de ação, cronogramas e orçamentos
 - Inclusão de protocolos de avaliação dos planos de ação concretizados
 - Inclusão de estratégias bem definidas que permitam a monitorização e manutenção do ecossistema restaurado
- 5) Aplicação do plano de reabilitação.

A conservação e recuperação de muitas espécies passa, essencialmente, pela reabilitação/recuperação dos próprios ecossistemas uma vez que é, quase sempre, a degradação das condições ecológicas que faz com que uma espécie diminua o seu efetivo populacional em determinado local ou, em casos extremos, entre em extinção. Assim, um bom planeamento e aplicação de planos de recuperação permite não só obter um bom sistema físico, mas também recuperar espécies importantes no ecossistema e que estão extremamente dependentes das condições destes.

1.5- Enquadramento e objetivos do trabalho

O tema deste trabalho surgiu do interesse demonstrado pelo Parque Biológico de Gaia em estudar a presença de *Galemys pyrenaicus* e de *Arvicola sapidus* no troço do Rio Febros dentro dos seus limites, uma vez que os últimos avistamentos destas espécies, confirmados por comunicações verbais, aconteceram há cerca de 20 anos e nenhum indício de presença foi encontrado, entretanto.

Assim, os principais objetivos deste trabalho são: estudar as comunidades de pequenos mamíferos associadas ao Rio Febros, aumentando o conhecimento sobre estas espécies, com especial interesse na *G. pyrenaicus* e no *A. sapidus*; avaliar a diversidade de pequenos mamíferos nas diferentes zonas do rio; elaborar um plano de recuperação das espécies com interesse para a conservação adaptado ao troço do Rio Febros dentro do Parque Biológico de Gaia.

2. Material e métodos

2.1- Local de estudo: O Rio Febros

O Rio Febros (Figura 8) é o último tributário da margem esquerda do Rio Douro.

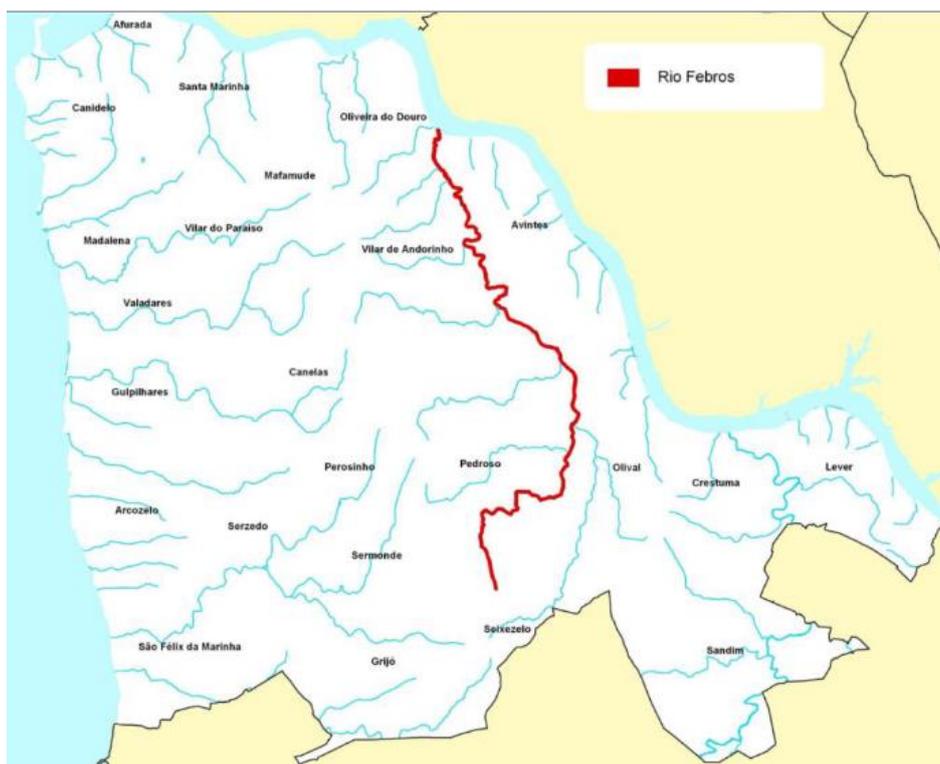


Figura 8 - Contexto geográfico do Rio Febros (Adaptado de Silva & Graça, 2006)

Encontra-se inserido na Área Metropolitana do Porto e tem cerca de 15 km de extensão. Corre inteiramente dentro do concelho de Vila Nova de Gaia, percorrendo seis das suas freguesias. Tem a sua nascente no Parque das Corgas, em Seixezelo, a 220 metros de altitude. Percorre as freguesias de Seixezelo, Pedroso, Olival, Vilar de Andorinho e desagua, finalmente, no Rio Douro, mais precisamente no Cais do Esteiro na freguesia de Avintes. A bacia hidrográfica deste rio tem uma área que varia, na bibliografia existente, entre 35,4 km²(Jesus & Formigo 2000) e 37,2 km² (Silva 2006)

O rio possui uma inclinação suave, sendo o desnível, entre a nascente e a foz, de aproximadamente 200 metros, o que torna o rio relativamente pouco torrencioso e a velocidade de escoamento superficial da água baixa.

Quanto à morfologia do rio, é possível distinguir três secções baseadas em certas características e que correspondem a níveis de altitude diferentes (Figura 9):

Sector I - O mais próximo à foz em Avintes. Aqui o rio torna-se mais encaixado e ladeado por aglomerados populacionais mais concentrados. Depois de atravessar uma zona aluvionar de baixo declive, o rio torna-se mais torrencial.

Sector II – setor médio onde o rio atravessa uma zona caracteristicamente rural, onde existe cultivo agrícola e aglomerados populacionais mais pequenos e dispersos. Neste setor existe a confluência do rio Febros com várias ribeiras, o que aumenta o seu caudal e a influência na paisagem envolvente.

Setor III – corresponde ao troço inicial do rio na zona mais a montante, onde a morfologia é de vale aberto e o rio apresenta características de pequena linha de água.

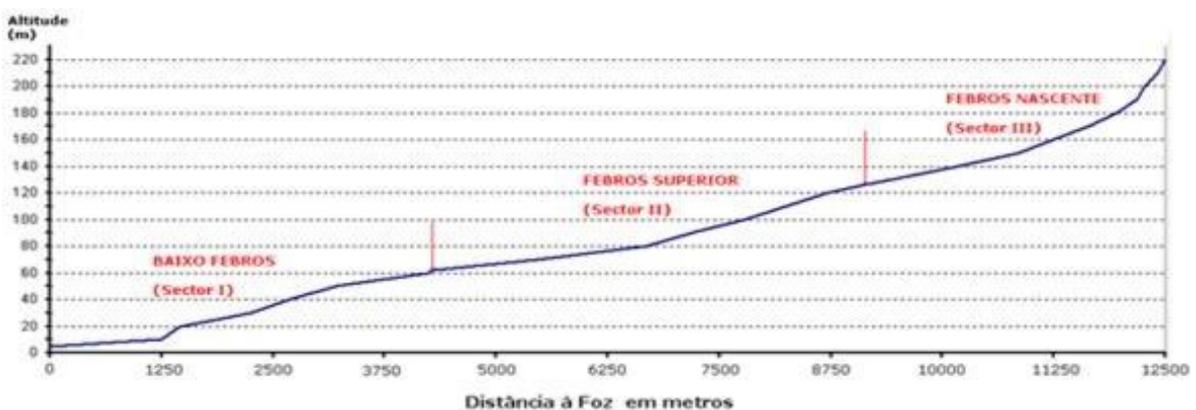


Figura 9 - Perfil longitudinal do Rio Febros (in Gaia, 2015)

2.1.1- Clima

Segundo a Classificação de Koppen, a área de estudo encontra-se na região climática Csb que corresponde a um clima temperado com Inverno chuvoso e Verão seco e pouco quente, uma vez que apresenta temperaturas médias mensais que variam entre os 3 °C e os 22 °C e o mês mais seco recebe menos de um terço da precipitação do mês mais húmido.

A Estação Climatológica mais próxima é a da Serra do Pilar, em funcionamento entre 1959 e 2007. Embora exista uma certa diferença topográfica, estando a Estação Climatológica situada num ponto mais elevado e exposto e o Rio Febros numa situação mais baixa e, por isso, mais protegida a nível de ventos, consideram-se os valores seguintes como valores de referência para a área:

- As temperaturas médias mensais são sempre positivas e variam entre os 9,3 °C e os 20,2 °C;
- As temperaturas extremas variam entre -3,3 °C e 38,7 °C, sendo que raramente as temperaturas mínimas são inferiores a 0 °C;
- A precipitação média anual total é de cerca de 1250 mm
- A precipitação média mensal varia entre 18,3 mm e 194,7 mm

A análise da variação da temperatura ao longo do ano demonstra que janeiro é o mês com as temperaturas médias mais baixas rondando os 9,3 °C, enquanto julho é o mês com as temperaturas médias mais altas com um valor de 20,2 °C. Assim, verifica-se que a amplitude térmica anual é pequena, por volta dos 11 °C.

Apesar do clima ameno observado, cuja temperatura média ronda os 15 °C, existem valores extremos no que se refere às temperaturas baixas e às temperaturas altas. Deste modo, estão registados dias com temperaturas mínimas inferiores a 0 °C, principalmente nos meses de dezembro e janeiro, enquanto que as temperaturas máximas podem chegar a valores médios superiores a 30 °C, essencialmente nos meses de julho e agosto.

Quanto à precipitação, os meses com maior valor de precipitação são novembro e dezembro com valores médios de 158,4 mm e 194,7mm, respetivamente, enquanto que os meses mais secos são julho e agosto com 18,3 mm e 26,7 mm, respetivamente. Com os dados disponíveis, que compreendem o período entre 1971 e 2000, é possível

constatar que o ano com menor valor de precipitação média foi 1977 com 179,1 mm e ano com maior valor médio foi 1975 com 875,1 mm.

Relativamente à ocorrência de nevoeiros, verifica-se que o número médio anual de dias em que este fenómeno ocorre ronda os 120 dias, sendo que a sua distribuição é relativamente frequente ao longo de todo o ano, com um valor mínimo nos meses de maio e junho e um valor máximo nos meses de outubro e dezembro. A origem destes nevoeiros é diversa e a proximidade da área de estudo ao Oceano Atlântico e, em menor escala, ao Rio Douro, explica a frequência e a distribuição relativamente uniforme deste fenómeno.

2.1.2- Flora

As margens do rio Febros possuem, em termos de comunidades florísticas, uma heterogeneidade marcante. Existem zonas em que a vegetação se encontra extremamente intervencionada, quer através da prática do cultivo agrícola (onde plantações de milho e de hortícolas, principalmente, substituem zonas de vegetação autóctone de crescimento espontâneo), quer pela limpeza mecânica e química desregrada das margens do rio ou ainda pela regularização do canal do rio (existem troços em que as margens foram emparedadas, ou ainda troços onde existem açudes que aumentam a turbulência das águas) sendo, por isso, raramente possível identificar as formações naturais presentes.

No entanto, existem áreas onde ainda podem ser encontradas intactas comunidades naturais com elevado valor de conservação, nomeadamente trechos ao longo do rio onde predominam as galerias ripícolas em que as principais espécies arbóreas são o choupo-negro (*Populus nigra*), choupo-branco (*Populus alba*), o freixo (*Fraxinus angustifolia*), o ulmeiro (*Ulmus Procera*), os salgueiros (*Salix atrocinerea*), sabugueiros (*Sambucus nigra*) e principalmente amieiros (*Alnus glutinosa*) (Silva 2006). Além destas espécies ripícolas, também outras espécies arbóreas autóctones podem ser encontradas ao longo das margens do rio Febros, como por exemplo o medronheiro (*Arbutus unedo*), o loureiro (*Laurus nobilis*), o carvalho-alvarinho (*Quercus rubur*), o sobreiro (*Quercus uber*), o castanheiro (*Castanea sativa*), o teixo (*Taxus baccata*) e o azevinho (*Ilex aquifolium*). Além de espécies de porte arbóreo, também podem ser encontrados nas margens e leito do rio Febros variadas espécies de plantas aquáticas e semiaquáticas, como os juncos (*Juncus* sp), as tábua-larga (*Thypha latifolia*), o lírio-

amarelo (*Iris pseudocorus*) e diversas espécies herbáceas e de plantas de porte arbustivo, como os fetos (exemplo do feto-real (*Osmunda regalis*) e as silvas (*Rubus* sp).

2.1.3- Pontos de Amostragem

Numa primeira fase do trabalho, foram prospetadas as características de certos troços do rio, nomeadamente a acessibilidade, condições da galeria ripícola e o tipo de habitats envolventes com a finalidade de serem selecionados troços, representativos das características do rio e que reunissem as condições necessárias para a aplicação das metodologias propostas. Foram selecionados nove troços com, sempre que possível 200 metros de extensão (Tabela 2 e Figura 10), sendo que dois deles se encontram dentro dos limites do Parque Biológico de Gaia (PB2 e PB1), três encontram-se a jusante deste (Ou, Ma e PB3) e quatro a montante (PP, CD, TB e TC).



Figura 10 - Contextualização geográfica dos pontos de amostragem

Tabela 2- Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem

<i>SIGLA</i>	<i>NOME</i>	<i>LATITUDE</i>	<i>LONGITUDE</i>	<i>SECTOR</i>
<i>Ou</i>	Outeiro	41.117369	- 8.569867	I
<i>Ma</i>	Mata	41.109155	-8.562722	I
<i>PB3</i>	Trilho Febros	41.101853	- 8.560786	II
<i>PB2</i>	Parque Biológico 2	41.099291	- 8.559818	II
<i>PB1</i>	Parque Biológico 1	41.097018	- 8.558000	II
<i>PP</i>	Ponte Pereiro	41.088595	- 8.548965	II
<i>CD</i>	Casal Drijó	41.079207	- 8.536504	II
<i>TB</i>	Tabosa Baixo	41.056151	- 8.534065	III
<i>TC</i>	Tabosa Cima	41.053418	- 8.542003	III

2.2- Métodos de estudo

2.2.1- Armadilhagem

O número de dias em que uma campanha de armadilhagem é realizada vai depender do objetivo do estudo. No entanto, segundo Gurnell & Flowerdew (1990), os resultados obtidos de longos períodos de amostragem podem estar influenciados pela movimentação dos animais, tanto dentro como fora da área da amostragem e, assim, conduzir a estimativas enviesadas. Segundo os mesmos autores, o período mínimo recomendável em que métodos de armadilhagem com sistema captura-marcação-recaptura devem ser realizados é de três dias e três noites em cada amostragem. Assim, para o nosso estudo a armadilhagem foi realizada em duas sessões na altura do Outono, durante novembro e dezembro de 2018, e na altura da Primavera, durante abril e maio de 2019. No Outono, a armadilhagem foi levada a cabo durante três semanas, onde em cada semana foram amostrados três pontos, enquanto que na altura da Primavera a armadilhagem foi realizada durante quatro semanas em que foram amostrados quatro pontos nas primeiras duas semanas e cinco pontos nas últimas duas semanas. Em todas as semanas, a amostragem foi realizada durante quatro dias e quatro noites.

O número de armadilhas utilizadas por ponto de amostragem variou entre 7 e 20, uma vez que o tamanho e área favorável aos trabalhos também variavam de troço para troço. Também de acordo com as características do local, as armadilhas foram dispostas em

linha numa margem do rio ou em linha nas duas margens do rio. Foram utilizadas armadilhas Sherman de dois tamanhos diferentes, 8x9x23 cm e 10x11x38 cm, que corresponde ao tamanho médio e grande e que são destinados à captura de diferentes espécies. Os diferentes tamanhos de armadilha foram dispostos de modo intercalado, com o esquema grande-média-média, e intervalados em 10 metros, tentando sempre que estas fossem colocadas junto a locais com indícios de presença de pequenos mamíferos como túneis, tocas, vegetação cortada ou dejetos.

O processo de armadilhagem começou com um período de três noites consecutivas de pré-iscagem, onde as armadilhas foram colocadas fechadas no local de amostragem com uma pequena quantidade de alimento no seu exterior. Com isto pretende-se que os animais se sintam mais familiarizados com a presença da armadilha no local e, assim, aumentar a probabilidade de captura.

Após o período de pré-iscagem, as armadilhas foram abertas e no seu interior foram colocados pedaços de maçã e uma mistura de flocos de aveia com sardinha enlatada. Estes servem a dupla função de realizar a manutenção vital dos indivíduos capturados, mantendo-os alimentados e com energia, e de servir de isco atraindo os animais pelo odor. Além disto, também foi colocado algodão cardado cru que serve para manter o conforto térmico dos animais, evitando que estes morram de hipotermia até à vistoria das armadilhas.

As armadilhas, durante o período de amostragem, foram verificadas diariamente ao início da manhã e a meio da tarde. Quando se verificou a presença de um animal capturado, este foi cuidadosamente transferido para um saco plástico transparente onde foi identificada a espécie a que pertence e se pesou o indivíduo com o auxílio de um dinamómetro. Em seguida, o animal foi processado obtendo-se os comprimentos do corpo, da cauda, da pata e da orelha de acordo com a Figura 11.

Também foi verificado o sexo do animal e o seu estado reprodutivo.

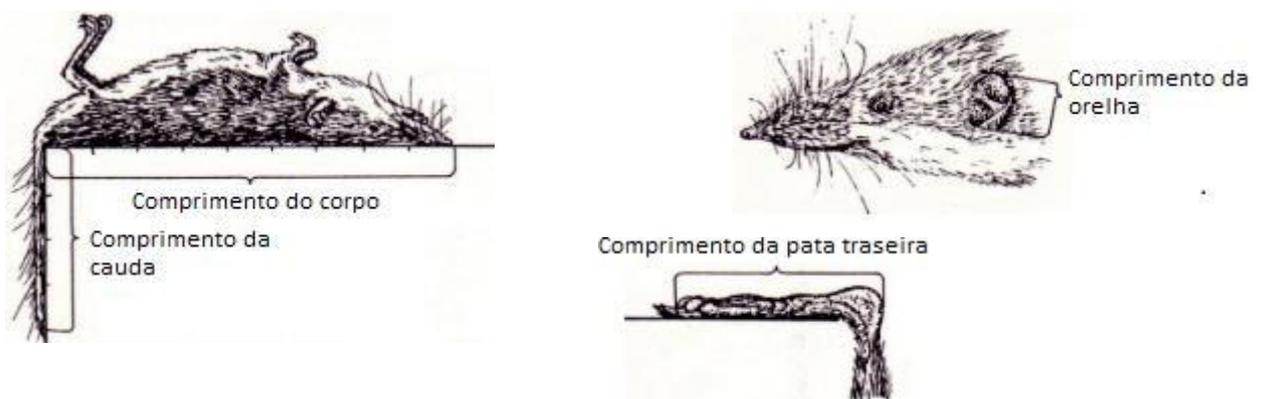


Figura 11 - Detalhe de como realizar a medição morfológica. Adaptado de Boyer (1994)

Para finalizar o processamento dos animais, foi retirada uma pequena amostra de tecido da orelha do indivíduo, que fica conservada num tubo com uma solução de álcool etílico a 98%, e cortou-se um pedaço de pelo numa zona específica. Estas duas ações servem como marcação do indivíduo para, caso haja recaptura, através da conjugação orelha esquerda/direita cortada e da zona do corpo com pelo cortado, ser possível identificar de que indivíduo se trata.

Por fim, o animal foi libertado no local de captura.

2.2.2- *Camera trapping*

O método de *camera trapping* foi levado a cabo dentro do Parque Biológico de Gaia. Para isso, foram analisados os melhores locais para a colocação das câmaras uma vez que teriam de ser colocadas em algum suporte, não podiam estar demasiado perto do rio para não haver o risco de estas ficarem submersas em situação de chuva e ainda serem colocadas de forma a serem capturadas imagens tanto de zonas terrestres como aquáticas (Figura 12).

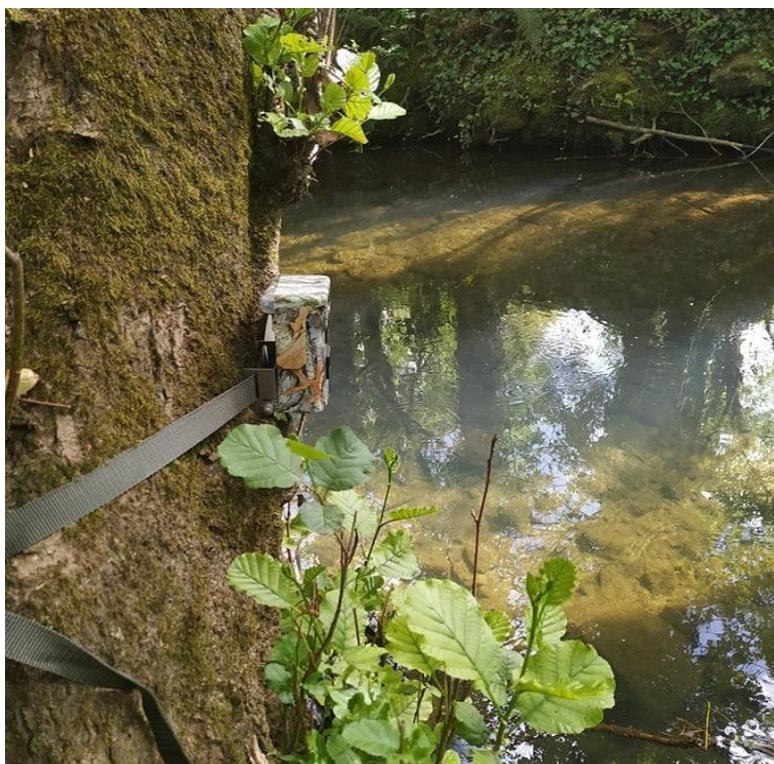


Figura 12 – Câmara instalada nas margens do Rio Febros, dentro do Parque Biológico de Gaia

Assim, foi utilizado um total de quatro câmaras, distribuídas pelo Parque (Figura 13) e colocadas nas margens do Rio Febros durante um período de cerca de quatro meses, entre março e julho de 2019, sendo verificadas e fazendo-se o download das imagens, sempre que possível semanalmente.



Figura 13 - Localização das *camera traps* no Parque Biológico de Gaia

O modelo utilizado foi o DEFEND 850 da Browning Trail Cameras, e as definições foram escolhidas de forma a serem obtidas fotos com 20 MP de qualidade, 6 fotos rápidas com espaçamento de 20 segundos entre elas evitando-se, desta forma, ocupar a memória da câmara com um excesso de registos do mesmo animal. O flash foi definido para ser de grande alcance, uma vez que duas das quatro câmaras utilizadas estavam colocadas de forma a obter imagens da margem do rio oposta à que se encontravam.

2.2.3- Prospeção de indícios de presença

De forma a complementar o estudo dos pequenos mamíferos, foi realizada uma prospeção das margens do Rio Febros dentro dos limites do Parque Biológico de Gaia. Este método permite obter indícios de presença dos animais e é um método complementar que pode permitir encontrar informação de espécies que não foram detetadas através dos demais métodos utilizados. É também o método mais adequado

para a detecção de *Galemys pyrenaicus*.

Esta prospeção ocorreu no mês de março de 2019. Foram percorridos cerca de 500 metros de rio entre os pontos de amostragem PB1 e PB2 no sentido montante-jusante, onde foram procurados indícios de presença, nomeadamente excrementos. Estes foram conservados em tubos com álcool etílico a 98%.

2.2.4- Hair trapping

Este método foi aplicado em apenas dois pontos existentes dentro do Parque Biológico, nomeadamente o PB1 e o PB2, durante duas semanas, em maio de 2019. Foram colocados 10 conjuntos de três *hairtraps*, em cada ponto, com 20 metros de espaçamento, num total de 60 tubos.

O *design* das *hair traps* consistiu em tubos de PVC com 15 cm de comprimento e com três diâmetros exteriores diferentes: 90 mm, 50 mm e 32 mm. Dentro destes tubos foi colocada na parte superior, no sentido do comprimento, fita-cola com a parte adesiva direcionada para dentro do tubo, tal como idealizado por Suckling (1978), de modo a que cerca de 1/3 do perímetro do tubo fosse revestido a fita-cola. Os tubos foram colocados na área de amostragem em grupos de três, correspondendo um tubo por cada diâmetro disponível.

Na primeira semana, as *hair traps* foram colocadas sem qualquer tipo de iscagem mas, verificando o insucesso desta metodologia, na segunda semana todos os tubos foram iscados com pedaços de maçã e, apenas nas *hair traps* de menor tamanho, mistura de sardinha enlatada com flocos de aveia.

No final de cada semana de amostragem, no local, foram recolhidos os excrementos que se encontravam dentro dos tubos e armazenados em tubos com álcool etílico a 98%. Também foram recolhidos os pedaços de fita-cola que claramente apresentavam pelos colados, sendo estes armazenados em tubos Falcon com álcool etílico a 98%, enquanto que os restantes tubos foram analisados em laboratório de modo a descartar a existência de mais amostras de pelo que não foram observadas no campo.

De forma a evitar a contaminação das amostras com ADN foram utilizadas luvas de latex aquando da montagem e manuseamento das armadilhas, bem como aquando da obtenção das amostras de pelos. Também foi tido cuidado de forma a não haver contacto de cabelos ou pelos humanos com as fitas-cola. O material utilizado,

nomeadamente pinça e tesoura, foram esterilizados entre utilizações.

2.3- Análise molecular para identificação de espécies

2.3.1- Amostras de excrementos

As amostras de excrementos recolhidas no decurso do trabalho foram submetidas a análise genética com a finalidade de proceder à identificação da espécie a que pertenciam. Para isso, foram, inicialmente, sujeitas a extração de ADN usando o kit comercial E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit (OMEGA Bio-tek), seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante, mas incluindo um passo adicional inicial de digestão com o *buffer* de lavagem/lise descrito em Maudet *et al.* (2004) durante 30 min a 56°C. Adicionalmente os passos de centrifugação das colunas de extração para limpeza do ADN foram substituídos pela utilização do QIAVAc 24 Plus da Qiagen ligado à bomba de vácuo do mesmo fabricante. No final, foram realizadas duas eluições do ADN em 50ul de *Elution Buffer*.

As eluições resultantes contendo o ADN extraído das amostras de excrementos foram, então, sujeitas a um PCR (*Polymerase Chain Reaction*) usando um par de *primers* universais, que amplificam um elevado número de espécies de diferentes grupos taxonómicos (~390bp; Cytb2-F (adaptado de H15149a; Kocher *et al.* 1989) e CB3-H (Palumbi 1996)) seguida uma eletroforese em gel de agarose para avaliar se existiu uma boa amplificação do ADN extraído. Seguidamente, o produto da amplificação foi submetido a uma limpeza enzimática, utilizando o protocolo ExoSAP-IT (ThermoFisher) onde a enzima exonuclease I remove o excesso de primers, que poderão ter ficado nos tubos depois do PCR, e a enzima Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) remove os dNTP's que não terão sido utilizados na extensão das novas cadeias de ADN aquando do PCR. Finalmente realizou-se a reação de sequenciação de acordo com o protocolo BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) que consiste, resumidamente, numa reação de PCR onde existe a incorporação de dNTP's com fluorescência na cadeia de ADN resultante. Em seguida, os produtos foram submetidos a uma limpeza utilizando o protocolo SEPHADEX, em que existe uma filtração e purificação do ADN através de uma substância resinosa e, por fim, os fragmentos de ADN foram separados por eletroforese capilar num sequenciador automático (3130xl Genetic Analyser, Applied Biosystems). Os cromatogramas

resultante da sequenciação foram editados e alinhados com recurso ao programa Geneious Pro 10.2.6 (Biomatters, Auckland, New Zealand) e as amostras foram identificadas até à espécie com recurso a uma ferramenta de busca de similaridade entre sequências biológicas a partir de uma base de dados internacional de referência (NCBI Nucleotide BLAST).

Nas situações cujos resultados de amplificação e/ou sequenciação foram negativos e/ou inconclusivos, e para avaliar a potencial presença de Toupeira-de-água na área de estudo, as amostras foram submetidas a uma segunda reação de amplificação, usando um par de primers específicos para amplificação de Toupeira-de-água (~280bp; Igea et al., 2013).

2.3.2- Amostras de pelos e tecidos da orelha

Para além das amostras de excrementos recolhidas, foi também obtido uma pequena amostra de tecido da orelha de alguns dos animais capturados para confirmação da identificação morfológica. Estes tecidos, juntamente com as amostras de pelo obtido no *hair trapping*, foram sujeitos a um método de extração em colunas do kit EasySpin seguindo o protocolo de extração de tecido/sangue fornecido pelo fabricante. Os procedimentos seguintes foram os mesmos utilizados nas amostras de excrementos, ou seja: eletroforese em gel de agarose, PCR (para os tecidos foram usados os *primers* L14727-SP e H15915, Jaarola & Searle, 2002, e, para os pelos, os *primers* CytbF2S e CytbR2S, Barbosa et al. 2013), eletroforese em gel de agarose, limpeza enzimática ExoSAP, reação de sequenciação, limpeza por SEPHADEX e sequenciação. Os cromatogramas obtidos foram editados e alinhados com recurso ao programa Geneious Pro 10.2.6 (Biomatters, Auckland, New Zealand) e as amostras foram identificadas até à espécie com recurso a uma ferramenta de busca de similaridade entre sequências biológicas a partir de uma base de dados internacional de referência (NCBI Nucleotide BLAST).

2.4- Ocupação de solo dos pontos de amostragem

A ocupação dos solos nos pontos de amostragem foi obtida através da análise da Carta de Ocupação de Solo (COS) de 2015, das imagens de satélite e de confirmação no campo utilizando o QGIS 3.8.0 Zanzibar. Para tal, foi considerado um raio de 250 metros

à volta dos pontos de amostragem (Figura 14). As classes de ocupação de solo existentes nestes buffers foram posteriormente reorganizadas em 8 grandes classes de ocupação de solo: vegetação herbácea natural, áreas humanizadas, corpos de água, áreas agrícolas, florestas de eucaliptos, florestas de pinheiro bravo e florestas de outras folhosas e matos.



Figura 14 – Diferentes classes de ocupação de solo (representadas a diferentes cores) e buffer de 250 metros à volta do ponto de amostragem PB1 (círculo amarelo)

2.5- Tratamento de dados

2.5.1- Análise dos dados da armadilhagem

Através da armadilhagem foi possível obter, além de amostras biológicas, dados de indivíduos de diferentes espécies. Foi calculado, para cada ponto amostragem em cada sessão, o esforço de armadilhagem através da equação:

$$\text{esforço de armadilhagem} = n^{\circ} \text{noites amostragem} \times n^{\circ} \text{total armadilhas}$$

e o sucesso de captura, também calculado para cada ponto de amostragem em cada sessão, através da equação:

$$\text{sucesso de captura} = \frac{n^{\circ} \text{capturas}}{\text{esforço de armadilhagem}}$$

Também para cada local de amostragem por cada sessão, foi calculado o Índice de Shannon-Wiener (H'), que nos indica a diversidade de espécies capturadas através da técnica de armadilhagem:

$$H' = - \sum_{i=1}^S pi \ln pi$$

Onde $pi = \frac{ni}{N}$, sendo que ni corresponde ao número de indivíduos de cada espécie e N corresponde ao número total de todos os indivíduos capturados. Este índice foi calculado no Software R 3.6.1, utilizando o pacote Vegan 2.5.6 (Oksanen *et al.* 2019) e a função “*diversity*”.

2.5.2- Análise dos dados de *camera trapping*

As imagens recolhidas pelas câmaras foram analisadas de forma a serem guardadas apenas aquelas que apresentavam indivíduos do nosso grupo alvo, ou seja, de pequenos mamíferos. Desta forma, foram eliminadas todas as imagens referentes a outras espécies animais, à exceção das imagens de lontra-europeia (*Lutra lutra*), e as que tinham sido obtidas pela movimentação da vegetação pelo vento. De forma a uniformizar os procedimentos, imagens que fossem obtidas com um intervalo de no máximo dez minutos e que aparentassem ser de um mesmo indivíduo, foram contabilizadas como sendo pertencentes a apenas um indivíduo.

De forma a estimar a taxa de captura obtida através da armadilhagem fotográfica, foi calculada a taxa de captura para cada câmara:

$$taxa\ de\ captura = \frac{n^{\circ}\ capturas}{n^{\circ}\ total\ de\ noites\ de\ captura}$$

Além disso, foi também calculado o Índice de Diversidade de Shannon-Wiener, que indica a diversidade de espécies registadas no total de todas as *camera traps*:

$$H' = - \sum_{i=1}^S pi \ln pi$$

Onde $pi = \frac{ni}{N}$, sendo que ni corresponde ao número de indivíduos de cada espécie e N corresponde ao número total de todos os indivíduos registados. Este índice foi calculado

no Software R 3.6.1 (R Core Team 2019), utilizando o pacote Vegan 2.5.6 (Oksanen *et al.* 2019) e a função “*diversity*”.

2.5.3- Análise estatística da correlação entre a ocupação do solo e outras variáveis

Foi testada a normalidade dos valores do sucesso de captura total em cada ponto de amostragem, do sucesso de captura da espécie mais abundante, da riqueza específica em cada ponto de amostragem, do Índice de Shannon-Wiener de cada ponto de amostragem e da ocupação de solo de cada ponto. Apenas foram utilizados os valores referentes à primeira sessão de armadilhagem uma vez que na segunda não foram amostrados todos os pontos. Este teste foi feito com recurso ao Software R 3.6.1, utilizando o pacote Stats 3.6.1 (R Core Team 2019) e a função “*shapiro.test*”, realizando assim um teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

Deste modo, e verificando que a maioria das variáveis não segue uma distribuição normal, foram realizados testes de correlação de Spearman para identificar correlações significativamente relevantes entre as variáveis relacionadas com os pequenos mamíferos (sucesso de captura da espécie mais abundante em cada ponto de amostragem (AS), sucesso de captura total em cada ponto de amostragem (ALL), riqueza específica em cada ponto de amostragem (Sprish), Índice de Shannon-Wiener de cada ponto de amostragem (Shannon) e as diferentes categorias de ocupação de solo. O teste de correlação de Spearman foi efetuado no Software R 3.6.1, utilizando o pacote Stats 3.6.1 (R Core Team 2019) e a função “*cor.test*”.

3. Resultados

3.1- Armadilhagem: Diversidade e sucesso de captura de pequenos mamíferos

Durante as sessões de armadilhagem foram capturados 80 indivíduos pertencentes a 6 espécies diferentes e a 2 ordens. Da ordem Rodentia foram capturados indivíduos das espécies: rato-das-hortas (*Mus spretus*), rato-do-campo (*Apodemus sylvaticus*), rato-preto (*Rattus rattus*), ratazana-castanha (*Rattus norvegicus*) e rato-cego (*Microtus*

lusitanicus) enquanto que na ordem Eulipotyphla apenas foram capturados musaranhos-de-dentes-brancos (*Crocidura russula*; Tabela 3).

Tabela 3 -Número de indivíduos capturados (I) e número total de capturas (T) (capturas+recapturas), ambas apresentadas para cada espécie e para cada local

Locais	<i>R. rattus</i>		<i>R. norvegicus</i>		<i>M. spretus</i>		<i>A. sylvaticus</i>		<i>C. russula</i>		<i>M. lusitanicus</i>		Total	
	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T
PB1	0	0	1	1	0	0	17	40	0	0	0	0	18	41
PB2	0	0	0	0	0	0	8	12	0	0	1	1	9	13
PB3	2	2	0	0	0	0	14	19	3	3	0	0	19	24
PP	0	0	0	0	4	4	4	4	0	0	0	0	8	8
CD	0	0	0	0	1	1	5	5	0	0	0	0	6	6
TB	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	3	3
Ou	0	0	0	0	3	6	4	5	0	0	0	0	7	11
Ma	1	1	3	6	1	1	0	0	0	0	0	0	5	8
TC	0	0	0	0	0	0	5	5	0	0	0	0	5	5
Total	3	3	4	7	10	13	58	91	4	4	1	1	80	119

As análises moleculares efetuadas às onze amostras de tecido obtidas dos indivíduos capturados confirmaram as identificações morfológicas dos mesmos que tinham sido realizadas em campo e as duas amostras de excrementos permitiram a identificação adicional de duas capturas de *A. sylvaticus*. A espécie com maior número de indivíduos capturados foi *Apodemus sylvaticus* com 58 indivíduos, o que corresponde a 72,5% das capturas, e, a espécie *Microtus lusitanicus* foi a capturada com menor frequência, com apenas uma captura que se traduz em 1,25% das capturas. A riqueza específica, por local, variou entre 0 e 3 espécies na primeira sessão de amostragem enquanto na segunda sessão a riqueza específica (S) foi igual a 2 para todos os pontos. O sucesso de captura, na primeira sessão, foi superior no ponto Ma (sucesso de captura= 4,1667) e menor no ponto PB2 (sucesso de captura=0,6494), enquanto que na segunda sessão o maior valor de sucesso de captura se verificou no ponto PB1 (sucesso de captura= 1,1719) e o menor valor no ponto PB2 (sucesso de captura= 0,7056; Tabela 4).

Tabela 4 - Esforço de armadilhagem (armadilhas-noite), sucesso de captura (capturas/noite-armadilha x 100), riqueza específica (S) e Índice de Shannon-Wiener (H') para cada ponto de amostragem em cada sessão de armadilhagem

	Esforço de armadilhagem		Sucesso de captura		S		H'	
	1ª sessão	2ª sessão	1ª sessão	2ª sessão	1ª sessão	2ª sessão	1ª sessão	2ª sessão
	Ou	240	800	0	0,875	0	2	0
PB1	320	1280	0,9375	1,1719	1	2	0	0,245
PB2	308	992	0,6494	0,7056	1	2	0	0,410
PB3	320	1280	1,5625	1,0938	3	2	1,055	0,410
PP	180	-	3,3333	-	2	-	0,693	-
CD	180	-	3,3333	-	2	-	0,451	-
TB	120	-	1,6667	-	3	-	1,099	-
Ma	180	-	4,1667	-	3	-	0,950	-
TC	160	-	1,8750	-	1	-	0	-

Inicialmente, pretendia-se com este trabalho avaliar a variação sazonal da diversidade de pequenos mamíferos na área, pelo que foram realizados dois períodos de amostragem, um na altura da Primavera e outra na altura do Outono. No entanto, na segunda sessão de armadilhagem, houve vários fatores que impossibilitaram a amostragem de cinco dos pontos analisados no Outono (PP, CD, TB, Ma e TC). No ponto TB, durante o período de pré-iscagem grande parte das armadilhas que se encontravam colocadas foram furtadas, tendo sido decidido eliminar este ponto do período de amostragem. No ponto Ma, durante o período de pré-iscagem, a quase totalidade das armadilhas foram destruídas aquando do controlo mecânico de erva-das-pampas (*Cortaderia selloana*). Os outros pontos, TB, CD e TC, foram amostrados mas os dados e amostras biológicas obtidos foram furtados. Assim sendo, apenas foi possível realizar a comparação sazonal dos resultados em quatro dos pontos de amostragem (Ou, PB1, PB2 e PB3; Figura 15).

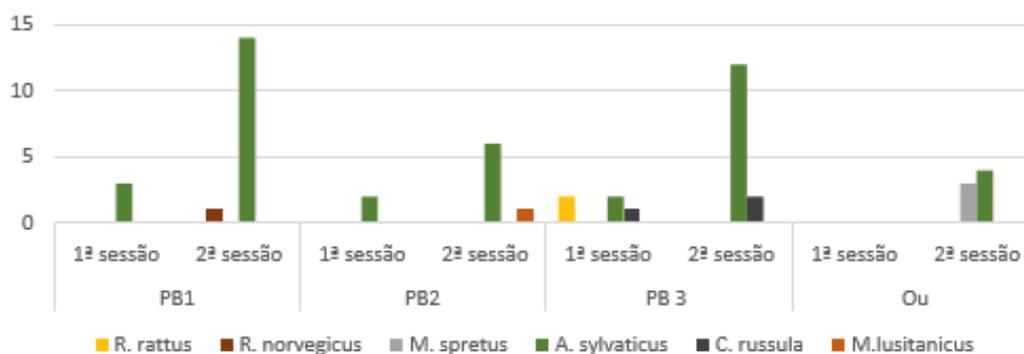


Figura 15 - Número de capturas de cada espécie em cada sessão de armadilhagem, nos quatro pontos amostrados nas duas sessões

É possível observar que no ponto PB3 o número de espécies diminuiu da primeira para a segunda sessão, enquanto o número de espécies aumentou nos pontos PB2, PB1 e Ou, apesar de no ponto Ou não ter havido qualquer captura na primeira sessão. Esta variabilidade do número de espécies reflete-se também no índice de diversidade de Shannon-Wiener (H'), para o qual se obtiveram valores de 0 para os pontos PB1, PB2 e Ou e 1,0549202 para o ponto PB3 na primeira sessão de amostragem e os valores de 0,24493 para o PB1, 0,4101163 para PB2 e PB3 e 0,6829081 para Ou, na segunda sessão de amostragem (Tabela 4). A diminuição da riqueza e da diversidade no ponto PB3 não indica, no entanto, uma diminuição real da riqueza mas sim, provavelmente, uma não deteção de todas as espécies, enquanto que o aumento da diversidade na segunda sessão nos pontos PB2, PB1 e Ou poderá indicar um aumento da detetabilidade das espécies.

No geral, o número de indivíduos capturados aumentou na segunda sessão de amostragem, mas isto não corresponde necessariamente a uma maior abundância uma vez que o esforço de armadilhagem na segunda sessão foi superior. Desta forma, para uniformizar os resultados das duas sessões, foi calculado o sucesso de captura por espécie por sessão (Figura 16).

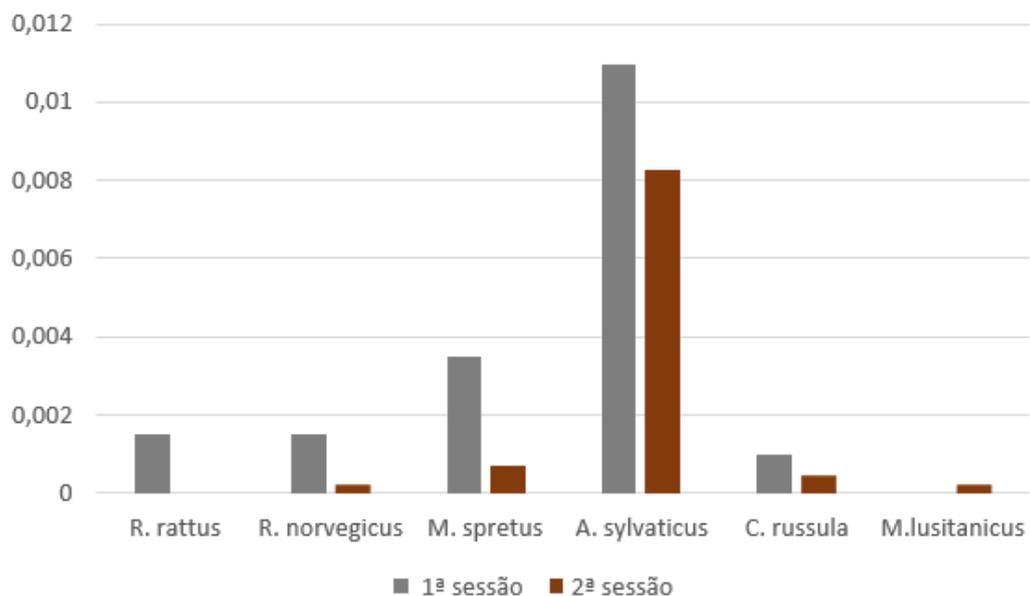


Figura 16 - Sucesso de captura por espécie por sessão, com base nas capturas obtidas nos quatro pontos amostrados nas duas sessões

Com base neste parâmetro, observou-se que, apesar do aumento do número de capturas na segunda sessão, o sucesso de capturas por espécie no geral decresceu para todas as espécies capturadas.

No geral, o valor do esforço de armadilhagem teve o seu máximo nos pontos PB1 e PB3 (1280 armadilhas-noite), ambos na segunda sessão, e o mínimo no ponto TB, na 1ª sessão, com 120 armadilhas-noite (Tabela 4).

3.2- Prospecção de indícios de presença e *hair trapping*

Durante a prospecção de indícios de presença foram recolhidas dezoito amostras de excrementos cuja identificação demonstrou pertencerem a três grupos diferentes de animais: mamíferos, aves e répteis. De pequenos mamíferos uma amostra foi identificada como *Apodemus sylvaticus*, quatro como *Rattus norvegicus*, uma *Rattus sp* (não foi possível confirmar a que espécie pertencia), e duas a *Crocidura russula* (Tabela 5). Em cinco amostras não foi possível a identificação da espécie com os primers gerais, uma vez que os cromatogramas resultantes da sequenciação se tornaram inconclusivos. Quando testada a amplificação com os primers específicos para a toupeira-de-água, os resultados obtidos foram negativos.

Tabela 5- Identificação das espécies às quais correspondem as amostras obtidas através da prospecção de indícios de presença, correspondendo NI a amostras para as quais a identificação da espécie não foi possível

Código da amostra	Identificação da espécie
PB1 2019	<i>Apodemus sylvaticus</i>
PB2 2019	<i>Turdus philomelos</i>
PB3 2019	<i>Turdus merula</i>
PB4 2019	<i>Rattus norvegicus</i>
PB4.1 2019	<i>Rattus norvegicus</i>
PB5 2019	<i>Crocidura russula</i>
PB6 2019	<i>Turdus merula</i>
PB7 2019	NI
PB8 2019	<i>Rattus sp</i>
PB9 2019	<i>Crocidura russula</i>
PB10 2019	<i>Rattus norvegicus</i>
PB11 2019	<i>Rana iberica</i>
PB12 2019	NI
PB13 2019	<i>Rattus norvegicus</i>

Os mamíferos do Rio Febros: estado atual e medidas de conservação das espécies vulneráveis

PB14 2019	NI
PB15 2019	NI
PB16 2019	NI
PB17 2019	<i>Turdus merula</i>

Das sessenta armadilhas colocadas, dezoito *hair traps* (30%) registaram indícios de presença de pequenos mamíferos, tendo sido recolhidas nove amostras de pelo, sete amostras de excrementos (Tabela 6) e sete amostras de urina que não foram testadas. Das amostras de pelo, duas foram identificadas como pertencentes a *A. sylvaticus* e uma a *M. lusitanicus*, enquanto duas foram contaminadas aquando o manuseamento das armadilhas de pelo e deram resultado positivo para ADN de *Homo Sapiens*. No que se refere às amostras de excrementos não foi possível obter a identificação da espécie em nenhuma amostra.

Tabela 6- Identificação das espécies às quais correspondem as amostras obtidas através do hair trapping (* - falharam a sequenciação, NI- não foi possível identificar a espécie)

Código da amostra	Tipo de amostra	Identificação da espécie
HT1	Excrementos	*
HT2	Excrementos	*
HT3	Excrementos	*
HT4	Excrementos	*
HT5	Excrementos	*
HT6	Excrementos	NI
HT7	Excrementos	*
HT8	Pelos	<i>Microtus lusitanicus</i>
HT9	Pelos	NI
HT10	Pelos	*
HT13	Pelos	<i>Homo sapiens</i>
HT14	Pelos	*
HT15	Pelos	<i>Apodemus sylvaticus</i>
HT16	Pelos	<i>Homo sapiens</i>
HT17	Pelos	*
HT18	Pelos	<i>Apodemus sylvaticus</i>

3.3- Camera trapping

Durante os cerca de quatro meses de camera trapping foram obtidas mais de três mil imagens que, depois de tratadas, resultaram nos números de imagens indicados na Tabela 7. No total, foram obtidos dezassete registos de lontra (*Lutra lutra*) que, possivelmente correspondem a, no mínimo, dois indivíduos uma vez que este foi o número máximo de indivíduos capturados numa mesma fotografia. Esta espécie foi registada em dois locais distintos, a cerca de 400 metros um do outro.

Tabela 7 - Número de registos fotográficos por espécie e Índice de Shannon-Wiener (H') em cada camera trap (excluindo os dados pertencentes a *Rattus* sp e Não identificados)

	45B5	966D	C086	5068	45B5 (2)	TOTAL
<i>Rattus</i> sp	47	0	24	36	3	110
<i>Rattus rattus</i>	6	0	6	23	0	35
<i>Rattus norvegicus</i>	5	2	3	34	2	46
<i>Apodemus sylvaticus</i>	0	0	0	0	6	6
<i>Lutra lutra</i>	11	0	0	6	0	17
Não identificados	0	0	6	2	3	11
H'	1,0377	0,0000	0,6365	0,9247	0,5623	-
TOTAL	69	2	39	101	14	225

Pelas características morfológicas e pela existência de alguns registos fotográficos diurnos, foi possível reconhecer cerca de trinta e cinco fotografias pertencentes a *R. rattus*, quarenta e seis fotografias a *R. norvegicus* e cento e dez pertencentes ao género *Rattus* sem que, no entanto, fosse possível identificar a espécie. Além destes, foram identificados seis registos pertencentes a *A. sylvaticus* e onze registos de pequenos-mamíferos dos quais não foi possível confirmar a espécie (Tabela 7).

É importante referir que estes números indicados na Tabela 7 poderão não ser equivalentes ao número de indivíduos responsáveis pelos registos fotográficos, uma vez que os indivíduos não possuíam qualquer tipo de marcação que permitisse identificar os indivíduos nas diferentes fotografias. No entanto, o Índice de Shannon-Wiener, para cada câmara, foi calculado assumindo que cada registo fotográfico se assume como um indivíduo diferente, considerando apenas os registos identificados até à espécie. Assim, a câmara que registou uma maior diversidade (H'= 1,0377) foi a 45B5, resultante de

sessenta e nove capturas de três espécies distintas, e a câmara que registou um menor valor de diversidade foi a 966D ($H' = 0,000$), com dois registos fotográficos de apenas uma espécie.

3.4- Efeito do tipo de ocupação do solo na diversidade

De forma a melhor compreender as diferentes ocupações do solo em cada ponto de amostragem, as percentagens das mesmas foram traduzidas na Figura 17.

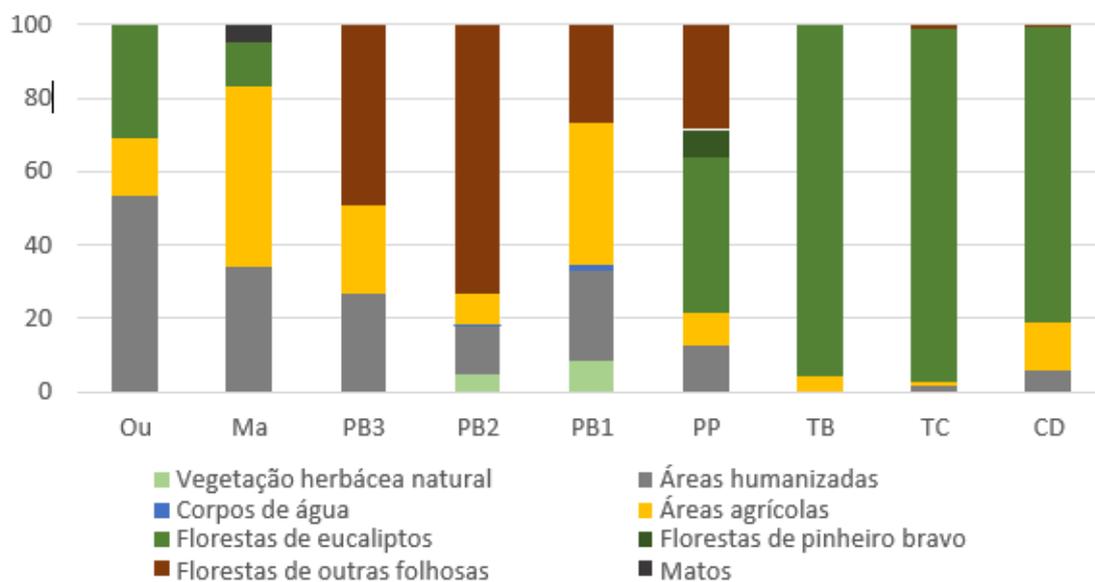


Figura 17- Percentagem das classes de ocupação do solo nos diferentes pontos amostrados

De forma geral, as classes de ocupação de solo com maior expressão são as florestas de eucalipto, as florestas de outras folhosas, as áreas agrícolas e as áreas humanizadas.

É importante referir a grande percentagem ocupada por florestas de folhosas na zona do Parque Biológico de Gaia (PB1 e PB2) e nos pontos mais próximos a este, nomeadamente o PB3 a jusante e o PP a montante em detrimento dos outros pontos de amostragem.

Também se verifica uma percentagem bastante elevada de ocupação por florestas de eucaliptos, principalmente nas zonas a montante do Parque Biológico de Gaia.

As análises de correlação entre a abundância e diversidade de pequenos mamíferos e

as diferentes categorias de ocupação do solo demonstraram não existir qualquer relação significativa entre estes ($p > 0,05$; Tabela 8).

Tabela 8 – Valores de ρ resultantes do teste de correlação de Spearman entre as variáveis referentes aos pequenos mamíferos (ALL= sucesso de captura total, AS= sucesso de captura da espécie mais abundante, Sprich= riqueza específica, Shannon= Índice de Shannon-Wiener) e as diferentes percentagens de classes de ocupação do solo

	Veg_herb_nat	Humano	Água	Agrícola	Eucalipto	Pinheiro	Folhosas	Matos
ALL	0,166	0,097	0,166	0,404	0,108	0,365	0,662	0,724
AS	0,769	0,104	0,769	0,318	0,442	0,474	0,254	0,147
Sprich	0,251	0,560	0,251	0,894	0,841	0,856	0,684	0,252
Shannon	0,137	0,512	0,137	0,876	0,973	0,714	0,475	0,456

4. Discussão

No decurso deste trabalho, a aplicação das diferentes metodologias de amostragem, permitiu a caracterização da comunidade de mamíferos associada ao Rio Febros. Esta comunidade é ainda algo diversa, incluindo seis espécies de pequenos mamíferos e um carnívoro, a lontra.

No que se refere aos pequenos mamíferos, o método de armadilhagem, permitiu a deteção de seis espécies diferentes, tendo sido capturados um total de oitenta indivíduos. Desta forma foi a metodologia que permitiu a deteção de mais espécies.

Quanto às outras metodologias utilizadas, no geral permitiram confirmar a presença e distribuição das espécies de pequenos mamíferos nos locais onde foram detetadas pela armadilhagem.

Apesar de todas as vantagens que o *hair trapping* apresenta, a baixa quantidade e qualidade de ADN obtida através deste método, assim como o elevado risco de contaminação das amostras com ADN humano, constituem potenciais limitações à sua utilização. Por outro lado, o facto de vários indivíduos passarem por uma mesma armadilha pode dificultar a identificação genética das amostras quando se utilizam métodos de sequenciação tradicional, como foi o caso neste trabalho. Uma solução para este problema seria a utilização de métodos de sequenciação de nova geração (metabarcoding) que poderão permitir a leitura de diferentes sequências de ADN numa mesma amostra. Também um aumento do número de noites de amostragem com armadilhas de pelo poderá aumentar a probabilidade de obtenção de melhores resultados, assim com a utilização de um *design* diferente do utilizado neste trabalho (e.g. Reiners, Encarnação & Wolters, 2011). No entanto, este método permitiu a deteção

de duas espécies de pequenos mamíferos num ponto de amostragem, sendo estes resultados congruentes com os resultados da armadilhagem, tanto ao nível das espécies detetadas como na distribuição das mesmas.

A prospeção de inícios de presença realizada permitiu confirmar a distribuição e presença das espécies detetadas pelos métodos acima referidos. No entanto, cerca de 69% dos excrementos recolhidos foram identificados como pertencentes a outros grupos animais, nomeadamente aves e anfíbios, o que nos remete para a importância da experiência necessária para aplicação deste tipo de metodologia e para a necessidade de utilização de métodos moleculares para confirmação da identificação das espécies (Monterroso *et al.* 2013).

Quanto ao *camera trapping*, este mostrou ser um bom método para obter registos de *Rattus* sp, embora a identificação ao nível específico não tenha sido sempre possível. No entanto, torna-se mais complicada a identificação de outras espécies de menor tamanho. Uma das grandes desvantagens do uso deste método no âmbito deste trabalho foi o elevado número de registos fotográficos obtidos pela agitação da vegetação pelo vento, tendo sido obtidas centenas de fotografias sem presença de qualquer animal. Poderia resolver-se esta situação eliminando a vegetação existente no raio de visão da câmara, mas isto poderia condicionar a presença de pequenos mamíferos nessas áreas uma vez que estes tendem a utilizar zonas com vegetação e outros elementos que lhes permitem deslocar-se sem serem observados por possíveis predadores. Com este método foram detetadas espécies já encontradas através dos outros métodos utilizados nos mesmos locais, mas foi possível complementar os dados obtidos no ponto PB1, onde, através do *camera trapping*, foi possível o registo adicional de *Rattus norvegicus* e de *Lutra lutra*.

Na comunidade de pequenos mamíferos detetada neste estudo, a proporção de espécies de insectívoros para espécies de roedores foi de 1:5. O musaranho-grande-de-dentes-brancos, *Crocidura russula*, foi o único insectívoro detetado nas margens do rio Febros, tanto através do método de armadilhagem como da identificação genética das amostras obtidas na prospeção. Dos roedores, o rato-do-campo (*Apodemus sylvaticus*) foi a espécie com maior número de indivíduos capturados (72,5%) e foi encontrada em oito dos nove pontos amostrados, além de ter sido detetado através do *camera trapping* e da identificação genética das amostras recolhidas do *hair trapping* e da prospeção de indício de presença. O elevado sucesso de captura de *Apodemus*

sylvaticus, quando comparado com as restantes espécies, pode ser justificado pelas suas características ecológicas, nomeadamente o facto de serem animais generalistas que se adaptam facilmente aos mais variados habitats, desde zonas mais humanizadas até zonas semi-naturais preferindo, no entanto, zonas mais naturalizadas e com vegetação abundante (Bencatel *et al.* 2017). A espécie menos capturada foi o *Microtus lusitanicus* (1,25%), uma espécie tipicamente subterrânea e de difícil captura com o tipo de armadilha utilizado devido a esta característica. No entanto, além de ter sido detetada através da captura-recaptura, também foi possível detetá-lo através do *hair trapping*.

A presença de *A. sylvaticus*, *C. russula* e *R. norvegicus*, confirmada pelos métodos acima referidos, no Parque Biológico de Gaia, vai de encontro aos resultados obtidos em Caldas (1999), onde consta a última grande inventariação de espécies publicada. No entanto, foram detetadas espécies não constantes neste estudo de 1999, nomeadamente o *Microtus lusitanicus* e o *R. rattus*.

A deteção da presença de indivíduos do género *Rattus* nos habitats em que os pontos de amostragem se inserem justifica-se pelo facto de que as duas espécies deste género, principalmente a ratazana-castanha (*R. norvegicus*), são espécies comensais preferindo, no entanto, áreas associadas à presença humana em meios urbanos e rurais (Bencatel *et al.* 2017). Assim, no ponto Ma foram capturadas as duas espécies de *Rattus* sp. representando 4 dos 5 indivíduos capturados neste local. Este ponto de amostragem é um dos que apresenta piores condições ecológicas uma vez que a vegetação ripícola é extremamente escassa ou inexistente em algumas partes do troço e grande parte da área é dominada por erva-das-pampas (*Cortaderia selloana*). Por outro lado, o local encontra-se com bastante intervenção humana havendo uma zona residencial bastante próxima e descarte de entulhos na zona.

O *Mus spretus* é tipicamente comensal e é usualmente encontrado em habitats antropogénicos desde campos agrícolas até ao interior de habitações (Bencatel *et al.* 2017). Assim, foi o segundo roedor mais capturado ocorrendo nos pontos PP e CD onde se encontram campos agrícolas, no ponto TB que é localizado numa zona de lameiro e nos pontos Ou e Ma que se encontram em zonas com maior intervenção humana.

A presença de *Crocidura russula* nos pontos TB e PB3, respetivamente uma zona de lameiro com bastante vegetação nas margens do rio e uma zona de floresta mista com alguns matos, corrobora os dados de Bencatel *et. al* (2017), que mencionam que esta espécie se encontra numa ampla variedade de habitats, preferindo habitats abertos e orlas de florestas. Esta foi uma das espécies menos capturadas uma vez que, apesar

de ser o insectívoro mais comum em Portugal, são extremamente cautelosos e a sua taxa de captura nunca é muito elevada (Gonçalves 2006).

Apenas um indivíduo de *Microtus lusitanicus* foi capturado. Esta espécie é tipicamente subterrânea onde faz túneis e galerias sob uma cobertura vegetal densa em solo húmido e macio. Foi no ponto PB2 que esta espécie foi registada, uma zona de lameiro com boa cobertura vegetal e solo macio nas margens do rio.

As características das margens do rio nos pontos PB1, PB2 e PB3, nomeadamente a boa qualidade da galeria ripícola e a pouca intervenção humana, quando em comparação com os outros pontos amostrados, justificam o elevado número de indivíduos capturados quando em comparação com os outros locais, com PB3= 19; PB1= 18 e PB2= 9, apesar de não serem os locais onde foi detetada maior diversidade. Apesar da variabilidade observada nos valores de diversidade e nas espécies capturadas ao longo dos pontos analisados, não foi possível detetar qualquer correlação significativa entre as variáveis referentes aos pequenos mamíferos e as diferentes classes de ocupação de solo nos pontos amostrados. Este facto, poderá dever-se ao reduzido número de observações tanto de pequenos mamíferos capturados como do número de locais amostrados. Além disso, o número reduzido de espécies capturadas e a aparente homogeneidade das áreas envolventes dos pontos de amostragem, poderão ter contribuído para a não deteção de qualquer relação entre estas variáveis.

Desde 1999 que não é possível confirmar a presença de *Galemys pyrenaicus* no Rio Febros, data em que foi feito o último estudo publicado acerca da fauna associada ao rio no Parque Biológico de Gaia (Caldas 1999). No entanto, existem comunicações verbais que confirmam a presença, no passado, de *G. pyrenaicus* e de *Arvicola sapidus* no Rio Febros, bem como outros estudos anteriores a 1999 (Fontoura 1990; Fontoura & Lopes 1995; Oliveira 1993) que reiteram a presença da toupeira-de-água não havendo, porém, estudos que suportam a existência de rato-de-água nas margens do Rio Febros.

No entanto, apesar da aplicação de diferentes métodos de amostragem, não foi possível detetar qualquer indício da presença atual das espécies consideradas mais vulneráveis, e mais dependentes dos ambientes fluviais, que se esperava encontrar no Rio Febros. Apesar de isto não confirmar a ausência destas espécies, uma vez que não foi estudada exhaustivamente toda a extensão do Rio Febros, este estudo indica que existe uma probabilidade reduzida de presença de espécies como a Toupeira-de-água (*Galemys*

pyrenaicus) e rato-de-água (*Arvicola sapidus*) sendo que, se presentes, ocorrerão provavelmente com um efetivo populacional muito reduzido sendo, por isso, necessário um esforço de recuperação destas espécies.

5. Conclusão

Com este trabalho foi possível constatar que as margens do Rio Febros, tributário do Rio Douro e que corre inteiramente em Vila Nova de Gaia, albergam uma comunidade de espécies de pequenos mamíferos ainda algo diversa.

Através da armadilhagem foram capturadas 6 espécies, incluindo *Crocidura russula*, *Apodemus sylvaticus*, *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus*, *Mus spretus* e *Microtus lusitanicus* tendo sido o *A. sylvaticus* a espécie mais capturada e o *M. lusitanicus* a espécie capturada com menos frequência.

Os métodos de *hair trapping* e de prospeção de indícios de presença permitiram confirmar as espécies já detetadas através da armadilhagem, não fornecendo o registo de nenhuma espécie nova. No entanto, o método de *hair trapping* necessita de otimização adicional, pois o ADN recuperado tem baixa qualidade o que dificulta a identificação da espécie e torna a análise mais suscetível a contaminação com ADN humano.

Quanto ao *camera trapping*, este mostrou ser um bom método para obter registos de pequenos mamíferos de maiores dimensões, embora a identificação não tenha sido sempre possível. No entanto, torna-se mais complicada a identificação de outras espécies de menor tamanho. Com este método foram detetadas espécies de pequenos mamíferos já encontradas através dos outros métodos utilizados nos mesmos locais. Foi possível confirmar, ainda, a presença de lontra-europeia (*Lutra lutra*) através da observação de excrementos frescos e da obtenção de registos fotográficos através do método de *camera trapping*.

No geral, os resultados obtidos demonstraram que a metodologia mais eficaz para obter uma boa representação das comunidades de pequenos mamíferos presentes foi o método de armadilhagem.

Não foi possível estabelecer uma correlação entre a abundância e diversidade de

pequenos mamíferos e as diferentes classes de ocupação de solo nos pontos de amostragem.

Por outro lado, apesar da aplicação das diferentes metodologias, não foi possível encontrar qualquer indício de presença ou obter qualquer captura nem de toupeira-de-água, cuja presença foi registada pela última vez por Caldas (1999), nem de rato-de-água. Esta constatação será um pouco mais desenvolvida no capítulo final “Medidas para a conservação das espécies mais vulneráveis do Rio Febros”

De forma a se obter uma informação mais detalhada acerca da diversidade e abundância de espécies ao longo das margens do Rio Febros, verificar se existe alguma sazonalidade marcadamente notória na abundância e diversidade das espécies, verificar se a distribuição e abundância das espécies depende do tipo de ocupação do solo das áreas circundantes aos pontos de amostragem, bem como tentar obter dados da presença de *G. pyrenaicus* e *A. sapidus*, é importante continuar estudos semelhantes a este aumentando o período de amostragem e complementando as técnicas utilizadas com novas técnicas. O uso, por exemplo, de armadilhas de rede específicas para serem semi-submersas, aumenta bastante a probabilidade de capturar *G. pyrenaycus*. Fazer prospeção de indícios com mais regularidade e aumentando o tamanho do transecto, amostrar mais pontos ao longo da extensão do Rio Febros incluindo habitats diferentes dos amostrados neste trabalho também serão opções que permitirão aumentar a informação sobre as comunidades de pequenos mamíferos associados ao Rio Febros.

6. Medidas para a conservação das espécies mais vulneráveis do Rio Febros

O rato-de-água (*Arvicola sapidus*) é uma espécie que, por ser, ainda, pouco estudada no território português, apresenta um estatuto de conservação “Pouco Preocupante”, enquanto em Espanha e França, os outros dois países onde esta espécie ocorre, está classificada como “Vulnerável” (Bencatel et al. 2017). Esta espécie ocorre em zonas húmidas com massas de água estáveis e vegetação ripícola herbácea abundante nas margens. As principais ameaças que esta espécie enfrenta são simultaneamente aquelas que ameaçam os ecossistemas de água doce: destruição ou alteração da vegetação ripícola, drenagem dos corpos de água e secas naturais, modificação do curso dos corpos de água, competição por habitat e recursos alimentares com outras

espécies, como por exemplo a ratazana-castanha (*Rattus norvegicus*) (Rigaux et al. 2008).

A toupeira-de-água (*Galemys pyrenaicus*), como já referido anteriormente neste trabalho, é uma espécie que se encontra atualmente num alarmante estado de conservação, estando classificada como “Vulnerável” na lista vermelha da IUCN.

Segundo o Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal (Cabral et al., 2005), esta espécie encontra-se com uma população já inferior a 10.000 indivíduos maduros e estimava-se que o seu declínio seria de cerca de 10% até 2015. Na bacia hidrográfica do Tua e Sabor, a população de *G. pyrenaicus* diminuiu cerca de 63,5% em apenas 20 anos (Quaglietta et al. 2018)

O facto de a toupeira-de-água estar restringida a um habitat muito específico e vulnerável numa área restrita, faz com que aumente as ameaças à conservação desta espécie. As principais ameaças que esta espécie enfrenta são a eliminação, redução ou alteração da disponibilidade de alimento (macroinvertebrados aquáticos e bentónicos) causados por alterações químicas ou físicas da água, resultantes da construção de obras hidráulicas, poluição, captação ou desvio sazonal da água dos rios e da destruição das margens e da vegetação ripícola natural, entre muitas outras (Pedroso & Chora 2014). Também a fragmentação dos habitats pelas mais diversas causas torna-se uma ameaça à estabilidade desta espécie, uma vez que torna geograficamente dispersas as populações existentes não permitindo a existência de um pool genético diversificado e em constante alteração por troca de genes entre populações.

No Rio Febros muitas das ameaças que estas espécies enfrentam foram detetadas no decorrer do estudo. Foi possível verificar que o troço inicial do rio a montante, apresentava um caudal bastante reduzido com um elevado nível de intervenção humana, nomeadamente o facto de se encontrar emparedado em boa parte da sua extensão total. Foi também possível observar poluição por plásticos descartados, pneus e outros materiais. Num dos pontos de amostragem, foi possível verificar a chegada das águas do rio por dois grandes tubos de canalização e, num outro ponto, constatou-se a descarga de águas com coloração amarelada cuja proveniência não foi possível confirmar. Também a destruição de galeria ripícola ou a sua má condição foi verificada nas mais diversas extensões do rio, nomeadamente em muitos pontos de amostragem utilizados neste estudo, além de que foi detetada a presença de ratazana-castanha (*R. norvegicus*) em pelo menos dois dos nove pontos de armadilhagem e de lagostim-

vermelho (*Procambarus clarkii*) no troço PB1. Importa ainda salientar que em agosto de 2008 foram derramados cerca de quatro toneladas de ácido clorídrico para a Ribeira de Jaca, um dos afluentes do Rio Febros, provenientes de um despiste de um camião cisterna e que provocou a acidificação da água e a morte a dezenas de peixes, sem ser no entanto conhecido o impacto neste ecossistema e noutras espécies (Público 2008).

São várias as medidas que podem ser aplicadas de modo a combater a degradação do ecossistema do qual o Rio Febros faz parte, promovendo, potencialmente, a repovoação deste rio com as espécies acima referidas ou, então, o aumento da população que poderá existir no momento uma vez que, como já mencionado, a sobrevivência destas espécies se encontra intrinsecamente conectada ao estado dos habitats.

Por conseguinte, iremos referir algumas medidas que poderão ser aplicadas no rio Febros, em particular no Parque Biológico de Gaia, pelo facto de, neste local, serem mais facilmente monitorizadas as condições dos habitats fluviais e de ser mais fácil a implementação e controlo de medidas de recuperação/reabilitação.

Problemas identificados:

- Erosão das margens com derrocadas de sedimentos
Solução: técnicas de engenharia natural como a colocação de entrançado vivo, faxina viva, esteira viva ou outros métodos, dependendo das características da margem e do rio.
- Vegetação ripícola escassa em alguns troços
Solução: plantação de espécies autóctones ripícolas, nomeadamente amieiros (*Alnus glutinosa*), freixos (*Fraxinus augustifolia*), salgueiros (*Salix* sp), ervas-moedeiras (*Lysimachia vulgaris*), salgueirinhas (*Lythrum salicaria*), sanguinhos bastardos (*Frangula alnus*), vide-branca (*Clematis vitalba*), heras (*Hedera helix*), roseiras bravas (*Rosa* spp) e silvas (*Rubus* spp), entre muitas outras, com especial interesse para as espécies de rápido crescimento. Monitorização posterior de forma a garantir o crescimento bem-sucedido dos indivíduos.
- Presença de espécies invasoras/exóticas
Solução: ações de controle e erradicação de espécies como o lagostim-vermelho (*Procambarus clarkii*).

- Poucos refúgios para a fauna nas margens de certos troços do rio, nomeadamente para a toupeira-de-água
Solução: deposição de pedras no leito do rio em zonas de baixa corrente, manutenção de raízes de árvores inseridas na água de modo a serem usadas como refúgio.
- Existência de lixos na margem e leito do rio
Solução: limpezas periódicas do rio através, por exemplo, de ações de voluntariado, com posterior separação e adequado descarte dos resíduos.
- Presença de espécies competidoras com a toupeira-de-água e rato-de-água
Solução: ações de controlo de espécies que competem por recursos e habitat, nomeadamente a ratazana-castanha (*R. norvegicus*)
- Falta de histórico de valores dos parâmetros físico-químicos e biológicos do rio.
Solução: Controlo periódico da água do rio com análises físicas e químicas, de modo a manter um registo dos parâmetros de forma a construir um histórico para trabalhos futuros e para entender quais os valores que podem ser considerados “normais”. Além disso, é importante haver análises às comunidades biológicas presentes nas águas do rio de forma a analisar a diversidade dos grupos de macroinvertebrados (especialmente Trichoptera, Ephemeroptera e Plecoptera) que a *Galemys pyrenaicus* utiliza na sua alimentação.

No caso de após a implementação destas medidas, se confirmar a ausência destas espécies no Rio Febros, a estratégia poderá passar por uma reintrodução de indivíduos férteis de modo a que haja a oportunidade de estabelecimento de uma população através da reprodução destes indivíduos. No entanto, isto é extremamente complexo de pôr em prática uma vez que são espécies muito sensíveis a alterações de habitat, podendo não resistir a uma mudança demasiado radical, além de que o transporte, dependendo da duração e do meio do mesmo, deverá ter em conta diversos aspetos como a isolamento térmica e a alimentação dos indivíduos. A criação em cativeiro torna-se, também, um desafio, uma vez que estas espécies requerem condições específicas da qualidade da água e da sua alimentação, bem como no tamanho e composição dos espaços que devem tentar reproduzir ao máximo as condições na natureza (Richard 1973).

7. Bibliografia

- Avenan, N. L. 2006 "Barn Owl Pellets: A Useful Tool for Monitoring Small Mammal Communities?" *Belgian Journal of Zoology* 135:39–43.
- Balian, E. V., H. Segers, C. Lévêque, and K. Martens. 2008. "The Freshwater Animal Diversity Assessment: An Overview of the Results." *Hydrobiologia* 595(1):627–37.
- Bang, P. and P. Dahlstrom. 1975. "Huellas y Señales de Los Animales de Europa". Ediciones Omega. Pp 239
- Barnett, A. and J. Dutton. 1995. "Expedition Field Techniques: Small Mammals (Excluding Bats)". London: Expedition Advisory Centre. Pp 126
- Barbosa, S., J. Pauperio, J. B. Searle, and P. C. Alves. 2013. "Genetic identification of Iberian rodent species using both mitochondrial and nuclear loci: Application to noninvasive sampling". *Molecular Ecology Resources*, 13(1), 43–56.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12024>
- Bencatel, J., F. Álvares, A.E. Moura, and A. M.Barbosa. 2017. "Atlas de Mamíferos de Portugal". Universidade de Évora, Portugal. Pp 256
- Caldas, F. B. 1999. "Caracterização Da Situação Ambiental de Referência: Parque Biológico Municipal de Gaia e Zona Envolvente". Relatório final do Programa Life: Contrato de Desenvolvimento Sustentável Visando a Integração do Ambiente nos Diversos Domínios do Desenvolvimento Sócio-Económico da Zona de Influência do Parque Municipal de Gaia (Portugal). Pp 206
- Catling, P. C., R. J. Burt, and R. Kooyman. 1997. "A Comparison of Techniques Used in a Survey of the Ground-Dwelling and Arboreal Mammals in Forests in North-Eastern New South Wales." *Wildlife Research* 24(4):417.
- Chame, M. 2003. "Terrestrial Mammal Feces: A Morphometric Summary and Description." *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 98(Suppl 1):71–94.
- Chiron, F., S. Hein, R. Chargé, R. Julliard, L. Martin, A. Roguet, and J. Jacob. 2018. "Validation of Hair Tubes for Small Mammal Population Studies." *Journal of Mammalogy* 99(2):478–85.
- De Bondi, N., J. G. White, M. Stevens, and R. Cooke. 2010. "A Comparison of the Effectiveness of Camera Trapping and Live Trapping for Sampling Terrestrial Small-Mammal Communities." *Wildlife Research* 37(6):456.
- DeSa, M. A., C.L. Zweig, H. F. Percival, W. M. Kitchens, and J. W. Kasbohm. 2012. "Comparison of Small-Mammal Sampling Techniques in Tidal Salt Marshes of the Central Gulf Coast of Florida." *Southeastern Naturalist* 11(1):89–100.
- Dudgeon, D., A. H. Arthington, M. O. Gessner, Z. Kawabata, D. J. Knowler, C. Lévêque, R.J. Naiman, A. Prieur-Richard, D.Soto, M. L. J. Stiassny, and C.A. Sullivan. 2006. "Freshwater Biodiversity: Importance, Threats, Status and Conservation Challenges." *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 81(2):163–82.

- Fabião, A. and A. Fabião. 2007. "Os Ecossistemas Ribeirinhos." Pp. 90–111 in *Do Castanheiro ao Teixo: as Outras Espécies Florestais*. Fundação Luso- Americana para o Desenvolvimento / Público / Liga para a Protecção da Natureza.
- Fernandes, M., J. Herrero, S. Aulagnier, and G. Amori. 2008. "Galemys pyrenaicus." In *The IUCN Red List of Threatened Species*.
- Ferreira, C. M., H. Sabino-Marques, S. Barbosa, P. Costa, C. Encarnação, R. I Alpizar- Jara, R. Pita, P. Beja, A. Mira, J. B. Searle, J. Paupério, and P. C. Alves. 2018. "Genetic Non-Invasive Sampling (GNIS) as a Cost-Effective Tool for Monitoring Elusive Small Mammals." *European Journal of Wildlife Research* 64(4):46.
- Fontoura, A. P. and A. Lopes. 1995. "Conservação Da Toupeira-de-Água (Galemys pyrenaicus) No Noroeste de Portugal". Instituto de Zoologia Dr. Augusto Nobre, Faculdade de Ciências- Universidade do Porto. Pp 32
- Fontoura, P. 1990. "Breve Nota Sobre a Ocorrência de Galemys Pyrenaicus Nos Arredores Do Porto." *Observatório* (1).
- Gagneux, P., C. Boesch, and D. S. Woodruff. 1997. "Microsatellite Scoring Errors Associated with Noninvasive Genotyping Based on Nuclear DNA Amplified from Shed Hair." *Molecular Ecology* 6(9):861–68.
- Gaia, C. M. (2015). Proposta de criação da Paisagem Protegida Local do Vale do Febros. Vila Nova de Gaia: Câmara Municipal de Gaia.
- Gonçalves, H. 2006. "Inventariação e Caracterização Dos Micromamíferos No Parque Natural Do Alvão." Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Relatório final de estágio de licenciatura . Pp 104
- Gregory, S. V., F.J. Swanson, W. A. McKee, and K. W. Cummins. 1991. "An Ecosystem Perspective of Riparian Zones." *BioScience* 41(8):540–51.
- Gurnell, A., K. Tockner, P. Edwards, and G. Petts. 2005. "Effects of Deposited Wood on Biocomplexity of River Corridors." *Frontiers in Ecology and the Environment* 3(7):377–82.
- Gurnell, J. and J. R. Flowerdew. 1990. *Live Trapping Small Mammals : A Practical Guide*. London: The Mammal Society. 39 pp
- Harris, R. L. and S. C. Nicol. 2010. "The Effectiveness of Hair Traps for Surveying Mammals: Results of a Study in Sandstone Caves in the Tasmanian Southern Midlands." *Australian Mammalogy* 32(1):62.
- Heisler, L.M., C. M. Somers, and R. G. Poulin. 2016. "Owl Pellets: A More Effective Alternative to Conventional Trapping for Broad-Scale Studies of Small Mammal Communities". *Methods in Ecology and Evolution* 7(1):96–103.
- Hughes, F. M. R. 1997. "Floodplain Biogeomorphology." *Progress in Physical Geography* 21(4):501–29.
- Igea, J., P. Aymerich, A. Fernández-González, J. González-Esteban, A. Gómez, R. Alonso, J. Gosálbez, and J. Castresana. 2013. "Phylogeography and Postglacial Expansion of the Endangered Semi-Aquatic Mammal Galemys Pyrenaicus." *BMC Evolutionary Biology* 13(1):1–19.

- Jaarola, M. and J. B. Searle, 2002. "Phylogeography of field voles (*Microtus agrestis*) in Eurasia inferred from mitochondrial DNA sequences". *Molecular Ecology*, 11: 2613–2621
- Jesus, T. and N. Formigo. 2000. "Estudo Da Qualidade Biológica Da Água Do Rio Febros." in *Livro de Resumos do II Congresso Ibérico de Planeamento e Gestão da Água*.
- Kocher, T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V Edwards, S. Pääbo, F. X. Villablanca, and A. C. Wilson. 1989. "Dynamics of Mitochondrial DNA Evolution in Animals: Amplification and Sequencing with Conserved Primers." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86(16):6196–6200.
- Little, J. and J. Gurnell. 1989. "Shrew Captures and Rodent Field Studies." *Journal of Zoology* 218(2):329–31.
- MacDonald, D. and P. Barrett. 1993. "Mamíferos de Portugal e Europa". FAPAS. Pp 315
- Maudet, C., G. Luikart, D. Dubray, A. von Hardenberg, and P. Taberlet. 2004. "Low Genotyping Error Rates in Wild Ungulate Faeces Sampled in Winter." *Molecular Ecology Notes* 4: 772–775.
- McCallum, J. 2013. "Changing Use of Camera Traps in Mammalian Field Research: Habitats, Taxa and Study Types." *Mammal Review* 43(3):196–206.
- McCartney, M., M. Acreman, and C. Sullivan. 2001. "Ecosystem Impacts of Large Dams". Background paper nº 2. Prepared for IUCN/UNEP/WCD. Pp 77.
- McCleery, R. A., C. L. Zweig, M. A. Desa, R. Hunt, W. M. Kitchens, and H. Franklin Percival. 2014. "A Novel Method for Camera-Trapping Small Mammals." *Wildlife Society Bulletin* 38(4):887–91.
- Mendes, A., J. E. Rabaça, and D. Azirpe. 2009. "Zonas Ribeirinhas Sustentáveis. Um Guia de Gestão". ISA Press.
- Michel, N., F. Burel, and A. Butet. 2006. "How Does Landscape Use Influence Small Mammal Diversity, Abundance and Biomass in Hedgerow Networks of Farming Landscapes?" *Acta Oecologica* 30(1):11–20.
- Monterroso, P., D. Castro, T. L. Silva, P. Ferreras, R. Godinho, and P. C. Alves. 2013. "Factors Affecting the (in)Accuracy of Mammalian Mesocarnivore Scat Identification in South-Western Europe." *Journal of Zoology* 289(4):243–50.
- Moreira, I., M. G. Saraiva, F. Aguiar, J. C. Costa, M. C. Duarte, A. Fabião, T. Ferreira, I. Loupa Ramos, M. Lousã, and F. Pinto Monteiro. 1999. "As Galerias Ribeirinhas Na Paisagem Mediterrânica: Reconhecimento Na Bacia Hidrográfica Do Rio Sado". ISA Press. Pp 98
- Murray, A.J. 2005. "A New Low-Cost Hairtube Design for the Detection of the Spotted-Tailed Quoll *Dasyurus Maculatus* in South-Eastern Australia." *Australian Mammalogy* 27(1):81.
- Naiman, R.J. and H. Décamps. 1997. "The Ecology of Interfaces: Riparian Zones." *Annual Review of Ecology and Systematics* 28(1):621–58.
- Nelson, J. L. 2006. "A Comparison of Three Hair-Tube Types for the Detection of the Spotted-Tailed Quoll *Dasyurus Maculatus* in South-Eastern New South Wales." *Australian*

Mammalogy 28(2):229.

- Nilsson, C. and K. Berggren. 2000. "Alterations of Riparian Ecosystems Caused by River Regulation." *BioScience* 50(9):783–92.
- Nores, C. 2007. "*Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811)." in *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos Terrestres de España*, edited by L. J. Palomo, J. Gisbert, and J. C. Blanco. Madrid: Dirección General para la Biodiversidad - SECEM-SECEMU. Pp 588
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, P. Dan McGlinn, R. Minchin, R. B. O'Hara, G. L. Simpson, P. Solymos, M. Henry H. Stevens, E. Szoecs, and H. Wagner. 2019. "Vegan: Community Ecology Package. R Package."
- Oliveira, N. G. 1993. "Contribution Des Equipements Nature Pour Les Objectifs de l' Education à l'environnement. Quelques Experiences Européennes et Le Cas Du Parc Biologique (Gaia, Portugal)." Universidade de Bordéus.
- Palomo, L. J., J. Gisbert, and J. C. Blanco. 2007. "Atlas y Libro Rojo de Los Mamíferos Terrestres de España". Madrid: Dirección General para la Biodiversidad-SECEM-SECEMU. Pp 588
- Palumbi, S. R. 1996. "Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction." Pp. 205–47 in *Molecular Systematics*, edited by B. K. Hillis, D.M., Moritz, C., Mable. Sinauer & Associates Inc.
- Pedroso, N. M. and S. Chora. 2014. "The Iberian Desman *Galemys Pyrenaicus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) in Portugal: Status and Conservation." *Munibe Monographs. Nature Series* 3:13–18.
- Público. 2008. "Derrame de Ácido Clorídrico Na A29 Destruiu Parte Da Fauna No Rio Febros | Câmara de Gaia Avança Que Quatro Toneladas Foram Derramadas | PÚBLICO." Retrieved September 27, 2019 (<https://www.publico.pt/2008/08/26/local/noticia/derrame-de-acido-cloridrico-na-a29-destruiu-parte-da-fauna-no-rio-febros-1340592>).
- Quaglietta, L., J. Paupério, F. Martins, P. Alves, and P. Beja. 2018. "Recent Range Contractions in the Globally Threatened Pyrenean Desman Highlight the Importance of Stream Headwater Refugia." *Animal Conservation* 1–11.
- Queiroz, A. I., P. C. Alves, I. Barroso, P. Beja, M. Fernandes, L. Freitas, M. L. Mathias, A. Mira, J. M. Palmeirim, R. Prieto, A. Rainho, L. Rodrigues, M. Santos-Reis, and M. Sequeira. 2005. "*Galemys pyrenaicus*." in *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal*, edited by M. et al Cabral. Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza: 435–436
- R Core Team. 2019. "R: A Language and Environment for Statistical Computing."
- Reid, A. J., A. K. Carlson, I. F. Creed, E. J. Eliason, P. A. Gell, P. T. J. Johnson, K.A. Kidd, T. J. MacCormack, J.D. Olden, S. J. Ormerod, J.P. Smol, W. W. Taylor, K. Tockner, J. C. Vermaire, D. Dudgeon, and S. J. Cooke. 2019. "Emerging Threats and Persistent Conservation Challenges for Freshwater Biodiversity." *Biological Reviews* 94(3):849–73.
- Reiners, T. E., J. A. Encarnação, and V. Wolters. 2011. "An Optimized Hair Trap for Non-Invasive Genetic Studies of Small Cryptic Mammals." *European Journal of Wildlife Research* 57(4):991–95.
- Richard, P. B. 1973. "Capture, Transport and Husbandry of the Pyrenean Desman *Galemys Pyrenaicus*." *International Zoo Yearbook* 13(1):174–77.

- Rigaux, P., M. Vaslin, J. F. Noblet, G. Amori, and L. J. Palomo. 2008. "Arvicola sapidus." *The IUCN Red List of Threatened Species*.
- Rodrigues, M. A. 2009. "Avaliação Dos Benefícios Da Reabilitação de Rios: Potencial Para Aplicação Da Transferência de Benefícios." Dissertação de Mestrado. FCT - UNL.
- Rutherford, Ian D., Kathryn Jerie, and Nicholas Marsh. 2000. "A Rehabilitation Manual for Australian Streams. Vol. 1". Land and Water Resources Research and Development Corporation Cooperative Research Centre for Catchment Hydrology. Pp 192
- Sabino-Marques, H., C. M. Ferreira, J. Paupério, P. Costa, S. Barbosa, C. Encarnação, R. Alpizar-Jara, P. C. Alves, J. B. Searle, A. Mira, P. Beja, and R. Pita. 2018. "Combining Genetic Non-Invasive Sampling with Spatially Explicit Capture-Recapture Models for Density Estimation of a Patchily Distributed Small Mammal." *European Journal of Wildlife Research* 64(4):44.
- Sala, O. E., F. S. Chapin III, J. J. Armesto, E. Berlow, J. Bloomfield, R. Dirzo, E. Huber-Sanwald, L. F. Huenneke, R. B. Jackson, A. Kinzig, R. Leemans, D. M. Lodge, H. A. Mooney, Martín Oesterheld, N. LeRoy Poff, Martin T. Sykes, Brian H. Walker, Marilyn Walker and Diana H. Wall. 2000. "Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100." *Science* 287(5459):1770–74.
- Schlegel, M., H. S. Ali, N. Stieger, M. H. Groschup, R. Wolf, and R. G. Ulrich. 2012. "Molecular Identification of Small Mammal Species Using Novel Cytochrome b Gene-Derived Degenerated Primers." *Biochemical Genetics* 50(5–6):440–47.
- Scotts, D.J. and S.A. Craig. 1988. "Improved Hair-Sampling Tube for the Detection of Rare Mammals." *Wildlife Research* 15(4):469.
- Sibbald, S., P. Carter, and S. Poulton. 2006. "Proposal for a National Monitoring Scheme for Small Mammals in the United Kingdom and the Republic of Eire." *The Mammal Society Research* (6):1–90.
- Silva, S. J. P. G. 2006. "Implementação de Trilho de Interpretação Da Natureza e Da Paisagem Do Rio Febros."
- Silva, V. and P. Graça, 2006. Plano Director Municipal de Gaia. Câmara Municipal de Vila Nova de Gaia.
- Society for Ecological Restoration. 2004. "Society for Ecological Restoration." Retrieved August 5, 2019 (<https://www.ser-rrc.org/about-the-rrc/>).
- Soulé, M.E. 1985. "What Is Conservation Biology?" *BioScience* 35(11):727–34.
- Stanford, J. A., M. S. Lorang, and F. R. Hauer. 2005. "The Shifting Habitat Mosaic of River Ecosystems." *SIL Proceedings, 1922-2010* 29(1):123–36.
- Suckling, G. C. 1978. "A Hair Sampling Tube for the Detection of Small Mammals in Trees." *Wildlife Research* 5(2):249–52.
- Tabacchi, E., D. L. Correll, R. Hauer, G. Pinay, A. Planty-Tabacchi, and R.oo C. Wissmar. 1998. "Development, Maintenance and Role of Riparian Vegetation in the River Landscape." *Freshwater Biology* 40(3):497–516.
- Teerink, B. J. 1991. "Hair of West-European Mammals: Atlas and Identification Key". Cambridge University Press. Pp 224

Wemmer, C., T. H.Kunz, G. Lundie-Jenkins, and W. J.McShea. n.d. "Mammalian Sign." in *Measuring and Monitoring Biological Diversity*, edited by D. E.Wilson, R. Cole, and J. D. Nichols. Smithsonian Institution Press. Pp. 157–76

Wilson, D.E. and D. M. Reeder. 2005. "Mammal Species of the World : A Taxonomic and Geographic Reference. Johns Hopkins University Press. Pp 2145