



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Conservação de charcos temporários mediterrânicos sob manejo agrícola: uma avaliação usando anfíbios

Luis Guilherme Felizardo de Sousa

Orientação: Dr. Paulo Sá Sousa

Co-orientação: Dr.^a Ana Márcia Barbosa

Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação

Évora, 2015

UNIVERSIDADE DE ÉVORA
Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação

**“Conservação de Charcos Temporários
mediterrânicos sob manejo agrícola: uma
avaliação usando anfíbios”**

Luis Guilherme Felizardo de Sousa



Orientador: Dr. Paulo Sá Sousa

Co-Orientador: Dr.^a Ana Márcia Barbosa

ÍNDICE

PRÓLOGO	1
AGRADECIMENTOS.....	2
RESUMO.....	3
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO.....	4
1.1. Zonas húmidas.....	4
1.2. Charcos temporários	4
1.3. Charcos temporários mediterrânicos	5
1.4. Charcos temporários mediterrânicos em Portugal.....	6
1.5. Situação global dos anfíbios.....	7
1.6. Objetivo.....	9
2. METODOLOGIA	10
2.1. Delimitação da área de estudo.....	10
2.2. Procura e localização de charcos temporários	11
2.3. Caracterização biofísica dos charcos	13
2.4. Amostragem de anfíbios	15
2.5. Tratamento e análise de dados	17
3. RESULTADOS.....	20
3.1. Charcos encontrados	20
3.2. Amostragem de anfíbios	23
3.3. Agrupamento de charcos	25
3.4. Preferências ecológicas dos anfíbios	27
3.5. Estado de conservação dos charcos encontrados	31
4. DISCUSSÃO.....	34
4.1. Charcos temporários mediterrânicos no Alentejo	34
4.2. Amostragem de anfíbios	39
4.3. Anfíbios e a conservação dos charcos temporários mediterrânicos	45
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
6. BIBLIOGRAFIA.....	49
ANEXOS.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Esquema representativo de um charco temporário Mediterrânico com alguns dos seus elementos de fauna e flora	7
Figura 2- Mapa administrativo da região do Alentejo dividido pelas sub-regiões e pelos municípios (Obtido do Instituto Nacional de Estatística).....	11
Figura 3- Imagens da fase seca (esquerda) e da fase inundada (direita) do mesmo charco obtidas em anos e meses diferentes: imagem da esquerda obtida a 9 de Agosto de 2011; imagem da direita obtida a 26 de Maio de 2013. Fonte: <i>Google Earth</i>	12
Figura 4- Mapa administrativo (por distritos) da área de estudo com a localização dos 45 charcos temporários Mediterrânicos	21
Figura 5- Diagrama para classificação das classes de textura do solo adaptado aos limites internacionais das frações granulométricas, por M. Pereira Gomes e A. Antunes da Silva.....	23
Figura 6- Percentagem de capturas totais por cada espécie de anfíbios	24
Figura 7- Exemplos de variações em larvas de <i>Pleurodeles waltl</i> capturadas em charcos com condições diferentes.....	25
Figura 8- Exemplos de variações em larvas de <i>Pelobates cultripes</i> capturadas em charcos com condições diferentes.....	25
Figura 9- Agrupamento dos charcos por semelhança. As caixas vermelhas delimitam cada um dos 6 <i>clusters</i>	27
Figura 10- Distribuição dos 45 charcos temporários Mediterrânicos com os estados de conservação atribuídos.....	32
Figura 11- Imagens de um charco temporário antes (2006) e depois da sua destruição (2010) com a plantação de um olival intensivo. Fonte: <i>Google Earth</i>	35
Figura 12- Antigo charco temporário que foi drenado para a prática agrícola	36
Figura 13- Apicultor a aproveitar a flora um charco temporário Mediterrânico durante a fase seca. Algumas espécies, como <i>Eryngium corniculatum</i> , permaneciam em flor. ..	38
Figura 14- Medição do adulto neoténico de <i>Pleurodeles waltl</i> e vista das brânquias desenvolvidas.....	42
Figura 15- Varrimento realizado onde se capturaram as espécies de Branchiopoda <i>Triops baeticus</i> e <i>Streprocephalus torvicornis</i>	55

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Lista atualizada (Carretero <i>et al.</i> , 2014) das principais espécies de anfíbios encontradas no Sul de Portugal (Ferrand de Almeida <i>et al.</i> , 2001; Loureiro <i>et al.</i> , 2010). Dados ecológicos também conforme vários autores citados na Enciclopedia dos Vertebrados Espanoles (períodos de reprodução entre parenteses): Ruiz, 2008; Márquez, 2011a, b; Ruhí <i>et al.</i> , 2012; Díaz-Paniagua, 2014; Egea-Serrano, 2014; Gómez-Mestre, 2014; Martínez-Solano, 2014; Ortiz-Santaliestra, 2014; Recuero, 2014; Reques, 2014a,b; Salvador, 2014; Sillero, 2014; Escoriza, 2015. Período de reprodução obtido com base no Guia Fapas Anfíbios e Répteis de Portugal, e entre parenteses obtido das fichas de espécie presentes no <i>site</i> www.vertebradosibericos.org (consultado em Junho de 2014)	9
Tabela 2- Valores de temperatura, precipitação e altitude para a região do Alentejo e cada uma das sub-regiões que definem a área de estudo. Dados obtidos do Instituto Nacional de Estatística.	10
Tabela 3- Variáveis utilizadas na caracterização dos charcos e valores medidos.....	22
Tabela 4- Número de larvas capturadas e a sua presença nos charcos; Registo total de presença das espécies nos charcos incluindo os registos ocasionais.....	24
Tabela 5- Valores de <i>Eigenvalue</i> obtidos da análise de componentes principais (PCA)	26
Tabela 6- Valores de <i>Factor loadings</i> obtidos da análise de componentes principais (PCA).....	26
Tabela 7- Valores dos Modelos lineares generalizados para o total de espécies de anfíbios.....	28
Tabela 8- Valores dos Modelos lineares generalizados para <i>Pleurodeles waltl.</i>	28
Tabela 9- Valores dos Modelos lineares generalizados para <i>Triturus pygmaeus</i>	29
Tabela 10- Valores dos Modelos lineares generalizados para <i>Pelobates cultripes</i>	30
Tabela 11- Valores dos Modelos lineares generalizados para <i>Hyla meridionalis</i>	31
Tabela 12- Valores da desviância explicada por todos os modelos lineares generalizados	31
Tabela 13- Número de charcos para cada estado de conservação atribuído e média do número de espécies de anfíbios capturadas nas amostragens e número de espécies total encontradas (incluindo registos ocasionais)	31
Tabela 14- Resultados da <i>diagnostic species analysis</i> para as Presenças/Ausências	33
Tabela 15- Resultados da <i>diagnostic species analysis</i> para as Abundâncias	34
Tabela 16- Valores de fidelidade das espécies de anfíbios para cada estado de conservação atribuído aos charcos.....	34
Tabela 17- Lista de espécies identificadas de crustáceos de água doce encontrados nos charcos temporários Mediterrânicos.....	56

PRÓLOGO

Esta Dissertação foi realizada para obtenção do grau de Mestre na 8ª edição do Mestrado em Biologia da Conservação da Universidade de Évora.

O tema foi proposto conjuntamente pela Prof.^a Carla Pinto Cruz e pelo Prof. Paulo Sá Sousa como forma de aumentar o conhecimento sobre charcos temporários mediterrânicos no Alentejo. A metodologia de identificação e escolha dos charcos foi realizada conjuntamente com a colega Eliana Machado, também no decorrer da sua dissertação intitulada “Conservação de charcos temporários mediterrânicos sob manejo agrícola: uma avaliação usando flora”. Apesar destas duas dissertações se articularem de modo complementar, foram realizadas de modo independente. Posteriormente o objetivo final seria juntar ambos os estudos e comparar os respetivos resultados. Com o início da realização das amostragens de anfíbios foram também capturadas diversas espécies de crustáceos de água doce, pelo que se colocou a possibilidade de inclui-los também neste estudo. Porém, após aprofundar o conhecimento sobre a biologia destas espécies, esta opção foi descartada. Não obstante optou-se por incluírem-se, nos Anexos, alguns dados e registos observados sobre estas espécies, para que possam ser utilizados em estudos futuros.

AGRADECIMENTOS

Primeiro gostaria de agradecer aos meus orientadores, Márcia Barbosa e Paulo Sá-Sousa, por toda a orientação, revisão e companhia na concretização desta dissertação.

A todos os professores do mestrado que contribuíram com os seus ensinamentos e orientações, em especial ao Professor João Rabaça e professora Maria Paula Simões na cadeira de Projeto e Seminário.

Ao Miguel Porto pelas boas dicas sobre a existência de espécies características.

Aos meus colegas Pedro Silva, André Pereira e Emanuel Silva por terem tido a coragem de partilhar um dia de campo connosco.

À minha família por todo o apoio e incentivo durante todas as etapas.

Aos meus amigos e companheiros de campo Tiago Marques, Ana Lumbreras e Cristina Madeira Baião, pelas conversas e conselhos sobre esta jornada.

A todos os meus amigos e conhecidos que mostraram interesse neste meu trabalho.

À minha colega, companheira, amiga e namorada, Eliana Machado por toda a companhia, ajuda, apoio e nesta nossa etapa.

Por último, um agradecimento especial à Professora Carla Pinto Cruz, por nos ter apresentado este fascinante Mundo dos charcos temporários mediterrânicos e pela imprescindível ajuda e dias perdidos em campo para nos orientar no caminho certo.

RESUMO

Neste estudo realizou-se uma busca de charcos temporários mediterrânicos (CTM) em zonas do Alentejo que ainda não foram estudados. Destas localizações foram selecionados 40 CTM para serem caracterizados e onde foram amostradas as suas populações de anfíbios. Também foram incluídos 5 charcos utilizados em estudos prévios. Foram encontradas todas as 13 espécies de anfíbios presentes na área mas só 8 espécies se reproduziram nos charcos. Com os resultados da caracterização, a cada charco foi atribuído um estado de conservação que foi utilizado juntamente com os valores das amostragens para determinar a existência de espécies de anfíbios associados a cada um desses estados de conservação. Foram identificadas as espécies, *Triturus pygmaeus* como indicadora dos charcos bem conservados e *Pleurodeles waltl* como indicadora dos charcos mal conservados. Estes resultados são um importante contributo na criação de um futuro índice de conservação que permita avaliar o estado de conservação destes habitats.

Palavras-chave: Alentejo; Ecologia de anfíbios; Espécies indicadoras; Estados de conservação; Paisagem agrícola; Zonas húmidas.

ABSTRACT

Conservation of Mediterranean temporary ponds under agricultural usage: an evaluation using amphibians

In this study a survey of Mediterranean temporary ponds (MTP) was done in unstudied parts of the Alentejo region. From these locations were selected 40 MTP for characterization and amphibian sampling. Also another 5 ponds were added from previous studies. A total of 13 amphibian species were found in the area but only 8 species reproduce in these ponds. For each pond was established a conservation state and, together with the amphibian sampling results were used to determinate if there is some amphibian species related to these conservation status. From these analyses two amphibian species were identified, *Triturus pygmaeus* for good conservation status and *Pleurodeles waltl* for bad conservation status. These results are an important contribution in the creation of a future conservation index for the evaluation of the conservation status of these habitats.

Keywords: Agricultural landscape; Alentejo; Amphibian ecology; Conservation status; Indicator species; Wetlands.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Zonas húmidas

Com uma ampla distribuição global, à exceção das calotas polares, as zonas húmidas são um conjunto diverso de ecossistemas em que a água, normalmente doce, é o fator responsável pelas suas condições e pela biodiversidade que apresentam. Exemplos comuns destas zonas são os pântanos, lagos, estuários, rios e charcos (Zedler & Kercher, 2005). Tendem a ser zonas com uma grande produtividade primária, que por sua vez dá suporte a inúmeras espécies de fauna. Também o Homem explora e beneficia destas zonas, quer diretamente, através da sua utilização para agricultura ou pastorícia ou do aproveitamento da sua biodiversidade através da pesca, caça e recolha de madeira; quer indiretamente, através de serviços de ecossistema tais como a melhoria da qualidade da água, a retenção da água da chuva contribuindo para um controlo das cheias, e o sequestro de carbono (Zedler & Kercher, 2005; Moore & Hunt, 2012).

1.2. Charcos temporários

De entre os ecossistemas das zonas húmidas destacam-se em particular os charcos temporários. Estes são caracterizados pela sua extensão relativamente pequena, mas bastante variável (≤ 10 ha), baixa profundidade, por configurarem bacias endorreicas (sem fluxo ou ligação a outras massas de água), por existirem normalmente sobre substratos impermeáveis (rochosos ou não), e tipicamente apresentarem anualmente uma fase seca e outra inundada. A água proveniente da chuva acumula-se no charco, devido à escorrência da área envolvente e/ou de águas subterrâneas, enquanto é perdida diretamente quer por evaporação, quer através da evapotranspiração das plantas (Grillas *et al.*, 2004; Dimitriou *et al.*, 2006; Zacharias & Zamparas, 2010; Pinto-Cruz *et al.*, 2011).

Apesar dos charcos parecerem sistemas recentes, de facto eles estão entre os habitats de água doce mais antigos, havendo registo de charcos temporários na Califórnia com pelo menos 50.000 anos. Tal longevidade é possível porque a matéria orgânica, acumulada durante a fase de inundação, oxida durante o período de seca, pelo que a quantidade de sedimento ganha é muito reduzida (Williams *et al.*, 2001). Não obstante as condições algo extremas (designadamente a marcada sazonalidade) verificadas anualmente, num período de tempo mais alargado os charcos são habitats relativamente estáveis (Grillas *et al.*, 2004).

A longevidade deste tipo de habitat permitiu que um grande número de espécies de flora e fauna evoluísse de acordo com estas alterações e se tornasse dependente delas (Zacharias & Zamparas, 2010). Assim, nos charcos temporários pode encontrar-se um elevado número de espécies raras e/ou endêmicas (Nicolet *et al.*, 2004). As comunidades de plantas são dominadas por plantas aquáticas efémeras e plantas “anfíbias” associadas a este tipo de habitat (Rhazi *et al.*, 2011). Em termos de fauna, beneficiando da ausência de predação e/ou competição por peixes, encontram-se várias classes de artrópodes, inclusive pequenos e grandes branquiópodes que apenas existem nestes ecossistemas variáveis (Machado & Sala, 2013), e várias espécies de anfíbios que aqui ocorrem para se alimentar e reproduzir (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2009). Também são ecossistemas importantes para aves, especialmente as migradoras, que acorrem a estes ecossistemas principalmente para se alimentar (Silveira, 1998) (Figura 1).

Por toda a Europa, os charcos temporários constituem um habitat comum e recorrente na paisagem, ocorrendo em todas as regiões biogeográficas. Contudo, a sua importância e a sua riqueza foram negligenciadas, havendo um défice de conhecimento de mais de 50 anos, comparando com os estudos sobre massas de água mais permanentes (Williams *et al.*, 2001). Os estudos recentes têm alertado para o rápido desaparecimento dos charcos temporários, assim como de outras zonas húmidas, por toda a Europa. (Beja & Alcazar, 2003; Biggs *et al.*, 2005; Hartel & von Wehrden, 2013).

1.3. Charcos temporários mediterrânicos

Com uma distribuição exclusiva das regiões de clima Mediterrânico, os charcos temporários mediterrânicos*, *Habitat 3170**, são um tipo de charco temporário atualmente protegido na Europa, fazendo parte do anexo I da Diretiva Habitats (Diretiva 92/43/CEE), da Diretiva Quadro da Água (Diretiva 2000/60/CE) e da Convenção de Ramsar (Decreto nº 101/80, de 9 de Outubro). Esta proteção múltipla foi-lhes atribuída pela elevada biodiversidade que este tipo de charcos alberga, incluindo muitas espécies raras e/ou endêmicas, e por estarem a desaparecer rapidamente (Zacharias *et al.*, 2007). Para além de apresentarem características comuns a outros charcos, os charcos temporários mediterrânicos distinguem-se por apresentarem várias comunidades florísticas da ordem *Isoetalia* (classe *Isoeto-Nanojuncetea*) (ALFA, 2004), as quais ocorrem segundo bandas concêntricas em função do hidroperíodo (Lumbreras *et al.*, 2012). Na Europa a ocorrência deste habitat

está descrita para Portugal, Espanha, França, Itália, Grécia e Reino Unido (Ruiz, 2008).

Na região do Mediterrâneo, onde a presença humana é muito forte e interage com todos os ecossistemas (Rhazi *et al.*, 2001), é provável que os charcos temporários mediterrânicos tenham persistido durante séculos em equilíbrio dinâmico com as atividades humanas. Todavia, devido à intensificação agrícola e ao desenvolvimento urbanístico das últimas décadas, tem-se verificado uma acentuada destruição ou alteração destes ecossistemas (Zacharias & Zamparas, 2010). Entre as principais ameaças elencam-se: a drenagem dos charcos para posterior lavoura agrícola ou construção; a deposição ilegal de lixo e desperdícios; a extração de minerais do solo do charco (o que pode diminuir a sua permeabilidade, o banco de sementes e o número de cistos dos invertebrados); o pastoreio excessivo causado pelo aumento do encabeçamento do gado; a transformação dos charcos temporários mediterrânicos em massas de água permanentes; a poluição da água por escorrência das áreas vizinhas; e o aumento de atividades lúdicas e de turismo (Cancela *et al.*, 2008; Zacharias & Zamparas, 2010). Para além da perda da biodiversidade, a destruição do charco também afeta toda a área em redor do mesmo, que normalmente oferece condições para a ocorrência de espécies de flora e de fauna ameaçadas, como *Pilularia minuta* (classificada *Em Perigo* na IUCN Red List of Threatened Species) (Rhazi *et al.*, 2011) e *Microtus cabreræ* (classificado como *Quase ameaçado*, IUCN) (Pita *et al.*, 2010). Para além da vulnerabilidade às atividades humanas, as alterações climáticas globais verificadas na Bacia Mediterrânica poderão também afetar negativamente os charcos temporários mediterrânicos (Pinto-Cruz *et al.*, 2009) através de uma diminuição ou aumento do hidroperíodo, afetando a dinâmica das sucessões ecológicas, especialmente no caso dos grandes branquiópodes (Cancela *et al.*, 2008).

1.4. Charcos temporários mediterrânicos em Portugal

Em Portugal têm sido realizados diversos estudos sobre os charcos temporários mediterrânicos e a sua biodiversidade, principalmente no Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina (PNSACV) (e.g. Pinto-Cruz *et al.*, 2009; Caramujo & Boavida, 2010; Ferreira & Beja, 2013) e no Parque Natural do Vale do Guadiana (PNVG) (e.g. Cancela *et al.*, 2008; Machado & Sala, 2013). Apesar de este habitat ser protegido, e de nestes casos ocorrerem dentro de áreas protegidas, os estudos realizados têm alertado para a sua destruição, nomeadamente no PNSACV, onde Canha & Pinto-Cruz (2010) referem uma destruição superior a 50% em 10 anos. Esta

destruição demonstra a falta de planeamento e de proteção que este habitat sofre em Portugal (Cancela *et al.*, 2008).

De maneira a atenuar e reverter esta destruição, foi iniciado no ano de 2013 o Projeto LIFE+ “Conservação de Charcos Temporários na Costa Sudoeste de Portugal”, o qual decorre no Sítio de Interesse Comunitário (SIC) da Costa Sudoeste da Rede Natura 2000, coincidindo parcialmente com o PNSACV.

Porém, para o resto do país, a mera informação sobre a ocorrência de charcos temporários e sobre qual a sua situação é muito escassa ou mesmo inexistente para muitas regiões.

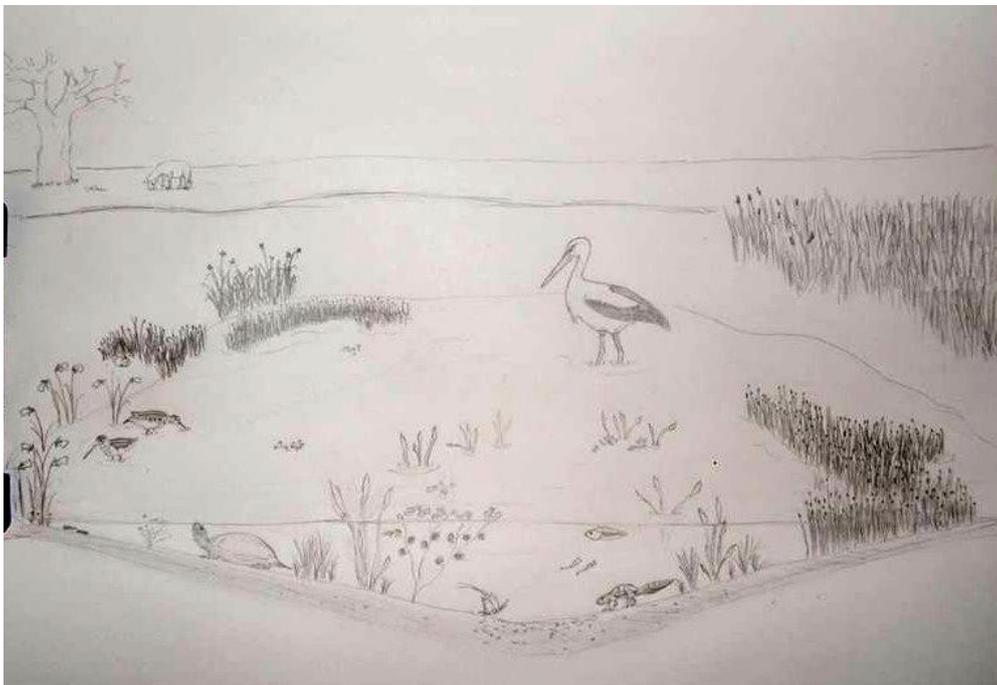


Figura 1- Ilustração representativa de um charco temporário Mediterrânico com alguns dos seus elementos de fauna e flora

1.5. Situação global dos anfíbios

Os anfíbios são um grupo de vertebrados que apresenta globalmente mais de 7400 espécies conhecidas pela ciência, divididas em três grandes ordens: Caudata, Anura e Gymnophiona (AMPHIBIAWEB, 2015). Apresentam pele nua, são poiquilotérmicos, podem apresentar três tipos de respiração diferentes ao longo da sua vida (pulmonar, branquial e cutânea), e podem viver tanto em terra como na água, estando a maioria das espécies dependentes da última para a sua reprodução (Ferrand de Almeida *et al.*, 2001; Wells, 2010).

Atualmente tem-se registado um declínio cada vez mais acentuado das populações de anfíbios: este grupo de vertebrados é dos mais ameaçados, apresentando mais de 30% das espécies com estatuto de conservação (IUCN) desfavorável (Stuart *et al.*, 2004). Este declínio dos anfíbios tem como principal causa o impacto direto ou indireto das atividades humanas, através da destruição, modificação e/ou fragmentação dos habitats; da sobre-exploração de espécies; da introdução de espécies exóticas; e das alterações climáticas (Alford & Richards, 1999, Collins & Storer, 2003).

Na Europa, os anfíbios ocupam e reproduzem-se num grande conjunto de massas de água, não só naturais, mas também de origem antropogénica (Tabela 1). Estas massas de água artificiais, criadas ou modificadas para a agricultura tradicional, para o gado ou para outras produções como, por exemplo, a aquacultura, permitiram que muitas populações de anfíbios continuassem a ocorrer e a prosperar em conjunto com as atividades humanas (Knutson *et al.*, 2004; Ruhí *et al.*, 2012; Hartel & von Wehrden, 2013). A Península Ibérica é um bom exemplo onde muitas espécies ocorrem associadas a zonas de agricultura extensiva (Beja & Alcazar, 2003). Porém, estudos recentes realizados no Sudoeste de Portugal sugerem que, para a maioria das espécies, estes habitats “artificiais” não são bons substitutos dos charcos temporários, havendo uma clara preferência pelos últimos (Ferreira & Beja, 2013).

Na Tabela 1 destacam-se os charcos como sendo um dos habitats preferidos pelos anfíbios ibéricos, onde é possível coocorrerem espécies com preferências distintas, desde os habitats aquáticos efémeros (ex. *Epidalea calamita* e *Discoglossus galganoi*) até às espécies que precisam de um hidroperíodo mais prolongado (*Pelophylax perezi*; *Hyla molleri*) (vide Loureiro *et al.*, 2010). Sendo dos grupos faunísticos mais presentes, pelo papel que apresentam como transformadores de nutrientes e energia e pela importância que os charcos têm como local de reprodução, Cancela *et al.* (2008) sugerem que os anfíbios, juntamente com os grandes branquiópodes (exclusivos de charcos temporários), sejam usados como grupos chave na avaliação do valor para a conservação dos charcos temporários mediterrânicos.

Tabela 1- Lista atualizada (Carretero *et al.*, 2014) das principais espécies de anfíbios encontradas no Sul de Portugal (Ferrand de Almeida *et al.*, 2001; Loureiro *et al.*, 2010). Dados ecológicos também conforme vários autores citados na Enciclopedia dos Vertebrados Españoles (períodos de reprodução entre parenteses): Ruiz, 2008; Márquez, 2011a, b; Ruhí *et al.*, 2012; Díaz-Paniagua, 2014; Egea-Serrano, 2014; Gómez-Mestre, 2014; Martínez-Solano, 2014; Ortiz-Santaliestra, 2014; Recuero, 2014; Reques, 2014a,b; Salvador, 2014; Sillero, 2014; Escoriza, 2015. Período de reprodução obtido com base no Guia Fapas Anfíbios e Répteis de Portugal, e entre parenteses obtido das fichas de espécie presentes no *site* www.vertebradosibericos.org (consultado em Junho de 2014)

Espécie		Período de reprodução	Locais de reprodução	Estatuto IUCN
Nome comum	Nome científico			
Caudata				
Salamandra-de-costelas-salientes	<i>Pleurodeles waltl</i>	Março – Maio (Setembro-Julho)	Charcos , poços, lagoas, tanques, represas e remansos de rios	NT
Salamandra-de-pintas-amarelas	<i>Salamandra salamandra</i>	(Setembro-Maio)	Ribeiros, fontes e minas, charcos , canais de rega, tanques, represas e albufeiras	LC
Tritão-de-ventre-laranja	<i>Lissotriton boscai</i>	Março – Maio (Novembro-Junho)	Ribeiros de corrente fraca, charcos , poços, lagoas, tanques, represas, albufeiras	LC
Tritão (marmoreado) pigmeu	<i>Triturus pygmaeus</i>	Março – Junho (Outubro- Maio)	Charcos , poços, lagoas, tanques, represas, albufeiras e zonas de remanso de rios	NT
Anura				
Rã-de-focinho-pontiagudo	<i>Discoglossus galganoi</i>	Janeiro – Abril (Dezembro-Agosto)	Charcos , poças temporárias, ribeiros, canais de rega, lagoas costeiras	LC
Sapo-parteiro-ibérico	<i>Alytes cisternasii</i>	(Setembro- Maio)	Ribeiros, poças, charcos , tanques	NT
Sapinho-de-verrugas-verdes	<i>Pelodytes sp.</i>	(Novembro- Junho)	Charcos temporários , zonas de remanso de rios, lagos, lagoas costeiras	LC
Sapo-de-unha-negra	<i>Pelobates cultripes</i>	Janeiro – Maio (Outubro- Maio)	Charcos temporários , charcos permanentes	NT
Sapo-corredor	<i>Epidalea calamita</i>	Março – Abril (Dezembro- Maio)	Charcos temporários , poças	LC
Sapo-comum	<i>Bufo spinosus</i>	Março – Abril (Novembro-Abril)	Rios de pequeno a médio tamanho, albufeiras, charcos com alguma extensão	LC
Rela-comum	<i>Hyla molleri</i>	(Março- Junho)	Charcos , cursos de água, pântanos, lagos, lagoas	LC
Rela-meridional	<i>Hyla meridionalis</i>	Março – Junho (Fevereiro- Abril)	Charcos , cursos de água, pântanos, lagos, lagoas, poços	LC
Rã-verde	<i>Pelophylax perezi</i>	Maio – Julho (Março- Julho)	Charcos , pântanos, lameiros, lagos, lagoas, barragens, ribeiros, rios	LC

1.6. Objetivos

Dadas as ameaças que os charcos temporários mediterrânicos, assim como os anfíbios, enfrentam atualmente, pretende-se com este estudo: (I) detetar e confirmar a ocorrência de charcos temporários mediterrânicos em partes menos estudadas da região do Alentejo; (II) relacionar a presença dos anfíbios com as características biofísicas dos charcos analisados; (III) identificar espécies de anfíbios indicadoras do estado de conservação dos charcos. O objetivo final será criar, no futuro, um índice de conservação para estes habitats.

2. METODOLOGIA

2.1. Delimitação da área de estudo

A área de estudo foi delimitada com base na localização dos charcos temporários encontrados durante este trabalho na região do Alentejo (ver secção 2.2). Em termos gerais os charcos encontrados e selecionados abrangem três das sub-regiões (NUTS III) da divisão territorial da Região NUTS II do Alentejo: Alentejo Central, Alentejo Litoral e Baixo Alentejo (Figura 2). Noutra divisão administrativa, a área de estudo abrangeu os distritos de Évora, Beja e Setúbal (neste último, apenas o concelho de Alcácer do Sal).

A região do Alentejo apresenta um clima predominantemente mediterrânico, com exceção da parte mais litoral, sujeita a uma forte influência atlântica. As médias anuais de temperatura rondam os 16°C, e a precipitação os 468 mm anuais (Tabela 2). O Alentejo é uma região predominantemente agrícola (81%) onde dominam a olivicultura (29%), a criação de gado (23%) e plantações cerealíferas aliadas a sistemas agro-silvo-pastoris, como o montado de sobro e azinho (INE, 2009). Ao comparar com os dados recolhidos, também pelo INE, em 1999, verifica-se que tem ocorrido uma transformação agrícola na região, havendo-se registado um aumento da utilização de maquinaria pesada e uma diminuição da produção de culturas temporárias (maioritariamente cereais) em detrimento de culturas, prados e pastagens permanentes para servir de alimento ao gado.

Tabela 2- Valores de temperatura, precipitação e altitude para a região do Alentejo e cada uma das sub-regiões que definem a área de estudo. Dados obtidos do Instituto Nacional de Estatística.

Região/Sub-região	Área (Km ²)	Média da temperatura anual (°C)			Precipitação anual (mm)	Altitude (m)	
		Média	Mínima	Máxima		Max	Min
Alentejo	31604.91	16.3	9.6	23.0	468.4	1027	0
Alentejo Central	7228.84	16.3	9.5	23.0	444.3	653	25
Alentejo Litoral	5309.41	15.9	9.4	22.5	463.1	511	0
Baixo Alentejo	8542.72	16.6	9.7	23.6	464.6	582	24



Figura 2- Mapa administrativo da região do Alentejo dividido pelas sub-regiões e pelos municípios. Fonte: Instituto Nacional de Estatística.

2.2. Procura e localização de charcos temporários

Por ocorrerem em pequenas depressões no terreno e normalmente serem de pequenas dimensões, os charcos temporários mediterrânicos podem passar facilmente despercebidos na paisagem. O facto de não estarem relacionados com cursos de água permanentes também não permite utilizar estes elementos para facilitar a sua localização. A utilização de cartografia pode ser uma ferramenta útil, mas conseguir mapas com pormenor suficiente pode ser difícil e dispendioso. Assim, neste projeto, optou-se por utilizar o *software* gratuito *Google Earth*, o qual utiliza imagens de satélite com excelente qualidade e obtidas em condições ideais (designadamente sem nuvens), e que já foi utilizado na realização de outros estudos com bastante sucesso (e.g. Gonçalves 2013). Este *software* disponibiliza não apenas uma imagem, mas uma sucessão de imagens obtidas em diferentes meses e mesmo em diferentes anos. No caso dos charcos temporários, esta opção é extremamente

útil, por facilitar a observação de ambas as fases inundada e seca (Figura 3), ou mesmo de anos com diferentes níveis de pluviosidade.



Figura 3- Imagens da fase seca (esquerda) e da fase inundada (direita) do mesmo charco obtidas em anos e meses diferentes: imagem da esquerda obtida a 9 de Agosto de 2011; imagem da direita obtida a 26 de Maio de 2013. Fonte: *Google Earth*

Contudo, a identificação de charcos temporários através das imagens pode ser eventualmente enganadora, especialmente naqueles charcos que têm dimensões reduzidas. Estes podem ser confundidos com outras zonas húmidas, tais como as escorrências nos terrenos, as valas e as pequenas barragens. Assim, o processo de identificação dos charcos neste trabalho foi auferindo de um progresso metodológico através da aprendizagem por tentativa e erro.

Complementarmente foram realizados trajetos rodoviários, com início em Janeiro de 2013, para confirmar a ocorrência dos charcos e identificar novas localizações.

Foi realizada uma visita a cada charco, na qual foi realizado um pequeno levantamento florístico para confirmação do habitat, com especial atenção à presença dos bioindicadores identificados por Pinto-Cruz et al. (2011). No seguimento deste processo, foram selecionados para este estudo 40 charcos temporários mediterrânicos identificados através do *Google Earth* e dos trajetos rodoviários, e mais 5 no PNSACV utilizados em estudos prévios como referência (e.g. Pinto-Cruz et al. 2009). A cada charcos foi atribuído um número identificador de 1 a 45.

2.3. Caracterização biofísica dos charcos

Todos os charcos foram georreferenciados utilizando um aparelho GPS *GARMIN GPSMAP 62*. Depois, foram caracterizados através de 28 variáveis escolhidas de forma a descrever a sua morfologia, os tipos de uso de solo na área envolvente, a química da água e a química e textura do solo (Tabela 3). As variáveis de caracterização geral foram obtidas quer no campo, quer recorrendo a *software* quando o seu cálculo no charco era difícil, como se explica abaixo.

A “área” foi calculada recorrendo ao programa *QGIS 2.0 (QGIS Development Team 2013)* após importar o contorno de cada charco obtido no *Google Earth*. O processo é explicado com mais detalhe na secção 2.3.1.

O “diâmetro” refere-se ao comprimento máximo estimado de cada charco, durante a fase inundada. Foi obtido no campo medindo uma distância paralela nas margens e posteriormente confirmada usando a ferramenta “régua” do *Google Earth*.

A “profundidade máxima” refere-se à maior altura da coluna de água medida no charco quando foram realizadas as amostragens. Para obter esta variável percorreu-se o charco até se encontrar a zona mais profunda e registou-se onde o nível da água chegava nas botas de borracha. Já em terra, utilizou-se uma fita métrica para realizar a medição, tendo o cuidado de não contar com o efeito da água ao deslocarmo-nos no charco.

As variáveis “árvores na margem”, “cobertura de árvores” e “arbustos na envolvente” foram escolhidas tendo em conta algum coberto vegetal que poderia ser pertinente para a biologia e ecologia das espécies de anfíbios. Como por exemplo, a importância que o habitat envolvente do charco tem para as espécies como local de refúgio e alimentação. Estas três variáveis foram calculadas utilizando o *Google Earth* para estimar a presença e percentagem, conforme o caso, da cobertura vegetal numa área de 25m em torno do charco.

As variáveis “espécies de flora” e “plantas comestíveis” não faziam parte do planeamento inicial do trabalho, mas foram adicionadas posteriormente com base nas observações feitas em campo. Nomeadamente, verificou-se no decorrer das inventariações de cada charco a ocorrência de várias espécies de flora com “dentadas” causadas por larvas de anuros. Empiricamente, tal sugeriu que estas larvas talvez necessitem de consumir grandes quantidades de matéria vegetal (de certas plantas), especialmente as de *Pelobates cultripes* (L. Sousa e E. Machado, dados não publicados). Estando a ser realizado um estudo nos mesmos charcos

direcionado para a flora, estes dados foram cedidos pela autora (Elia Machado) no fim da realização dos inventários florísticos. Assim, a variável “*plantas comestíveis*” representa o número de espécies de flora dos géneros em que se registou que tinha ocorrido predação por parte de larvas de anfíbios. Como ainda não foi realizado nenhum estudo direcionado para esta relação, é possível que as larvas de anuros se alimentem de muito mais espécies que não foram identificadas durante este trabalho. Assim, acrescentou-se a variável “*espécies de flora*”, que representa o número total de espécies de flora durante a fase de inundação, para completar as espécies que poderiam estar em falta.

Para caracterizar os usos de solo foram selecionadas quatro variáveis: “*lavrado*”, “*tipo de pastoreio*”, “*dejetos*” e “*pisoteio*”. A variável “*lavrado*” indica se o charco foi lavrado no presente ano, tendo sido obtida por observação direta no campo. A variável “*tipo de pastoreio*” foi obtida por observação direta dos animais ou por indícios de presença (dejetos e pegadas). Para os “*dejetos*” contou-se a quantidade de dejetos observados por m² dentro de água utilizando 4 categorias: <1 dejetos/m², ≈1 dejetos/m², 1 a 5 dejetos/m² e >5 dejetos/m². Para o “*pisoteio*” também se recorreu a 4 categorias para caracterizar a intensidade por m²: sem pisoteio, ligeiro, médio e intensivo.

Para as análises da água foram utilizados recipientes devidamente esterilizados de 1 L, que foram totalmente submersos (20 cm) no centro de cada charco até estarem completamente cheios. Teve-se o cuidado de minimizar a entrada de matéria orgânica, tanto quanto possível. Após a recolha, cada recipiente foi fechado sem ar no interior e devidamente acondicionado até ser entregue para análise num prazo máximo de 24h ao Laboratório de Água da Universidade de Évora (Tabela 3).

Para a análise da composição química dos solos foi recolhida uma amostra compósita constituída por 3 subamostras de 10 cm recolhidas do centro, zona intermédia e exterior de cada charco. Todas as amostras foram deixadas a secar durante alguns dias para perderem a humidade e entregues no Laboratório de Física de Solos do Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM) onde foram submetidas a análises físicas e químicas (Tabela 3).

2.3.1. Cálculo da área dos charcos

A área dos charcos pode ser difícil e enganadora de calcular em campo sem recorrer a equipamentos especializados. Assim, neste estudo resolveu-se utilizar *software* informático para o seu cálculo.

Utilizando novamente as imagens de satélite disponibilizadas no *Google Earth*, foram selecionadas as imagens mais nítidas de fases secas. Isto porque, para além de as imagens de fase inundada não estarem disponíveis para todos os charcos (as imagens disponibilizadas só podem ser obtidas em dias sem nuvens), as áreas inundadas podem variar bastante dependendo do mês em que são avaliadas e da pluviosidade anual. Na fase seca é facilmente perceptível, através da diferença de cor, a área do charco e mesmo variações inter-anuais da mesma. Foi utilizada a ferramenta “Adicionar polígono” para construir um modelo da área superficial do charco em formato *kml*.

No programa QGIS foi utilizado um sistema métrico para analisar os polígonos importados anteriormente, que se guardaram no sistema de referência ETRS-LAEA (*Lambert Equal Area*) que preserva a área. Na tabela de atributos foi selecionada a ferramenta “adição” e seguidamente a “calculadora de campo”, onde se criou um novo campo (coluna) selecionando “Geometria » \$area”, obtendo-se assim uma coluna com a área de cada charco em m².

2.4. Amostragem de anfíbios

As amostragens de anfíbios tiveram início a meio do mês de Março de 2013, quando se verificou uma melhoria das condições favoráveis a estes animais, sobretudo um aumento da temperatura do ar (tanto mínima como máxima), devido ao aumento de pluviosidade; e terminaram em Junho. De facto os últimos dois meses de 2012 e os três primeiros meses de 2013 apresentaram valores de precipitação bastante superiores quando comparados com os anos interiores (IPMA, Janeiro de 2014). Daqui resultou num prolongamento do hidroperíodo dos charcos pelo final da Primavera de 2013. Ainda que as temperaturas baixas do Inverno de 2012/2013 (IPMA, Janeiro de 2014) tenham causado um atraso na reprodução da maioria das espécies de anfíbios (observação pessoal). Todavia o período de amostragem efetuado abrangiu a época de reprodução da maioria das espécies que ocorrem na zona de estudo, mas poderiam faltar algumas espécies que se reproduzem mais cedo (Tabela 1). Assim, foi planeado um período adicional de amostragem para o Outono

de 2013. Nesta amostragem, para além da realização da metodologia de varrimentos com um camaroeiro (ver abaixo) também seriam registados indivíduos adultos através de observação direta e/ou pela audição de vocalizações. Porém, devido às condições meteorológicas que se verificaram neste período, designadamente temperaturas muito baixas e pouca precipitação (IPMA, Janeiro de 2014), apenas se conseguiram visitar seis charcos. Estes dados não foram considerados para as análises estatísticas.

Para a amostragem de anfíbios recorreu-se à captura de larvas por arrasto com um camaroeiro, visto que é uma técnica de amostragem mais fácil do que amostrar os adultos (Beja & Alcazar, 2003). Ademais através da identificação das larvas fica automaticamente confirmada a reprodução das respetivas espécies. Assim, houve a necessidade de identificar fielmente em campo as larvas das diferentes espécies, em diferentes fases de desenvolvimento e de forma rápida para não causar qualquer dano aos animais. Para cumprir este objetivo foi necessário um período de aprendizagem pré-amostragem. Esta aprendizagem realizou-se através da leitura de guias e de várias chaves dicotómicas sobre larvas de anfíbios (preferencialmente da Península Ibérica), da observação de fotos, e da criação em cativeiro de algumas larvas que posteriormente foram devolvidas ao local de captura.

As amostragens de arrasto de larvas foram feitas durante o dia e consistiram em três varrimentos numa distância de 10 m com um camaroeiro de cabo e de rede fina, de modo a cobrir todas as variações percecionadas em cada charco (ex: níveis de profundidade; diferentes comunidades florísticas). No final de cada amostragem, as larvas foram devolvidas à água depois de identificadas e contadas. No caso de não se conseguir identificar a espécie em campo, foram tiradas várias fotografias da larva para posterior análise. Também se procedeu ao registo de todas as espécies encontradas em cada charco para referência (observação direta de adultos, juvenis e larvas; registo auditivo de adultos).

Segundo Díaz-Rodríguez *et al.* (2015), o género *Pelodytes* apresenta quatro linhagens distintas na Península Ibérica, nalguns casos consideradas espécies distintas. Devido à relativamente vasta área de estudo deste trabalho, é possível que se tenham encontrado indivíduos de duas destas linhagens diferentes: a linhagem A que se distribui pelo litoral do Barlavento Algarvio até à Beira Litoral; a linhagem B corresponde à espécie *Pelodytes ibericus* e encontra-se no interior do Alentejo. Por não haver ainda estudos posteriores que separem as duas linhagens com base em

caracteres morfológicos, optou-se por utilizar apenas a designação genérica *Pelodytes* spp.

Para as espécies *Pleurodeles waltl* e *Lissotriton boscai* também são referidas populações/linhagens diferentes no Sudoeste de Portugal por van de Vliet *et al.* (2014) e Martínez-Solano *et al.* (2006), respetivamente. Contudo, neste estudo não foram consideradas essas populações/linhagens.

2.5. Tratamento e análise de dados

Na análise dos dados recorreu-se ao *software R*, que disponibiliza uma grande variedade de análises estatísticas em formato livre e de código aberto. Para melhor organização e leitura, foi utilizada a Interface *RStudio IDE*.

Também se recorreu ao programa *Ginkgo Analysis System* (versão 1.7.0) para a realização da análise de espécies indicadoras e do teste de fidelidade para os anfíbios.

2.5.1. Agrupamento dos charcos temporários mediterrânicos

Como os charcos temporários selecionados para este estudo se encontravam dispersos por uma vasta área e, portanto, apresentavam características muito diferentes, optou-se por realizar uma análise de agrupamentos (*cluster analysis*) para agregar os charcos segundo a sua semelhança relativa (caso exista).

A base de dados construída previamente com a informação das características, água e solo dos charcos teve de ser convertida do formado de folha de cálculo do *Microsoft Office Excel* para o formato CSV (separado por vírgulas), e guardada na pasta criada previamente. Ao serem importadas para o *R* teve que se ter em atenção se a informação guardada no formato CSV (separado por vírgulas) estava separada por vírgula (,) ou ponto-e-vírgula (;), dependendo das configurações do computador.

No caso da base de dados do solo, para cada variável foram fornecidos pelo laboratório dois valores, pelo que foi necessário calcular a média para cada charco. Os dois valores são o resultado de se terem replicado as análises para minimizar possíveis erros (e.g. má homogeneização das amostras) e obter um valor mais próximo da realidade. Depois da obtenção da média todas as variáveis foram novamente agregadas numa única tabela (*data frame*): Solos.

Para a realização da análise de agrupamentos é necessária uma base de dados única, portanto através da função *merge* do *R* juntou-se numa única *data frame* os dados da caracterização dos charcos, da água e do solo. Depois, restringiu-se a base de dados às colunas com variáveis, excluindo o “*codigo*” dos charcos, eliminaram-se (*na.omit*) os charcos com dados incompletos e padronizaram-se (*standartisation*) as variáveis através da função *scale*.

Optou-se por fazer um *K-medoid cluster* através de *Partitioning Around Medoids* (*PAM*). Para utilizar este método é necessário definir previamente o número de grupos (*clusters*). Assim recorremos à função *wssplot* (*nc=15; seed=1234*) e através da curva de inflexão obtida conseguimos saber o número apropriado de *clusters*.

Com o número de *clusters* estabelecido, utilizou-se a função *pam* (*cluster package*) e obtivemos os valores de *medoids* para cada charco.

Para representar o *cluster* utilizou-se o método *Ward hierarchical clustering* (*divisive*) para fazer uma divisão hierárquica dos charcos por semelhança dos *medoids* calculados anteriormente.

Foi realizada também uma análise de componentes principais (*Principal Component Analysis, PCA*) para determinar como as diversas variáveis resumiam a variação nas características dos charcos. Utilizando *R*, e com os dados das variáveis já tratados e agrupados, aplicámos a função *PCA* (*FactoMineR package*).

2.5.2. Relações entre as variáveis dos charcos e as espécies de anfíbios

Na análise das relações entre as características dos charcos e das espécies de anfíbios encontradas durante as amostragens, foram utilizadas as variáveis de caracterização dos charcos e das análises da água e solo (Tabela 3), e os dados recolhidos durante os varrimentos (Tabela 4).

Antes de se construir estes modelos, utilizou-se sequencialmente as funções *cor.prob* e *flattenSquareMatrix* (GGD Team, 2012) e a função *chart.correlation* (pacote *PerformanceAnalytics* do *R*) para verificar a ocorrência de correlação elevada ($r > \pm 0,80$) entre pares de variáveis. Em caso positivo uma dessas variáveis de cada par seria omitida das análises multivariadas posteriores.

No programa *R* criou-se um novo *script* e importou-se a base de dados da caracterização total (caracterização geral, água e solo) e dos varrimentos de anfíbios,

todas guardadas no formato correto (ver ponto 2.5.1). Depois, utilizando a função *merge* obteve-se uma base de dados única. Para os dados ficarem todos dentro do mesmo intervalo numérico de amplitude padronizaram-se todas as variáveis, exceto os valores das contagens dos anfíbios durante os varrimentos. Seguidamente para o número total de espécies e para as quatro espécies mais presentes nas amostragens (*Pleurodeles waltl*, *Triturus pygmaeus*, *Pelobates cultripes* e *Hyla meridionalis*) criaram-se tabelas individuais com as variáveis ambientais, excluindo os dados referentes aos varrimentos e omitindo (*na.omit*) aqueles charcos para os quais não foi possível recolher todas as variáveis.

Depois, para cada matriz, criou-se um modelo linear generalizado (*GLM*) baseado numa distribuição *Quasi-Poisson* apenas com as variáveis pouco correlacionadas. Selecionou-se este tipo de modelo por ser adequado a contagens (nº de larvas capturadas) e por corrigir a sobredispersão, que se verificou ao realizar um *GLM* baseado numa distribuição de *Poisson*. A possibilidade da utilização de um *GLM* baseado numa distribuição *Negative Binomial* também foi explorada, mas os resultados não foram significativos, pelo que foi descartada. Após a realização do *GLM Quasi-Poisson* utilizou-se a função *modelTrim* (pacote *fuzzySim*) para simplificar o modelo, selecionando apenas as variáveis significativas (valor de significância $\leq 0,05$). Seguidamente, aplicou-se a função *Dsquared* (pacote *modEva*) que indica quanto é que o modelo explica da relação entre as espécies e as variáveis.

Porque as variáveis recolhidas do solo poderiam não afetar diretamente os anfíbios, optou-se por realizar dois modelos: um com variáveis do solo (*Modelo 1*) e outro sem estas variáveis (*Modelo 2*).

2.5.3. Análise de espécies indicadoras e teste de fidelidade

Comparando as características que definem o *Habitat 3170** (ALFA, 2004; Ruiz, 2008), tendo em conta a caracterização feita em cada charco, e dando especial atenção às espécies de flora associadas (Pinto-Cruz *et al.*, 2011), foi atribuído a cada charco um estado de conservação: bom, intermédio e mau. Com esta classificação ordinal, foi criada uma matriz no programa Microsoft Office Excel, a qual posteriormente foi guardada no formato “*texto (separado por tabulações)*”. A mesma transformação foi feita para a base de dados de presença/ausência e abundâncias das espécies de anfíbios capturadas nos varrimentos.

No programa *Ginkgo Analysis System* (ver 1.7.0), importou-se a matriz do estado de conservação para *partitions* do *analysis manager* e, para cada uma das restantes matrizes (presença/ausência e abundâncias), foi realizada uma análise de espécies indicadoras (*diagnostic species analysis*), com 2000 permutações e um nível de significância de 0.05, e uma análise de fidelidade (*cluster species fidelity*).

3. RESULTADOS

3.1. Charcos encontrados

Da procura de charcos temporários utilizando o *Google Earth* obteve-se 75 possíveis localizações. Com a realização dos trajetos rodoviários foram encontrados 45 charcos temporários, alguns coincidentes com os encontrados no *Google Earth*. No total foram encontrados 76 charcos temporários. Não obstante, por motivos práticos, para este estudo ficaram selecionados 45 charcos temporários mediterrânicos (Figura 4) os quais foram caracterizados e amostrados para anfíbios. Entretanto, devido a perturbações antropogénicas entre visitas, não foi possível recolher amostras de água de 3 destes charcos e amostras de solo de 4 charcos, ficando um total de 5 charcos sem estas variáveis medidas: dois no PNSACV e os três restantes distribuídos pela restante área de estudo.

Ao comparar a distribuição dos charcos amostrados segundo o método de divisão do território *Universal Transversa de Mercator* (UTM) 10x10 km, verificou-se que os charcos ocorrem distribuídos por 20 destas quadrículas.

Nos 45 charcos registou-se uma grande heterogeneidade nas características – vide em pormenor a Tabela 3. Tanto apareceram charcos de tamanho reduzido (43 m²) como charcos com um tamanho bem apreciável (77384 m²), comparável com massas de água de maiores dimensões, que normalmente são permanentes. Apesar do declive pouco acentuado, alguns charcos podem chegar a ter uma altura de 1 m na coluna de água no seu ponto mais profundo. Estes charcos podem ocorrer isolados ou em núcleos, independentemente do tamanho de cada um. A área adjacente ao charco é dominada por prados de herbáceas com algumas árvores e arbustos esporádicos, embora estes charcos também possam ocorrer em montados densos. Em termos de comunidades florísticas, foi registada uma grande variação, desde charcos temporários mediterrânicos extremamente ricos e com vários bioindicadores (Pinto-Cruz et al., 2011), até charcos temporários mediterrânicos que, por se encontrarem extremamente degradados, tinham apenas uma espécie de flora típica durante a fase

inundada. A maioria dos charcos (41 deles) apresentava indícios de intervenção humana, principalmente pastoreio por gado bovino.

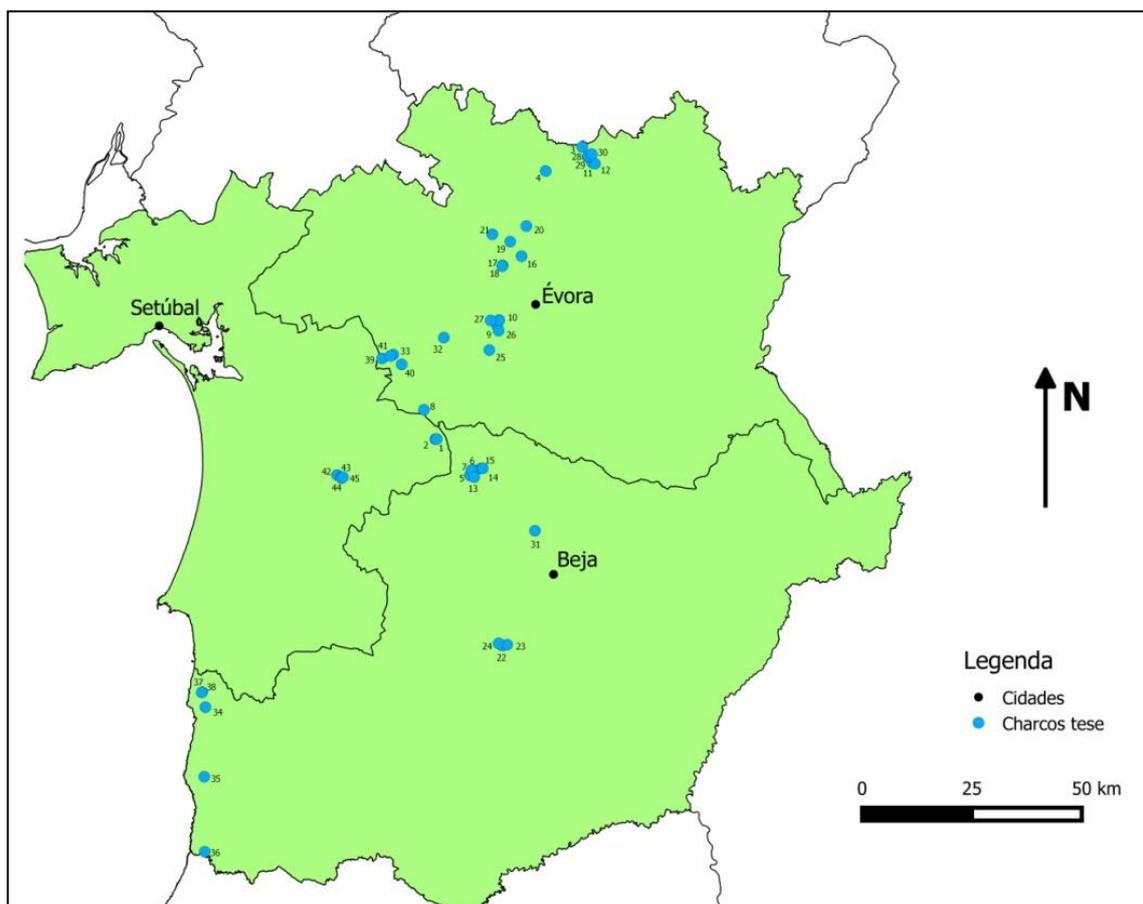


Figura 4- Mapa administrativo (por distritos) da área de estudo com a localização dos 45 charcos temporários Mediterrânicos

No que respeita às condições químicas da água também se observou alguma heterogeneidade. Assim, o pH da água dos 43 charcos varia desde o ligeiramente ácido (6.2) até ao ligeiramente alcalino (8.1). A condutividade não excede os 562 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Os valores de nitritos (NO_2), nitratos (NO_3) e amónio (NH_4) são relativamente baixos não excedendo, respetivamente, os 0.168 mg/l, os 25.07 mg/l e os 1.87 mg/l. São charcos relativamente bem oxigenados (Said *et al*, 2004), com um valor médio de 88,7 % de saturação, pelo que apresentam valores reduzidos de “Carência Bioquímica em Oxigénio”- esta não ultrapassou os 35 mg/l O_2 . Os níveis de fosfatos também são reduzidos e só em três charcos atingiram valores que podem ser preocupantes. Na grande maioria dos charcos, a água é considerada macia (<60 mg/l CaCO_3) ou moderadamente dura (60-120 mg/l CaCO_3), e apenas um charco apresenta água

muito dura (>180 mg/l CaCO₃) (valores segundo a Organização Mundial de Saúde). Em suma, os níveis de fosfatos e dureza são baixos.

As análises do solo dos 41 charcos demonstraram que estes apresentam baixos valores de conteúdo em carbono, têm um pH de ácido a pouco ácido, baixa condutividade, baixo teor de azoto e, dependendo da percentagem de areia, argila e limo, a textura do solo pode variar entre as classes: arenoso-franco, franco, franco-arenoso, franco-argilo-arenoso, franco-argilo-limoso, franco-argiloso e franco-limoso (Figura 5).

Tabela 3- Variáveis utilizadas na caracterização dos charcos e valores medidos

Variáveis	Código	Unidades	Amplitude (Min-Max)	Média
Caracterização				
Área	area	m ²	43-77384	10147,73
Diâmetro	Diametro	m	15-400	104,00
Profundidade máxima	ProfMax	m	0,1-1	0,53
Árvores na margem	ArvMarg	Presença (0/1)	0-1	0,51
Cobertura de árvores	CobertArv	Percentagem (0-1)	0-0,8	0,18
Arbustos na envolvente	ArbEnv	Presença (0/1)	0-1	0,44
Espécies de flora	Spflora	Total espécies flora	1-22	9,82
Espécies flora "comestíveis"	Florcome	Total espécies "comestíveis"	0-6	1,69
Lavrado	Lavrado	Presença (0/1)	0-1	0,22
Tipo pastoreio	Pastoreio	Cabeças normais (CN)	0-1	0,70
Dejetos	Dejectos	Nível (0-3)	0-2	0,60
Pisoteio	Pisoteio	Nível (0-3)	0-3	1,13
Água				
pH água	pHagua	Unidades de pH	6,2-8,1	6,96
Condutividade água	condagua	µS/cm a 20°C	66-562	154,93
Nitritos	nitritos	mg/l NO ₂	0.013-0.17	0,030
Nitratos	nitratos	mg/l NO ₃	0.11-25.07	3,73
Amónio	amonio	mg/l NH ₄	0.025-1.87	0,40
Oxigénio dissolvido	o2dissol	% saturação	53.7-140.9	88,69
Carecia bioquímica de oxigénio	carenco2	mg/l O ₂	0.5-35	8,71
Fosfatos	fosfatos	mg/PO ₄	0.06-2.63	0,29
Dureza	dureza	mg/l CaCO ₃	5-312	87,45
Solo				
Carbono	carbono		0.31-3.59	1,75
pH solo	pHs	Unidades de pH	4.90-6.46	5,47
Condutividade solo	conduts	µS/cm	41.0-386.5	11,56
Azoto	azoto	Percentagem total	0.01-0.49	0,16
Areia	areia	Percentagem total	24.9-90	59,06
Limo	limo	Percentagem total	3.2-46.4	19,4
Argila	argila	Percentagem total	6.8-41.4	21,53

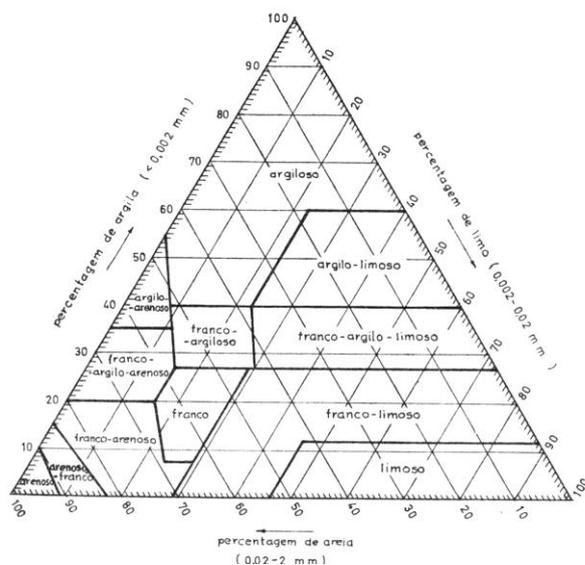


Figura 5- Diagrama para classificação das classes de textura do solo adaptado aos limites internacionais das frações granulométricas, por M. Pereira Gomes e A. Antunes da Silva

3.2. Amostragem de anfíbios

Durante as amostragens foram realizados 135 varrimentos onde foram capturadas um total de 1496 larvas pertencentes a 8 espécies. As espécies mais comuns foram o sapo-de-unha-negra (*Pelobates cultripes*), com 683 indivíduos capturados em 33 charcos, a rela-meridional (*Hyla meridionalis*), com 331 indivíduos capturados em 26 charcos, e a salamandra-de-costelas-salientes (*Pleurodeles waltl*) com 131 indivíduos capturados também em 26 charcos. As espécies menos comuns foram a rela-comum (*Hyla molleri*), com apenas 1 indivíduo capturado, o sapinho-de-verrugas-verdes (*Pelodytes* spp.), com 3 indivíduos capturados em 2 charcos, e o tritão-de-ventre-laranja (*Lissotriton boscai*), com 4 indivíduos capturados em 2 charcos (Tabela 4). *Pelobates cultripes* foi a espécie mais comum representando 46% das capturas (Figura 6).

Durante a visita aos 6 charcos no Outono de 2013 foram encontradas 5 espécies de anfíbios: *Pelobates cultripes*, *Pelodytes* spp., *Pleurodeles waltl*, *Salamandra salamandra* e *Epidalea calamita*. Quase a totalidade destes registos constituem espécies não registadas durante a amostragem da primavera nestes charcos.

Tabela 4- Número de larvas capturadas e a sua presença nos charcos; Registo total de presença das espécies nos charcos incluindo os registos ocasionais

Espécie	Varrimentos			Total de observações	
	Nº larvas	Presença nos charcos	Presença nos charcos (%)	Presença nos charcos	Presença nos charcos (%)
<i>Lissotriton boscai</i>	4	2	4.4	4	8.9
<i>Pleurodeles waltl</i>	131	26	57	29	64.4
<i>Salamandra salamandra</i>	0	0	0	1	2.2
<i>Triturus pygmaeus</i>	141	18	40	18	40
<i>Alytes cisternasii</i>	0	0	0	1	2.2
<i>Bufo spinosus</i>	0	0	0	2	4.4
<i>Discoglossus galganoi</i>	0	0	0	2	4.4
<i>Epidalea calamita</i>	202	2	4.4	19	42.2
<i>Hyla meridionalis</i>	331	26	57	30	66.7
<i>Hyla molleri</i>	1	1	2.2	4	8.9
<i>Pelobates cultripes</i>	683	33	73.3	38	84.4
<i>Pelodytes spp.</i>	3	2	4.4	7	15.6
<i>Pelophylax perezi</i>	0	0	0	14	31.1

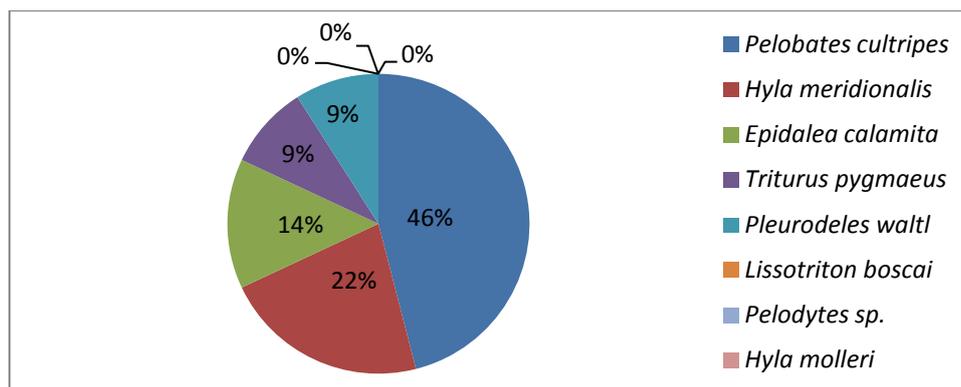


Figura 6- Percentagem de capturas de cada espécie no total de larvas capturadas durante a amostragem

Com os registos complementares realizados durante todo o estudo, incluindo na fase de identificação de charcos e na visita realizada no outono, foram encontradas todas as 13 espécies de anfíbios identificadas para a área de estudo. Apesar de as espécies mais comuns serem as mesmas, a sua presença nos charcos aumentou ligeiramente, tendo o sapo *Pelobates cultripes* sido observado em 38 charcos, a rã *Hyla meridionalis* em 30 e a salamandra *Pleurodeles waltl* em 29. Com estas observações, as espécies menos comuns alteraram-se ligeiramente. Assim no final *Salamandra salamandra* e *Alytes cisternasii* foram observados em apenas um charco, e *Discoglossus galganoi* e *Bufo spinosus* encontradas em dois charcos. Comparando com os dados publicados no Atlas dos Anfíbios e Répteis de Portugal (Loureiro *et al.*,

2010) assente em quadrículas UTM 10x10 km, com o presente trabalho acrescentaram-se 16 novos registos de ocorrência (8 espécies) para 11 novas destas quadrículas, na área de estudo.

Com a realização dos varrimentos nos charcos, notou-se uma grande plasticidade na cor, tamanho, peso e forma (incluindo malformações) nas larvas de algumas espécies de anfíbios (Figura 8 e Figura 7).



Figura 8- Exemplos de variações em larvas de *Pleurodeles waltl* capturadas em charcos com condições diferentes



Figura 7- Exemplos de variações em larvas de *Pelobates cultripes* capturadas em charcos com condições diferentes

3.3. Agrupamento de charcos

A análise da correlação revelou uma forte correlação positiva entre a *área* e o *diâmetro* (0,81) e uma forte correlação entre a *areia* e o *limo* (-0,91) e a *argila* (0,89). As variáveis mantidas para as análises foram a *área* e a *areia*, pela sua importância enquanto *factor loadings* na *PCA*. Através da realização da *PCA* verificou-se que cinco componentes principais explicam 56,7% da variância nas características dos charcos (Tabela 5), e que apenas 14 *factor loadings* (> 0,60) tendem a separar os charcos (Tabela 6)

Com um efeito positivo temos as variáveis *amónio*, *limo*, *argila*, *espécies de flora*, *carbono*, *tipo de pastoreio*, *dejetos*, *pisoteio*, *condutividade da água*, *dureza* e *carência bioquímica de oxigénio*. Com um efeito negativo surgem apenas as variáveis *cobertura de árvores* e *área*.

Tabela 5- Valores de *Eigenvalue* obtidos da análise de componentes principais (PCA)

	Eigenvalue	Percentagem de variância	Percentagem de variância cumulativa
Comp 1	4,43	15,82	15,82
Comp 2	3,78	13,50	29,32
Comp 3	3,12	11,15	40,47
Comp 4	2,46	8,78	49,25
Comp 5	2,09	7,47	56,72

Tabela 6- Valores de *Factor loadings* obtidos da análise de componentes principais (PCA). A negrito encontram-se marcadas as variáveis com um valor superior a 0,60.

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
Área	0,0044	0,4982	-0,6610	0,0823	0,2624
Diâmetro	-0,2941	0,5227	-0,4153	0,0667	0,3594
Profundidade máxima	-0,0486	0,2309	0,5597	-0,1377	-0,1493
Árvores na margem	-0,4970	-0,0441	0,2963	0,2675	-0,1265
Cobertura árvores	-0,6604	0,0042	0,0220	0,2006	0,0241
Arbustos na envolvente	-0,5169	0,0104	0,0231	-0,4267	-0,0045
Espécies de flora	-0,3815	0,6238	-0,3012	0,0114	-0,0654
Espécies flora "comestíveis"	0,0567	0,0783	-0,3065	0,2024	-0,2119
Lavrado	0,5211	-0,3910	-0,3083	0,0740	-0,0243
Tipo pastoreio	0,1494	0,2725	0,7074	-0,1509	0,2153
Dejetos	0,0949	0,1675	0,6233	0,0191	-0,0468
Pisoteio	0,3194	0,0077	0,6469	0,2240	0,0221
pH água	0,4800	-0,3554	-0,1519	0,0717	-0,4925
Condutividade água	-0,0794	-0,0553	-0,1962	0,6990	0,2935
Nitritos	0,2025	-0,0911	0,0362	-0,3629	0,2662
Nitratos	0,1039	-0,1340	-0,1272	-0,5021	-0,4982
Amónio	0,6214	-0,1988	0,0870	-0,0743	0,4104
Oxigénio dissolvido	-0,1672	0,5043	-0,1939	0,0739	-0,4306
Carecia bioquímica de oxigénio	0,3453	0,0260	0,0715	0,1559	0,6346
Fosfatos	0,4312	0,1069	0,0922	-0,3098	0,3134
Dureza	0,4040	-0,4012	-0,0658	0,6542	0,0111
Carbono	0,0123	0,7744	0,1984	0,3283	-0,0909
pH solo	-0,0499	-0,5434	-0,0918	0,3416	-0,0804
Condutividade solo	0,3619	0,1794	0,2493	0,5090	-0,4250
Azoto	-0,3848	0,3779	0,3542	0,2917	0,1163
Areia	-0,7271	-0,5703	0,1295	0,0405	0,1160
Limo	0,6796	0,4683	-0,3395	-0,0898	-0,0372
Argila	0,6265	0,5609	0,1217	0,0208	-0,1754

Com a realização da análise de agrupamentos, todos os 40 charcos para os quais se dispunha de todas as variáveis foram agrupados por semelhança independentemente da sua localização (Figura 9). Da esquerda para a direita, o primeiro *cluster* apresenta charcos distribuídos por toda a área de estudo com 72,7% dos charcos com bom estado de conservação (ver capítulo 3.5). O segundo *cluster* apresenta novamente charcos distribuídos por toda a área de estudo mas com os estados de conservação repartidos pelo intermédio e mau (50/50%). O terceiro *cluster* apresenta charcos localmente próximos e todos com mau estado de conservação. O

quarto *cluster* apresenta novamente charcos bastante próximos mas com estados de conservação diferentes (um bom e um intermédio). O quinto *cluster* apresenta charcos distribuídos por toda a área de estudo e com os três estados de conservação atribuídos (dois bons, dois intermédios e dois maus). O sexto *cluster* apresenta charcos distribuídos por toda a área de estudo e com 71,4% de charcos com um estado de conservação intermédio.

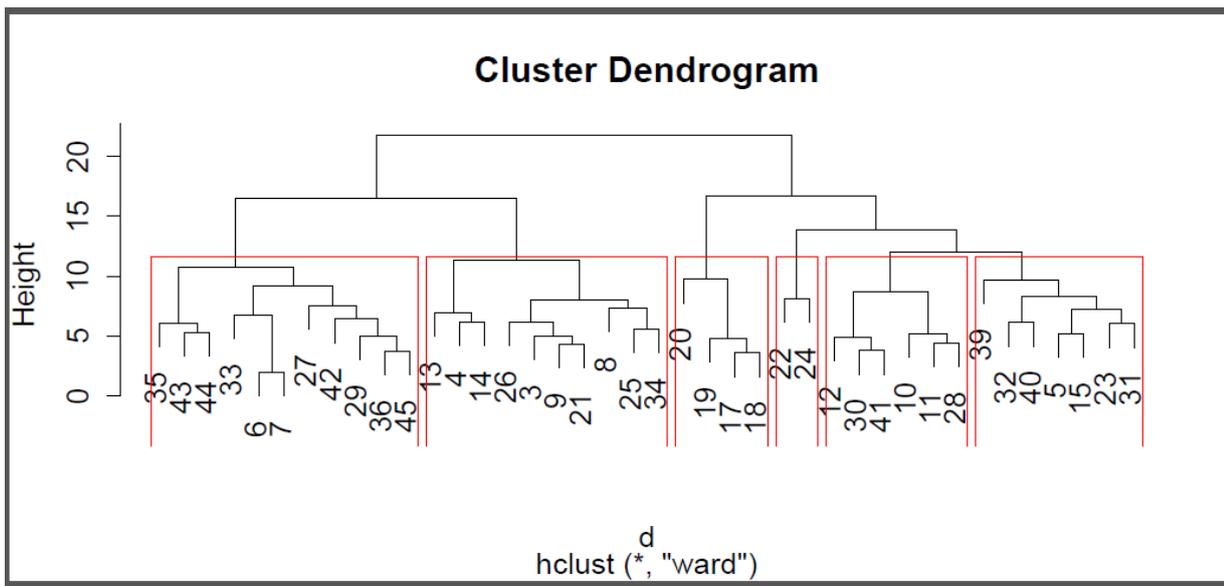


Figura 9- Agrupamento dos charcos por semelhança. As caixas vermelhas delimitam cada um dos 6 *clusters*

3.4. Preferências ecológicas dos anfíbios

Ao comparar os resultados (Tabela 12) dos dois modelos (1 e 2) notou-se que o solo, contrariamente ao que se pensava, contribuiu para dar mais robustez aos resultados, tendo-se obtido valores superiores desviância explicada. Isto significa que os modelos com as variáveis do solo (*Modelo 1*) conseguem explicar melhor as variações no número de espécies e na sua abundância. Contudo, para a espécie *Pelobates cultripes* a situação é a inversa, sendo o modelo sem as variáveis solo (*Modelo 2*) o mais explicativo.

Para o total de espécies capturadas nos varrimentos por charco (Tabela 7), o *Modelo 1* revelou-se o mais explicativo e onde a quantidade de *carbono* no solo é a variável mais explicativa, afetando positivamente o número de espécies. Por outro lado, a *carência bioquímica em oxigénio* e o *azoto* têm um efeito ligeiramente negativo

no número de espécies. No *Modelo 2* as variáveis *oxigênio dissolvido* e *carência bioquímica de oxigênio* possuem um efeito negativo na espécie.

Tabela 7- Valores dos modelos lineares generalizados para todas as espécies de anfíbios

Total espécies	Estimate	Std. Error	T value	Pr (> t)
Modelo 1: com solo				
(Intercept)	0,89	0,064	14,012	1,9e ⁻¹⁵
Pastoreio	0,15	0,070	2,22	0,033
Oxigênio dissolvido	-0,20	0,080	-2,56	0,015
Carência bioquímica de oxigênio	-0,25	0,077	-3,25	0,0026
Carbono	0,40	0,11	3,71	0,00078
Azoto	-0,42	0,12	-3,52	0,0013
Areia	0,22	0,092	2,39	0,023
Modelo 2: sem solo				
(Intercept)	0,93	0,070	13,21	1,42e ⁻¹⁵
Oxigênio dissolvido	-0,19	0,076	-2,48	0,018
Carência bioquímica de oxigênio	-0,23	0,084	-2,75	0,0092

Para a espécie *Pleurodeles waltl* (Tabela 8), o modelo mais explicativo é novamente o *Modelo 1*, tendo mais do dobro do valor de desviância explicada obtido para o *Modelo 2*. Segundo este modelo as variáveis *profundidade máxima*, *cobertura de árvores*, *espécies de flora*, *nitratos*, *oxigênio dissolvido*, *carência bioquímica em oxigênio*, *fosfatos*, *dureza* e *pH solo* afetam negativamente a abundância desta espécie, enquanto que a presença de *árvores na margem*, *espécies de flora comestíveis* e *a condutividade do solo* a afetam positivamente. Para o *Modelo 2* todas as variáveis têm um efeito negativo na abundância da espécie: *área*, *arbustos na envolvente*, *pH água* e *condutividade água*.

Tabela 8- Valores dos modelos lineares generalizados para *Pleurodeles waltl*

<i>Pleurodeles waltl</i>	Estimate	Std. Error	T value	Pr (> t)
Modelo 1: com solo				
(Intercept)	0,18	0,22	0,82	0,42
Profundidade máxima	-1,12	0,20	-5,52	8,66e ⁻⁰⁶
Arvores na margem	1,31	0,26	5,10	2,54e ⁻⁰⁵
Cobertura de árvores	-1,76	0,34	-5,27	1,66e ⁻⁰⁵
Espécies de flora	-1,18	0,26	-4,54	0,00011
Espécies flora "comestíveis"	0,39	0,16	2,43	0,022
Lavrado	-0,56	0,20	-2,78	0,0099
Nitratos	-0,77	0,16	-4,92	4,21e ⁻⁰⁵
Oxigênio dissolvido	-2,38	0,40	-5,98	2,57e ⁻⁰⁶
Carência bioquímica em oxigênio	-1,52	0,28	-5,49	9,25e ⁻⁰⁶
Fosfatos	-0,91	0,20	-4,59	0,00010
Dureza	-1,70	0,34	-5,002	3,34e ⁻⁰⁵
pH solo	-0,64	0,19	-3,33	0,0026
Condutividade solo	1,30	0,28	4,69	7,56e ⁻⁰⁵

Modelo 2: sem solo				
(Intercept)	0,68	0,20	3,394	0,0017
Área	-0,86	0,32	-2,68	0,011
Arbustos na envolvente	-0,52	0,17	-3,030	0,0046
pH água	-0,54	0,20	-2,63	0,012
Condutividade água	-0,42	0,21	-2,059	0,047

No *Modelo 1* para a espécie *Triturus pygmaeus* (Tabela 9) todas as variáveis foram significativas e a desviância explicada teve como resultado 1. Também a *Null deviance* apresentou valores bastante elevados. Estes resultados indicam que ocorreu um sobre-ajustamento do modelo aos dados analisados. Do *Modelo 2* resultou que a presença de *arbustos na envolvente* tem um efeito positivo na abundância da espécie, enquanto que as variáveis *nitratos*, *carência bioquímica de oxigénio* e a *dureza da água* têm um efeito ligeiramente negativo na espécie.

Tabela 9- Valores dos Modelos lineares generalizados para *Triturus pygmaeus*

<i>Triturus pygmaeus</i>	Estimate	Std. Error	T value	Pr (> t)
Modelo 1: com solo				
(Intercept)	-83,61	1,10	-76,33	< 2e ⁻¹⁶
Área	-46,13	0,64	-72,16	< 2e ⁻¹⁶
Profundidade máxima	25,13	0,39	64,83	< 2e ⁻¹⁶
Arvores na margem	68,16	1,026	66,45	< 2e ⁻¹⁶
Cobertura de árvores	-39,10	0,81	-48,29	< 2e ⁻¹⁶
Arbustos na envolvente	11,32	0,36	31,68	1,97e ⁻¹⁴
Espécies de flora	8,58	0,28	30,51	3,30e ⁻¹⁴
Espécies flora "comestíveis"	-49,19	0,80	-61,74	< 2e ⁻¹⁶
Lavrado	-30,30	0,70	-43,39	2,51e ⁻¹⁶
Pastoreio	-48,86	0,79	-62,24	< 2e ⁻¹⁶
Dejectos	-24,84	0,50	-49,82	< 2e ⁻¹⁶
Pisoteio	43,57	0,67	64,99	< 2e ⁻¹⁶
pH água	-11,97	0,32	-37,15	2,17e ⁻¹⁵
Condutividade água	-11,44	0,33	-34,68	5,61e ⁻¹⁵
Nitritos	-46,63	0,84	-55,35	< 2e ⁻¹⁶
Nitratos	14,23	0,42	33,50	9,09e ⁻¹⁵
Amonio	1,62	0,37	4,83	0,00027
Oxigénio dissolvido	20,015	1,094	18,30	3,58e ⁻¹¹
Carência bioquímica em oxigénio	-3,99	0,72	-5,54	7,32e ⁻⁰⁵
Fosfatos	32,28	0,52	62,19	< 2e ⁻¹⁶
Dureza	28,82	0,86	33,58	8,78e ⁻¹⁵
Carbono	-4,28	0,57	-7,57	2,61e ⁻⁰⁶
pH solo	-7,021	0,30	-23,78	1,02e ⁻¹²
Condutividade solo	-132,78	1,92	-69,19	< 2e ⁻¹⁶
Azoto	25,21	0,37	68,77	< 2e ⁻¹⁶
Areia	-32,90	0,56	-59,14	< 2e ⁻¹⁶
Modelo 2: sem solo				
(Intercept)	-0,24	0,49	-0,48	0,63
Arbustos na envolvente	0,72	0,23	3,21	0,0029
Nitratos	-2,13	0,72	-2,94	0,0058
Carência bioquímica em oxigénio	-0,99	0,37	-2,69	0,011
Dureza	-0,94	0,31	-3,012	0,0048

Para a espécie *Pelobates cultripes* (Tabela 10), o *Modelo 2* foi o mais explicativo da abundância da espécie. No *Modelo 1* a área e a presença de arbustos têm um efeito negativo na espécie enquanto que a quantidade de nitratos na água e o pH do solo têm um efeito positivo. No *Modelo 2* a área, a presença de arbustos na envolvente, o pH da água, a condutividade e o oxigénio dissolvido têm um efeito negativo na espécie. Por outro lado a profundidade máxima, o número de plantas “comestíveis”, a quantidade de nitratos e a dureza da água afetam positivamente a espécie.

Tabela 10- Valores dos Modelos lineares generalizados para *Pelobates cultripes*

<i>Pelobates cultripes</i>	Estimate	Std. Error	T value	Pr (> t)
Modelo 1: com solo				
(Intercept)	2,20	0,24	9,12	8,98e ⁻¹¹
Área	-0,81	0,36	-2,23	0,032
Arbustos na envolvente	-0,75	0,21	-3,61	0,00094
Nitratos	0,37	0,12	3,07	0,0041
pH solo	0,28	0,13	2,14	0,040
Modelo 2: sem solo				
(Intercept)	1,78	0,26	7,00	8,92e ⁻⁰⁸
Área	-0,99	0,34	-2,91	0,0068
Profundidade máxima	0,35	0,16	2,15	0,040
Arbustos na envolvente	-0,47	0,19	-2,46	0,020
Espécies flora “comestíveis”	0,43	0,15	2,81	0,0086
pHagua	-0,71	0,35	-2,044	0,050
Condutividade água	-0,65	0,27	-2,43	0,021
Nitratos	0,40	0,12	3,27	0,0027
Oxigénio dissolvido	-0,64	0,16	-3,87	0,00055
Dureza	0,63	0,27	2,37	0,025

Para a espécie *Hyla meridionalis* (Tabela 11) o *Modelo 1* é claramente o mais explicativo, com 0,93 de desviância explicada. Com um valor positivo sobre a abundância da espécie entraram as variáveis *área, espécies flora comestível, lavrado, pastoreio, carbono* e *areia*. Com um efeito negativo entraram as variáveis *pisoteio, nitratos, oxigénio dissolvido, carência bioquímica em oxigénio e azoto*. Do *Modelo 2* resultaram com um efeito positivo as *espécies de flora comestíveis* e com um efeito negativo a *carência bioquímica em oxigénio*.

Tabela 11- Valores dos Modelos lineares generalizados para *Hyla meridionalis*

<i>Hyla meridionalis</i>	Estimate	Std. Error	T value	Pr (> t)
Modelo 1: com solo				
(Intercept)	0,57	0,28	1,99	0,059
Área	0,69	0,17	4,051	0,00053
Profundidade máxima	-0,71	0,26	-2,78	0,011
Arbustos na envolvente	0,50	0,18	2,81	0,010
Espécies flora "comestíveis"	0,50	0,12	4,17	0,00040
Lavrado	1,24	0,26	4,67	0,00012
Pastoreio	1,83	0,32	5,73	9,14e ⁻⁰⁶
Pisoteio	-1,02	0,23	-4,52	0,00017
pHagua	0,95	0,26	3,66	0,0014
Nitratos	-0,97	0,22	-4,35	0,00026
Oxigénio dissolvido	-1,49	0,29	-5,092	4,21e ⁻⁰⁵
Carência bioquímica em oxigénio	-1,97	0,32	-6,20	3,06e ⁻⁰⁶
Fosfatos	-0,53	0,17	-3,14	0,0048
Dureza	-0,76	0,34	-2,26	0,034
Carbono	2,75	0,48	5,70	9,80e ⁻⁰⁶
Condutividade solo	0,73	0,33	2,26	0,034
Azoto	-2,73	0,60	-4,52	0,00012
Areia	1,15	0,24	4,82	8,21e ⁻⁰⁵
Modelo 2: sem solo				
(Intercept)	1,41	0,25	5,60	2,59e ⁻⁰⁶
Espécies flora "comestíveis"	0,88	0,17	5,055	1,36e ⁻⁰⁵
Lavrado	0,60	0,24	2,55	0,015
Pastoreio	0,84	0,24	3,47	0,0014
Carência bioquímica em oxigénio	-0,90	0,24	-3,78	0,0006

Tabela 12- Valores da desviância explicada por todos os modelos lineares generalizados

Dsquared	Total espécies	<i>Pleurodeles waltl</i>	<i>Triturus pygmaeus</i>	<i>Pelobates cultripes</i>	<i>Hyla meridionalis</i>
Modelo 1: Com solo	0,47	0,79	1	0,53	0,93
Modelo 2: Sem solo	0,22	0,37	0,63	0,75	0,59

3.5. Estado de conservação dos charcos encontrados

Da análise do estado de conservação dos 45 charcos obteve-se a seguinte classificação: 12 bons, 17 intermédios e 16 maus (Tabela 13). Após esta classificação analisaram-se as características dos charcos com um bom estado de conservação e compararam-se com as espécies de anfíbios amostrados nos varrimentos.

Tabela 13- Número de charcos para cada estado de conservação atribuído e média do número de espécies de anfíbios capturadas nas amostragens e número de espécies total encontradas (incluindo registos ocasionais)

Estado conservação	Nº de charcos	Média espécies (varrimentos)	Média espécies (total)
Bom	12	2.67	4.25
Intermédio	17	2.24	3.71
Mau	16	2.5	3.375

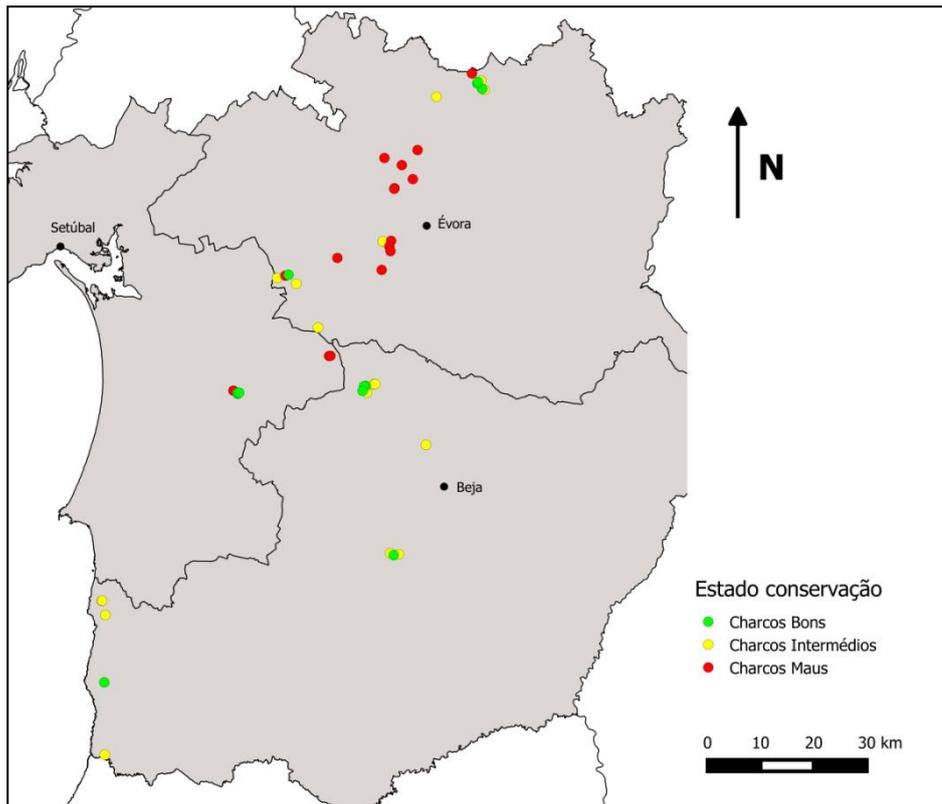


Figura 10- Distribuição dos 45 charcos temporários Mediterrânicos com os estados de conservação atribuídos

3.5.1. Características dos charcos bem conservados

Ao comparar os charcos classificados como bem conservados com as suas características e com as espécies de anfíbios, verificou-se que estes charcos apresentam, na sua generalidade, dimensões grandes (área de 2577 – 77384m²), com profundidades até os 70 cm, com vegetação na sua envolvente (árvores e arbustos) e mais de 10 espécies de flora durante a fase inundada, das quais pelo menos uma pertence às designadas “*plantas comestíveis*”. São charcos que não apresentam ação mecânica antropogénica (lavrado) mas que apresentam pastoreio, principalmente por gado bovino, ainda que em baixa intensidade de encabeçamento. As águas destes charcos são ligeiramente ácidas (mediana 6,7), com baixa condutividade, nitritos, nitratos e amónio. Apresentam elevada saturação em oxigénio (próximo de 100%) e baixa carência bioquímica em oxigénio. O solo apresenta níveis baixos de carbono, pH mediano de 5,4, condutividade baixa (máximo 155,5 µS/cm) e percentagem de azoto também baixa (máximo 0,49%). Os valores de areia, limo e argila são bastante variáveis devido à ampla distribuição dos charcos.

Em relação às espécies de anfíbios, o valor máximo de riqueza específica amostrado durante os varrimentos foi de 5 espécies num único charco. Contudo, a média de espécies das amostragens é de $2,67 \pm 1,15$ espécies por charco.

Se considerarmos o total de observações, o valor máximo de riqueza específica aumenta para 8 espécies e a média aumenta para $4,25 \pm 1,66$ espécies por charco.

3.5.2. Análise de espécies indicadoras

Da realização da análise de espécies indicadoras (*diagnostic species analysis*) com as presenças/ausências (Tabela 14), para o nível de significância de 0.05 não se obteve nenhuma espécie indicadora para os três tipos de conservação dos charcos (Bom, Intermédio e Mau).

Da realização da mesma análise com a abundância de larvas capturadas nos varrimentos (Tabela 15) obteve-se duas espécies indicadoras: *Triturus pygmaeus* para o estado de conservação Bom, com significância de 0,02; e *Pleurodeles waltl* para o estado de conservação Mau, com significância de 0,02.

Para a análise de fidelidade foram considerados valores de significância superiores a 0,25. Assim, para os charcos com estado de conservação *Bom* temos a rela *Hyla molleri*. Para os charcos com estado *Intermédio* o sapinho *Pelodytes sp.*. Para os charcos com estado de conservação *Mau* temos *Pleurodeles waltl*. Com valores próximos do valor de significância considerado, temos apenas para o estado de conservação *Bom* o tritão *Triturus pygmaeus* (0,226) e a rela *Hyla meridionalis* (0,210) (Tabela 16).

Tabela 14- Resultados da *diagnostic species analysis* para as Presenças/Ausências

Espécies	Signification			Strength		
	Index	Statistic	P-value	Bom	Intermedio	Mau
<i>Lissotriton boscai</i>	0	0,22	0,72	0,22	0,00	0,16
<i>Pleurodeles waltl</i>	2	0,57	0,14	0,44	0,31	0,57
<i>Triturus pygmaeus</i>	0	0,52	0,16	0,52	0,32	0,28
<i>Epidalea calamita</i>	2	0,18	1,00	0,00	0,17	0,18
<i>Hyla meridionalis</i>	0	0,56	0,23	0,56	0,35	0,42
<i>Hyla molleri</i>	0	0,29	0,27	0,29	0,00	0,00
<i>Pelobates cultripes</i>	1	0,56	0,33	0,40	0,56	0,51
<i>Pelodytes sp.</i>	1	0,34	0,32	0,00	0,34	0,00

Tabela 15- Resultados da *diagnostic species analysis* para as Abundâncias

Espécies	Index	Signification		Strength		
		Statistic	P-value	Bom	Intermedio	mau
<i>Lissotriton boscai</i>	0	0,22	0,72	0,22	0,00	0,16
<i>Pleurodeles waltl</i>	2	0,70	0,02	0,37	0,22	0,70
<i>Triturus pygmaeus</i>	0	0,65	0,02	0,65	0,23	0,21
<i>Epidalea calamita</i>	2	0,25	0,64	0,00	0,03	0,25
<i>Hyla meridionalis</i>	2	0,48	0,90	0,43	0,40	0,48
<i>Hyla molleri</i>	0	0,29	0,28	0,29	0,00	0,00
<i>Pelobates cultripes</i>	2	0,66	0,13	0,28	0,48	0,66
<i>Pelodytes sp.</i>	1	0,34	0,31	0,00	0,34	0,00

Tabela 16- Valores de fidelidade das espécies de anfíbios para cada estado de conservação atribuído aos charcos

Espécies	Valor fidelidade		
	Bom	Intermédio	Mau
<i>Lissotriton boscai</i>	0,114	-0,168	0,065
<i>Pleurodeles waltl</i>	0,007	-0,262	0,259
<i>Triturus pygmaeus</i>	0,226	-0,075	-0,133
<i>Epidalea calamita</i>	-0,130	0,054	0,065
<i>Hyla meridionalis</i>	0,210	-0,169	-0,023
<i>Hyla molleri</i>	0,250	-0,0117	-0,112
<i>Pelobates cultripes</i>	-0,205	0,159	0,028
<i>Pelodytes sp.</i>	-0,0130	0,277	-0,160

4. DISCUSSÃO

4.1. Charcos temporários mediterrânicos no Alentejo

Este estudo contribuiu para a identificação de novos charcos temporários mediterrânicos na região Alentejo. Como em muitos outros países da Europa, a conservação dos charcos temporários mediterrânicos em Portugal tem sido negligenciada. Apesar de Ruiz (2008) referir que cerca de 33% do total destes charcos em Portugal estão dentro da Rede Natura 2000, de facto não existe uma cartografia atualizada sobre a situação deste habitat para todo o país, por isso não é possível fazer a sua devida gestão/proteção. Presentemente a região melhor caracterizada é o Sudoeste do país, coincidindo com o Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina (PNSACV) onde, desde 1993, têm vindo a ser realizados mapeamentos das zonas húmidas, incluindo charcos temporários mediterrânicos (Alcazar, 1998; Canha & Pinto-Cruz, 2010; Ferreira & Beja, 2013). Para a zona do Sítio de Interesse Comunitário (SIC) Costa Sudoeste, que abrange o PNSACV, está a ser desenvolvida no âmbito do projeto “LIFE Charcos” uma cartografia atualizada com a caracterização de cada charco, para que estes possam ser adequadamente protegidos. Desde o ano de 2010 também tem sido desenvolvido um mapeamento de massas de água por todo

o país, no âmbito do projeto “Charcos com vida” da Universidade do Porto. Contudo, este registo é menos rigoroso, sendo a maioria dos registos obtidos a partir de contribuições públicas.

Entretanto no presente estudo, a utilização do *software GoogleEarth* para a identificação de novos charcos temporários revelou-se bastante útil e conseguida com bastante sucesso. Sendo um programa bastante fácil de utilizar e gratuito, revelou-se fundamental nesta parte do trabalho. Poderá ser uma ferramenta muito útil para estabelecer uma cartografia nacional para estes habitats. Contudo, os charcos de dimensões reduzidas podem ser confundidos com outras zonas húmidas, ou mesmo passar despercebidos, dependendo da escala em que se está a trabalhar. Por vezes a qualidade e/ou a falta de imagens para algumas zonas também pode dificultar a identificação dos charcos. Por estas razões, é indispensável a realização de visitas aos charcos em períodos favoráveis, para que se possa identificar a vegetação característica de cada habitat.

Outra vantagem da utilização do *Google Earth* no estudo destes habitats é a possibilidade de criar um historial das alterações no charco e/ou na sua envolvente, sendo até possível verificar a permanência do charco (Figura 11). Em estudos numa vasta área, esta é uma grande vantagem, permitindo poupar muito tempo e recursos.



Figura 11- Imagens de um charco temporário antes (2006) e depois da sua destruição (2010) com a plantação de um olival intensivo. Fonte: *Google Earth*

A utilização desta verificação prévia foi extremamente útil, embora nalguns casos só fosse possível verificar a destruição do charco durante as visitas (Figura 12).



Figura 12- Antigo charco temporário que foi drenado para a prática agrícola e produção florestal de sobreiros

Um aspeto bastante interessante do contacto com a população durante a realização dos trajetos rodoviários foi a atribuição de diferentes nomes aos Charcos Temporários: charcos, lagos, lagoas, alagoas e poças. Apesar de ser frequente a atribuição de diferentes nomes em diferentes países aos charcos temporários (Williams *et al.*, 2001), é interessante verificar que essa diferença ocorre mesmo a nível regional. Também se notou que as pessoas estão cientes da presença dos charcos temporários, mas que não reconhecem a sua importância.

Ao se comparar o grupo dos charcos amostrados no PNSACV (códigos 34, 35 e 36) com o grupo de charcos identificados no resto da área de estudo, não se verificou qualquer segregação na análise de agrupamentos nem na comparação das características recolhidas. Talvez fosse de esperar que os charcos do PNSACV, por estarem mais perto do mar, exibissem valores de condutividade superiores (salinidade causada pelo sódio) e maior percentagem de areia, mas tal não se verificou. Também o número de espécies de anfíbios identificados para a zona foi o mesmo. Algo que poderia influenciar bastante o estado de conservação dos charcos seria o facto de os charcos do Sudoeste estarem dentro de um Parque Natural onde já existe a respetiva cartografia, o que deveria significar que estes charcos exibissem um nível de conservação superior aos restantes. Contudo, tal não se verificou, tendo sido encontrados charcos com um nível de conservação igual ou superior a estes na

restante área de estudo. Uma justificação pode ser o Perímetro de Rega do Mira, que alterou drasticamente a agricultura praticada no Sudoeste (Baião, 2015).

Uma variável bastante importante para a sobrevivência dos anfíbios é a disponibilidade de zonas florestadas na envolvente do charco (Cushman, 2006), por oferecerem abrigo durante os meses mais quentes e funcionarem como zonas de dispersão para os juvenis (Walston & Mullin, 2008). Os 40 charcos identificados no resto da área de estudo surgem em zonas com diferentes espécies de árvores autóctonas: montados de sobro ou azinho de diferentes densidades, olivais extensivos, e pinhais de *Pinus pinea*; pelo contrário, no Sudoeste, tem-se verificado a regressão das florestas de árvores autóctonas em detrimento da criação de estufas, cultivo de arrelvados, criação de sebes corta-vento com acácias e plantação de monoculturas de eucalipto (Canha & Pinto-Cruz, 2010). No caso destas árvores exóticas, sabe-se que podem causar o desaparecimento de populações de anfíbios, devido ao efeito de dessecação que exercem no solo, diminuindo significativamente a quantidade de humidade presente neste, e por apresentarem substâncias tóxicas para muitas espécies de herbívoros, traduzindo-se numa diminuição no número de insetos dos quais os anfíbios se alimentam (Rivera *et al*, 2007). Devido também ao perímetro de rega do Mira a agricultura dentro do PNSACV tem mudado, passando de uma agricultura de subsistência, em que os charcos eram valorizados pela acumulação de água, para uma agricultura intensiva em que normalmente grandes empresas alugam vários terrenos para a construção de estufas ou para a produção de monoculturas. Estas práticas têm causado a homogeneização da paisagem e a destruição de muitos charcos (Baião, 2015). Contrariamente, nas restantes áreas onde foram localizados charcos, e apesar de nalguns casos estes também ocorrerem dentro de perímetros de rega, a exploração florestal, designadamente de madeira e cortiça, e as práticas agrícolas menos intensivas têm ajudado na manutenção dos charcos. Exceção são os quatro charcos situados mais perto da cidade de Beja, onde o reduzido número de reservatórios de água e o clima seco têm levado a uma maior exploração dos charcos em ambas as suas fases (Figura 13). Ironicamente um destes charcos possivelmente será o maior charco temporário Mediterrânico identificado para Portugal, com uma área total de 77384m².

Apesar disto, é na proximidade da cidade de Évora onde se verifica um maior número de charcos temporários mal conservados (Figura 10).



Figura 13- Apicultor a aproveitar a flora de um charco temporário Mediterrânico durante a fase seca. Algumas espécies, como *Eryngium corniculatum*, permaneciam em flor.

Para este estudo resolveu-se não incluir como variável a presença de espécies exóticas identificadas nos charcos, como o lagostim-vermelho-do-Lousiana (*Procambarus clarkii*) e o peixe-mosquito (*Gambusia affinis*). O lagostim é apontado como uma grande ameaça para as populações de anfíbios devido à sua ação predatória sobre larvas e ovos/posturas (e.g. Cruz *et al*, 2006). Apesar de presente em vários charcos deste estudo foi encontrado sempre em números bastante reduzidos. Uma possível explicação poderá ser que a presença de predadores como a lontra (*Lutra lutra*), o cágado-mediterrânico (*Mauremis leprosa*) e várias espécies de aves (e.g. *Ardea cinerea*) mantenham as populações de lagostim controladas (Correia, 2001). Também o isolamento dos charcos e a ausência de elementos de conectividade com corpos de água permanentes (ex: valas) podem dificultar a colonização por parte do lagostim. Nos charcos que apresentam uma boa população de anfíbios é possível que os urodelos, especialmente *Pleurodeles waltl*, se alimentem de lagostins juvenis e mesmo de adultos após a muda de crescimento, quando não apresentam uma carapaça enrijecida.

No caso do peixe-mosquito, a sua presença apenas foi registada num único charco, mas com um impacto muito mais relevante. Apesar das suas pequenas dimensões, esta espécie apresenta um apetite voraz e ataca ferozmente larvas de anfíbios começando pela membrana caudal (observações próprias). Há relatos desta espécie atacar e preda juvenis quando ocorre em grandes densidades. Durante as amostragens realizadas no charco temporário Mediterrânico em que esta espécie foi encontrada, não se capturou nenhuma larva de anfíbio, tendo apenas sido observado um adulto de rã-verde. A ausência de anfíbios na área não é uma explicação, pois na proximidade foi amostrado outro charco onde foram encontradas 8 espécies. Os usos do solo também são semelhantes aos encontrados noutros charcos com anfíbios. Por exclusão de partes, concluiu-se que a presença do peixe-mosquito pode ser o responsável pela ausência de anfíbios neste charco.

4.2. Amostragem de anfíbios

4.2.1. Escolha da metodologia

A metodologia para este estudo foi escolhida com base nos objetivos e na experimentação prévia de várias técnicas de amostragem. Uma das metodologias usadas em estudos prévios no Sudoeste de Portugal (Ferreira & Beja, 2013; Beja & Alcazar, 2003) consistiu na realização de 3 a 6 varrimentos aleatórios por charco, tendo cada réplica a duração de 30 seg e tentando incluir todas as variações no habitat. Através da experimentação desta metodologia deparou-se com o problema da rede ficar completamente cheia de vegetação aquática muito antes de os 30 seg terminarem. Assim optou-se por fazer os varrimentos ao longo de uma distância em vez de uma duração. Desta forma foi possível efetuar paragens para a remoção de vegetação sem haver a preocupação com o tempo. Comparativamente com a outra metodologia, por o tempo de amostragem ser inferior é possível que o número de larvas capturado seja inferior. Contudo, este método revelou-se igualmente eficiente na captura de todas as espécies de anfíbios que utilizam os charcos temporários como principal local de reprodução dentro do período de amostragem.

Ao utilizar esta metodologia simultaneamente com a inventariação da flora (método dos quadrados), notou-se a falta de compatibilidade entre as duas. A realização de varrimentos causou a alteração da disposição da flora e arrancou completamente muitas plantas aquáticas que ficavam presas na rede. De forma a compatibilizar as duas metodologias foi necessário realizar as amostragens de flora antes das dos anfíbios. Outro problema desta metodologia é a dificuldade em amostrar

as zonas de menor profundidade de água do charco, principalmente se houver pisoteio por gado bovino, devido à irregularidade do fundo. Também se notou que as larvas ocupavam diferentes zonas do charco e exibiam comportamentos diferentes dependendo da altura do dia, o que pode explicar o reduzido número de capturas de algumas espécies. Ao realizar os varrimentos também se notou que as larvas de *Pelobates cultripes* quando estavam à tona da água (na altura de mais calor) conseguiam ver a aproximação do operador e fugiam nadando para longe contrariamente por exemplo, às larvas de *Triturus pygmaeus*, que apenas fugiam em direção ao fundo do charco quando sentiam o movimento na água causado pelo varrimento.

Para determinar a riqueza específica real de um charco recorrendo à amostragem de larvas por varrimentos é necessária a realização de replicações ao longo do hidroperíodo, de forma a amostrar os picos e variações do período de reprodução de cada espécie (Díaz-Paniagua, 1992). Neste estudo, tal não foi possível pelas razões já referidas anteriormente (ver secção 2.4).

Sendo os charcos temporários mediterrânicos um habitat protegido e dados os problemas referidos em cima com este tipo de amostragem, deve ser adotada em trabalhos futuros uma metodologia mais eficiente e menos intrusiva (não só para os anfíbios), para que possa ser compatível com amostragens simultâneas de outros grupos.

4.2.2. Abundância e presença de anfíbios

Durante a realização de todo o trabalho de campo, a identificação da presença nos charcos de todas as 13 espécies de anfíbios descritas para a área de estudo demonstra a importância que estes habitats têm como local de reprodução, refúgio e alimentação para este *taxon*. Contudo, as espécies *Salamandra salamandra*, *Discoglossus galganoi*, *Epidalea calamita*, *Alytes cisternasii*, *Bufo spinosus* e *Pelophylax perezi* reproduzem-se preferencialmente noutras massas de água - poças e regatos de chuva, valas, ribeiras, rios, barragens, rios e lagos - o que pode explicar a sua ausência ou baixo número de capturas nos varrimentos.

Tal como em outros estudos na mesma região (Ferreira & Beja, 2013; Beja & Alcazar, 2003), a espécie *Pelobates cultripes* foi a mais abundante e frequente nas amostragens. Por ser das primeiras espécies a reproduzir-se e devido às grandes dimensões que as suas larvas podem atingir, esta espécie pode apresentar uma clara

vantagem competitiva em relação a espécies que se reproduzam mais tarde (ex: *Hyla* sp.). Durante este estudo notou-se que esta espécie desempenha um papel muito importante no ciclo dos charcos enquanto transformadora de nutrientes. Iniciando o seu ciclo de vida como detritívoras à medida que as larvas se desenvolvem começam a alimentar-se da vegetação aquática (Recuero, 2014). Apesar de ser necessária a realização de um estudo mais aprofundado sobre este tema para que se confirmem estas observações, em charcos com maior densidade de larvas notou-se o desaparecimento prematuro de algumas espécies de flora, nomeadamente do género *Ranunculus*. Esta ação predatória pode ser negativa caso as espécies de flora não tenham conseguido completar a sua reprodução. Por outro lado, pode ser benéfica para espécies submersas, como *Isoetes* sp., que necessitam que a luz chegue ao fundo do charco (Barko *et al.*, 1986). Durante a época mais seca, esta espécie também não necessita da existência de abrigos naturais (ex: troncos, pedras) ou criados por outros animais (ex: tocas de coelhos), devido à sua capacidade de se enterrar com o auxílio dos seus tubérculos metatarsais (“unha negra”). No modelo mais explicativo para esta espécie (*Modelo 2*), a variável com mais significância foi o *oxigénio dissolvido*. Esta variável encontra-se fortemente ligada à densidade de flora, pelo que o seu efeito negativo para *Pelobates cultripes* pode dever-se ao facto de que em charcos com menos plantas, as larvas serem capturadas mais facilmente devido à ausência de abrigo.

Para a área de estudo, estão descritas ambas as espécies de relas em quase toda a sua totalidade. Apesar disto, através nos resultados dos varrimentos é claramente visível que a *Hyla meridionalis* é muito mais abundante. Sendo as larvas destas duas espécies bastante semelhantes, é possível que possa ter ocorrido alguma identificação incorreta em larvas mais pequenas. Contudo, apenas se escutaram adultos de *H. mollerii* no complexo de charcos onde se capturou a larva. A baixa abundância de larvas capturadas nestes charcos pode dever-se a já terem completado a metamorfose na altura das amostragens. Também foram escutados alguns adultos com vocalizações intermédias entre as duas espécies (canto idêntico a *Hyla meridionalis* mas mais rápido, embora não tão rápido como *Hyla mollerii*), pelo que possa ocorrer hibridação entre as duas espécies na área de estudo. As variáveis *espécies flora “comestíveis”* e *carência bioquímica de oxigénio* entraram com significância em ambos os modelos criados para *Hyla meridionalis*. É possível que um número superior de espécies de flora apelidadas de “comestíveis” permita a sobrevivência de um maior número de larvas desta espécie, face à grande pressão competitiva exercida por *Pelobates cultripes*. Um valor superior de *carência bioquímica*

em oxigénio também pode significar uma maior densidade de fauna no charco e, como a espécie mais abundante é *Pelobates cultripes*, este pode ser outro exemplo da pressão competitiva desta espécie.

Pleurodeles waltl é a maior espécie de Caudata da Península Ibérica podendo atingir tamanhos superiores a 30 cm de comprimento total. Devido aos seus hábitos aquáticos, os adultos podem permanecer dentro de água mesmo depois da reprodução. É um dos maiores predadores aquáticos presentes nos charcos temporários podendo alimentar-se de todos os grupos que aí ocorram. Contudo, a maioria da sua alimentação consiste em artrópodes (Salvador, 2014). Apesar de ser um predador de topo nestes ecossistemas, foi das espécies mais abundantes e frequentes nos varrimentos demonstrando a grande abundância de vida que os charcos apresentam. Uma das capturas mais interessantes neste trabalho foi a de um indivíduo desta espécie com 15 cm de comprimento e brânquias externas completamente desenvolvidas (Figura 14). Em campo colocou-se a hipótese de se tratar de uma larva anormalmente grande, mas a sazonalidade dos charcos temporários (fase seca) não permite que as larvas permaneçam mais do que o tempo do hidroperíodo do charco, como aconteceu com casos semelhantes - larva com 15.5 cm e com 16 meses (Salvador, 2014). Assim, o mais provável será tratar-se de um indivíduo neoténico que reteve ou readquiriu brânquias externas para auxílio da fase aquática. Este registo de neotenia nesta espécie poderá ser o primeiro para Portugal e o primeiro registado num habitat natural, charco temporário Mediterrânico, tendo Ceacero *et al.* (2010) registado este evento apenas em habitats artificias e permanentes.



Figura 14- Medição do adulto neoténico de *Pleurodeles waltl* e vista das brânquias desenvolvidas.

A espécie *Triturus pygmaeus*, contrariamente ao registado em outros estudos (e.g. Beja & Alcazar, 2003), surge como a terceira mais abundante, ultrapassando a *Pleurodeles waltl* em número de larvas capturadas. As larvas foram observadas em maior quantidade em charcos com maior densidade de vegetação aquática. Sendo frequente observar as larvas em suspensão na coluna de água, uma maior densidade de vegetação oferece mais proteção contra predadores. Beja & Alcazar (2003) também identificaram uma relação negativa das espécies do género *Triturus* com a ocorrência de lavra no charco. É possível que a razão por detrás desta relação seja a destruição da vegetação aquática. Os problemas nos resultados do *Modelo 1* podem dever-se ao número de registos da espécie não ser estatisticamente suficiente para o número de variáveis em análise, pelo que este modelo foi descartado. Os resultados do modelo válido (*Modelo 2*) indicam que a presença de abrigo (arbustos) na envolvente afeta positivamente (de forma ligeira) a abundância desta espécie, e que níveis elevados de nitratos e dureza resultam numa diminuição (também ligeira) do número de larvas.

Lissotriton boscai é a mais pequena espécie de anfíbios caudatos presentes na área de estudo. Embora seja frequente reproduzir-se em charcos temporários, pode reproduzir-se em muito mais habitats inclusive de água corrente. Comparando com outras espécies, as fêmeas não investem o mesmo esforço tentando ocultar os ovos o que resulta numa grande predação dos ovos mais expostos (Díaz-Paniagua, 2014). O tamanho da postura também é mais pequeno do que a dos restantes Caudata (*Triturus pygmaeus* e *Pleurodeles waltl*). As larvas também exibem tamanhos muito reduzidos e costumam emboscar presas por entre a vegetação. As razões acima mencionadas podem justificar a baixa densidade e frequência desta espécie nos varrimentos.

As espécies do género *Pelodyes* são muitas vezes associadas às massas de água mais efémeras. Contudo, durante a visita outonal constatou-se que, apesar de haver numerosas massas de água com estas características, os machos apenas se encontravam a vocalizar nos charcos temporários mediterrânicos (profundidade até 1 m). Apesar de se poderem reproduzir em vários períodos (Reques, 2014; Escoriza, 2015) a falta de larvas capturadas nos varrimentos pode indicar que no ano das amostragens a espécie apenas se reproduziu no outono, tendo as larvas já completado a metamorfose na altura das amostragens.

Apesar de as larvas de *Epidalea calamita* existirem em grande número, estas apenas foram capturadas em dois charcos e em abundâncias muito diferentes: 98%

num charco e apenas 2% no outro. A ausência desta espécie em mais charcos pode dever-se a um problema de detetabilidade ou ao facto de ocorrerem outros locais de reprodução mais preferidos pela espécie (ex: poças de água). Nos charcos as larvas foram localizadas sempre na zona mais externa, onde a água é menos profunda e onde é difícil executar a metodologia por varrimento.

Na área de estudo, a espécie *Salamandra salamandra* pode apresentar três subespécies: *S. s. gallaica*, *S. s. crespoides* e *S. s. morenica* (Velo-Antón *et al.*, 2012). Por esta espécie apresentar uma enorme plasticidade morfológica, para se conseguir delimitar as populações das subespécies é necessário recorrer à análise das diferenças genéticas (trabalho que continua a ser desenvolvido). Apesar de ser uma espécie bastante adaptável por conseguir subsistir em manchas de habitat relativamente pequenas, depende bastante de manchas florestais, pelo menos como abrigo. Na área de estudo, devido à intensificação agrícola, algumas zonas (no Baixo Alentejo) carecem do coberto arbóreo necessário à sobrevivência da espécie, o que causou a destruição ou fragmentação dessas populações (Loureiro *et al.*, 2010). Sendo uma das primeiras espécies a reproduzir-se e bastante versátil quanto aos locais de reprodução, é normal não se ter capturado larvas durante o período de amostragem. Mesmo em outros estudos com diferentes períodos de amostragem não foram capturados indivíduos nos varrimentos (Beja & Alcazar, 2003; Ferreira & Beja, 2013). Isto pode significar que esta espécie utiliza os charcos temporários como local de reprodução em raras ocasiões, ou que pode estar em regressão, mesmo no Sudoeste de Portugal.

Embora não tenham sido capturadas larvas de *Discoglossus galganoi* na amostragem dos charcos, foram encontrados vários juvenis na orla dos dois charcos onde a espécie foi observada. Esta espécie, juntamente com *Epidalea calamita*, reproduz-se preferencialmente em massas de água muito efémeras, pelo que apresenta um período larvar extremamente curto (variando de 20-60 dias na espécie *Discoglossus galganoi*, Martínez-Solano, 2014; e 24-54 dias em *Epidalea calamita*, Gómez-Mestre, 2014). Os juvenis ao completarem a metamorfose apresentam um tamanho muito pequeno, pelo que são extremamente vulneráveis. Assim, a orla dos charcos oferece condições ideais para o seu crescimento, oferecendo abrigo e alimento em abundância.

A espécie *Bufo spinosus* é o maior anuro da Península Ibérica podendo atingir 18 cm de comprimento (Ortiz, 2014). Percorre grandes distâncias para chegar ao local de reprodução, que normalmente é uma massa de água permanente, onde as fêmeas

realizam posturas que podem ultrapassar os 11.000 ovos. Apesar de também se poderem reproduzir em charcos temporários de maiores dimensões, neste estudo não foram capturadas larvas desta espécie, tendo apenas sido encontrados dois machos em charcos separados, que podiam estar a alimentar-se na área do charco.

No caso da rã-verde *Pelophylax perezi*, apesar de ser a espécie mais ubiquista na área de estudo, não se confirmou a sua reprodução nos charcos temporários amostrados. Esta espécie é uma exceção comparando com as outras espécies de anfíbios da Península Ibérica por se reproduzir no fim da primavera/início do verão quando as outras espécies estão a terminar a sua metamorfose e a preparar-se para estivar. É possível que os adultos encontrados nos charcos com um hidroperíodo mais alargado possam ter-se reproduzido após a época de amostragens. Apesar de se reproduzirem tão tardiamente, a permanência dos adultos desta espécie durante todo o hidroperíodo pode desempenhar um papel significativo no controlo das populações de insetos (Burghelea *et al.*, 2010).

4.3. Anfíbios e a conservação dos charcos temporários mediterrânicos

Na Bacia do Mediterrâneo os anfíbios são dos grupos faunísticos mais associados e dependentes dos charcos temporários (Jakob *et al.*, 2003), interagindo com todos os outros grupos que aí ocorrem. Alimentando-se de artrópodes, moluscos, matéria vegetal e mesmo de outros anfíbios, aves, mamíferos e matéria morta, contribuem para o ciclo de nutrientes do charco e para o controlo das populações de flora e fauna. Na área de estudo, é frequente os charcos temporários serem associados a águas sujas e que produzem numerosos mosquitos (Rubbo *et al.*, 2011). No entanto, durante a realização deste estudo apenas foi encontrado um charco com populações preocupantes destas espécies (vários agrupamentos de centenas de larvas em estado final de desenvolvimento). Na origem de tão grandes números está o mau estado de conservação do charco, por ter sido totalmente lavrado e onde o proprietário plantou azevém. Como consequência, para além da topografia e perda do declive do charco, apenas se capturou uma única larva de *Pelobates cultripes* em toda a extensão do charco (57415 m²). Durante a criação de 12 larvas da espécie *Salamandra salamandra* resgatadas de habitats destruídos, observou-se que estas em cativeiro consumiam diariamente uma média de 100 larvas de *Culicidae spp.*. Perante esta quantidade de alimento as larvas deixaram de exibir comportamento canibalístico, apesar de partilharem o mesmo espaço. Assim, nos charcos com boas populações de

anfíbios é pouco provável que ocorram grandes populações de insetos que possam causar problemas de saúde pública.

Para que ocorra a devida proteção de um habitat, é necessário saber identificá-lo e saber avaliar o seu estado de conservação. Sendo estes habitats caracterizados através da presença da flora e da sua estrutura, a identificação de bioindicadores florísticos poderá ser o método mais direto e fidedigno para atingir esses objetivos. Para os charcos temporários mediterrânicos do Sudoeste de Portugal, Pinto-Cruz *et al.* (2011) identificou várias espécies de flora e características que permitem diferenciar os charcos temporários mediterrânicos de outros tipos de charcos que ocorram na zona. Para se utilizar espécies de anfíbios e conseguir a mesma diferenciação, teria que haver uma ou mais espécies que apenas ocorressem em charcos temporários mediterrânicos ou que tivessem uma estrita dependência de um dos bioindicadores florísticos identificados. Até ao momento, nenhuma destas hipóteses se confirmou. Contudo, pela importância que têm nos charcos e por, de um modo geral, os anfíbios serem considerados bioindicadores do estado de conservação dos ecossistemas, devem ser incluídos num índice de conservação criado para os charcos temporários mediterrânicos. Os resultados das análises de espécies diagnósticas realizadas neste estudo demonstram que, apenas pela presença/ausência não existem espécies indicadoras de anfíbios. Este resultado vai de encontro às observações feitas em campo, onde se encontraram as mesmas espécies de anfíbios em charcos com estados de conservação opostos, o que demonstra a resiliência dos anfíbios às perturbações ambientais. Como resultado da mesma análise, mas tendo em conta as abundâncias de larvas capturadas nos varrimentos, obteve-se duas espécies como indicadoras: *Triturus pygmaeus* para os charcos bem conservados, e *Pleurodeles waltl* para os charcos mal conservados. Ambas as espécies apresentam o valor máximo de capturas nos charcos com os respetivos estados de conservação. Estes resultados são suportados ao analisar-se a biologia destas espécies. *Triturus pygmaeus* necessita de charcos com vegetação aquática em abundância para a sua reprodução (cada ovo é cuidadosamente envolvido pela fêmea nas folhas da vegetação aquática) assim como algumas zonas florestadas em redor dos charcos como zonas de refúgio e alimentação. Em *Triturus helveticus*, Denoël & Lehmann (2006) verificaram um aumento na abundância da espécie em charcos mais profundos, com vegetação, sem peixes e com áreas florestadas à volta dos charcos. Já *Pleurodeles waltl* é uma espécie menos seletiva quanto à condição do habitat, dependendo mais da duração do hidroperíodo. É frequente que se reproduza em habitats artificiais como poços, permanecendo todo o ano na sua forma aquática.

De acordo com observações feitas em campo, mas não avaliadas neste estudo, notou-se uma grande variação no desenvolvimento e coloração das larvas em função do estado de conservação dos charcos. De um modo geral, em charcos bem conservados as larvas apresentavam tamanhos maiores, formas mais arredondadas e homogêneas (proporção cabeça-corpo no caso dos Caudata) e cores mais escuras (normalmente com manchas). No outro extremo, em charcos mal conservados, as larvas eram mais pequenas, muitas pareciam magras e apresentavam cores pálidas (em muitos destes charcos a água encontrava-se enlameada). As maiores dimensões e robustez das larvas podem justificar-se pelos charcos bem conservados apresentarem uma maior complexidade trófica (mais espécies) e disponibilidade de alimento, o que permite que as espécies se desenvolvam mais rapidamente. As variações na coloração demonstram o quão bem adaptadas estão as larvas dos anfíbios a diferentes características dos charcos, tendo a capacidade de mudar de cor em função da densidade de flora (mais escuras e com manchas), da turbidez da água (águas enlameadas apresentam larvas claras e sem manchas) e mesmo em águas com um grande teor de matéria orgânica de cor escura (larvas todas pretas, por vezes com manchas douradas). Estas alterações foram encontradas em larvas das espécies *Pleurodeles waltl*, *Salamandra salamandra* (não neste estudo), *Lissotriton boscai*, *Triturus pygmaeus*, *Pelodytes sp.*, *Pelobates cultripes*, e em ambas as espécies de *Hyla* (*Hyla molleri* não neste estudo). O estudo mais aprofundado destas variações e recorrendo, por exemplo, ao seu registo fotográfico, poderá servir no futuro como mais uma ferramenta para avaliar o estado de conservação destes habitats.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo contribui para o conhecimento dos charcos temporários mediterrânicos do Alentejo e demonstra a falta de conhecimento que ainda existe no nosso país em relação a estes habitats. A utilização do *Google Earth* poderá ser uma ferramenta determinante na alteração deste cenário. Posteriormente a este estudo, e através da continuação da sua utilização, foram localizados mais 205 charcos temporários distribuídos por várias partes de Portugal sendo muitos provavelmente charcos temporários mediterrânicos. As análises realizadas para os anfíbios demonstraram a importância que estes habitats têm para este grupo faunístico e a necessidade de conservar charcos com diferentes características. A identificação de espécies de anfíbios enquanto indicadores do estado de conservação destes habitats foi pioneira e constitui um importante contributo para o estudo dos charcos temporários mediterrânicos desta região. Atendendo à distribuição das espécies e às

características bioclimáticas, será de salientar que a utilização destes indicadores pode não ser aplicável a outras áreas. Contudo, através da aplicação da mesma metodologia e a utilização de espécies de hábitos semelhantes (e.g. a substituição de *Triturus pygmaeus* por *Triturus marmoratus*) poderá ser uma solução, podendo mesmo ser adaptada para outros ecossistemas aquáticos.

6. BIBLIOGRAFIA

- Alcazar, R., 1998. Impactos da agricultura nas lagoas temporárias do Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina. Relatório de Estágio Profissionalizante para obtenção da Licenciatura de Biologia Aplicada aos Recursos Animais- Ramo Terrestres. Departamento de Zoologia e Antropologia, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- ALFA. 2004. *Tipos de Habitat Naturais e Semi-Naturais do Anexo I da Directiva 92/43/CEE (Portugal continental): Fichas de Caracterização Ecológica e de Gestão para o Plano Sectorial da Rede Natura 2000*. Relatório. Lisboa. <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/rn2000/resource/rn-plan-set/hab/hab-3170>
- Alford, R.A. & Richards, S.J., 1999. Global amphibian declines: a problem in applied ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30, 133-165.
- AmphibiaWeb: Information on amphibian biology and conservation. [web application]. 2015. Berkeley, California: AmphibiaWeb. Available:<http://amphibiaweb.org/>. (Acedido a 21 de Julho, 2015).
- Baião, C., 2015. Perceção Ambiental sobre os Charcos Temporários da Costa Sudoeste de Portugal. Dissertação de Mestrado em Biologia da Conservação. Universidade de Évora, Escola de Ciências e Tecnologia, Departamento de Biologia. Évora.
- Barko, J.W., Adams, M.S. & Clesceri, N.L., 1986. Environmental Factors and Their Consideration in the Management of Submerged Aquatic Vegetation: A Review. *Journal of Aquatic Plant Management* 24, 1-10.
- Beja, P. & Alcazar, R., 2003. Conservation of Mediterranean temporary ponds under agricultural intensification: an evaluation using amphibians. *Biological Conservation* 114, 317-326.
- Biggs, J., Williams, P., Whitfield, M., Nicolet, P. & Weatherby, A., 2005. 15 years of pond assessment in Britain: results and lessons learned from the work of pond conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 15, 693-714.
- Burghilea, C.I., Zaharescu, D.G. & Palanca-Soler, A., 2010. Dietary overview of *Pelophylax perezi* from Monegros rice fields (northeast Spain). *Herpetological Journal* 20, 219-224.
- Cancela da Fonseca, L., Cristo, M., Machado, M., Sala, J., Reis, J., Alcazar, R. & Beja, P., 2008. Mediterranean temporary ponds in Southern Portugal: key faunal groups as management tools? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 3, 304-320.
- Canha, P. & Pinto-Cruz, C., 2010. Plano de Gestão de Charcos Temporários Mediterrânicos no Concelho de Odemira. ISBN 978-972-778-111-9.

- Caramujo, M.J. & Boavida, M.J., 2010. Biological diversity of copepods and cladocerans in Mediterranean temporary ponds under periods of contrasting rainfall. *Journal of Limnology* 69, 64-75.
- Carretero, M.A., Martínez-Solano, I., Ayllón, E., & Llorente, G. 2014. Lista patrón de los anfibios y reptiles de España (Actualizada a diciembre de 2014). *Salamandra* 2, 2f.
- Ceacero, F., Donaire-Barroso, D., García-Muñoz, E., Beltrán, J.F. & Tejedo, M., 2010. On the occurrence of facultative paedomorphosis in the three newt species of Southern Iberian Peninsula (Amphibia, Salamandridae). *Amphibia-Reptilia* 31, 571-575.
- Collins, J. P., & Storer, A., 2003. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions* 9, 89-98.
- Correia, A.M., 2001. Seasonal and interspecific evaluation of predation by mammals and birds on the introduced red swamp crayfish *Procambarus clarkia* (Crustacea, Cambaridae) in a freshwater marsh (Portugal). *Journal of Zoology* 255, 533-541.
- Cruz, M. J., Rebelo R. & Crespo E. G., 2006. Effects of an introduced crayfish, *Procambarus clarkia*, on the distribution of south-western Iberian amphibians in their breeding habitats. *Ecography* 29, 329-338.
- Cushman, S.A., 2006. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation* 128, 231-240.
- De Roeck E.R., Vanschoenwinkel B.J., Day J.A., Xu Y., Raitt L. & Brendonck L., 2007. Conservation status of large branchiopods in the Western Cape, South Africa. *Wetlands* 27, 162–173.
- Díaz-Paniagua, C., 1992. Variability in timing of larval season in an amphibian community in SW Spain. *Ecography* 15, 267-272. Copenhagen.
- Díaz-Paniagua, C., 2014. Tritón ibérico – *Lissotriton boscai*. In: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Díaz-Rodríguez J., Gonçalves H., Sequeira F., Sousa-Neves T., Tejedo M., Ferrand N. & Martínez-Solano I., 2015. Molecular evidence for cryptic candidate species in Iberian Pelodytes (Anura, Pelodytidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 83, 224-241.
- Dimitriou, E., Karaouzas, I., Skoulikidis, N. & Zacharias, I., 2006. Assessing the environmental status of Mediterranean temporary ponds in Greece. *Annales of Limnologie- International Journal of Limnology* 42, 33-41.
- Egea-Serrano, A., 2014. Rana común – *Pelophylax perezi*. In: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Escoriza, D., 2015. Sapillo moteado – *Pelodytes punctatus*. In: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Ferrand de Almeida, N., Ferrand de Almeida, P., Gonçalves, H., Sequeira, F., Teixeira, J. & Ferrand de Almeida, F., 2001. *Guias Fapas Anfíbios e Répteis de Portugal*.

FAPAS: Fundo para a Proteção dos Animais Selvagens. Câmara Municipal do Porto, Pelouro do Ambiente. Porto.

- Ferreira, M., 2012. Multi-species occupancy modeling of natural and anthropogenic habitats by Mediterranean amphibians: grim prospects for conservation in irrigated farmland. Dissertação de Mestrado em Biologia da Conservação, Universidade de Évora.
- Ferreira, M. & Beja, P., 2013. Mediterranean amphibians and the loss of temporary ponds: Are there alternative breeding habitats? *Biological Conservation* 165, 179-186.
- Gómez-Mestre, I., 2014. Sapo corredor – *Epidalea calamita*. En: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Gómez-Rodríguez, C., Díaz-Paniagua, C., Serrano, L., Florencio, M. & Porthaut, A., 2009. Mediterranean temporary ponds as amphibian breeding habitats: the importance of preserving pond networks. *Aquatic Ecology* 43, 1179-1191.
- Green, R.E., Newton, I., Shultz, S., Cunningham, A.A., Gilbert, M., Pain, D.J. & Prakash, V., 2004. Diclofenac poisoning as a cause of vulture population declines across the Indian subcontinent. *Journal of Applied Ecology*, 41, 793-800.
- Grillas, P., Gaunthier, P., Yaverkovski, N. & Perennou, C., 2004. Mediterranean Temporary Pools. Volume 1- Issues relating to conservation, functioning and management. Arles.
- Hartel, T., & von Wehrden, H., 2013. Farmed areas predict the distribution of amphibian ponds in a traditional rural landscape. *PLoS ONE* 8(5): e63649. Doi:10.1371/journal.pone.0063649.
- Instituto Nacional de Estatística, Statistics Portugal, 2013. Anuário Estatístico da Região do Alentejo 2012. Lisboa.
- Instituto Nacional de Estatística, Statistics Portugal, 2011. Recenseamento Agrícola 2009 – Análise dos principais resultados. Lisboa.
- Instituto Nacional de Estatística, Portugal, 2001. Recenseamento Geral da Agricultura 1999 – Análise de Resultados. Lisboa.
- IPMA: Instituto Português do Mar e da Atmosfera, 2014. Governo de Portugal, Ministério da Agricultura e do Mar. Direção site: www.ipma.pt. Clima-Acompanhamento do clima. Portugal (Acedido em Janeiro de 2014).
- Jakob, C., Poizat, G., Veith, M., Seitz, A. & Crivelli, A. J., 2003. Breeding phenology and larval distribution of amphibians in a Mediterranean ponds network with unpredictable hydrology. *Hydrobiologia*, Vol. 499, pag. 54-61.
- Knutson, M.G., Richardson, W.B., Reineke, D.M., Gray, B.R., Parmelee, J.R. & Weick, S.E., 2004. Agricultural ponds support amphibian populations. *Ecological Applications* 14, 669-684.
- Loureiro ,A., Ferrand de Almeida, N., Carretero, M.A. & Paulo, O.S., 2010. Atlas dos Anfíbios e Répteis de Portugal. Esfera do Caos Editores, ICNB I.P., CIBIO e CBA. Lisboa.

- Lumbreras, A., Tahiri, H.; Pinto-Cruz, C., Pardo, C. & Molina, J.A., 2012. Habitat variation in vernal pool ecosystems on both sides of the Strait of Gibraltar. *Journal of Coastal Research*, 28, 1032-1039.
- Machado, M. & Sala, J., 2013. *Tanymastigites lusitanica* sp. nov. (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca) from Portugal, first representative of the genus in Europe. *Zootaxa* 3681, 501-523.
- Márquez, R., 2011. Sapo parteiro ibérico – *Alytes cisternasii*. In: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Martinez-Solano I., Teixeira J., Buckley D. & García-París, M., 2006. Mitochondrial DNA phylogeography of *Lissotriton boscai* (Caudata, Salamandridae): evidence for old, multiple refugia in an Iberian endemic. *Molecular Ecology* 15, 3375-3388.
- Martínez-Solano, I., 2014. Sapillo pintojo ibérico – *Discoglossus galganoi*. In: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Moore, T.L.C. & Hunt, W.F., 2012. Ecosystem service provision by stormwater wetlands and ponds – A means for evaluation? *Water Research* 46, 6811-6823.
- Nicolet, P., Biggs, J., Fox, G., Hodson, M.J., Reynolds, C., Whitfield, M. & Williams, P., 2004. The wetland plant and macroinvertebrate assemblages of temporary ponds in England and Wales. *Biological Conservation* 120, 261-278.
- Ortiz-Santaliestra, M., 2014. Sapo común – *Bufo spinosus*. In: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Pinto-Cruz, C., Barbosa, A.M., Molina, J.A. & Espírito-Santo, M.D., 2011. Biotic and abiotic parameters that distinguish types of temporary ponds in a Portuguese Mediterranean ecosystem. *Ecological Indicators* 11, 1658-1663.
- Pinto-Cruz, C., Molina, J.A., Barbour, M., Silva, V. & Espírito-Santo, D., 2009. Plant communities as a tool in temporary ponds conservation in SW Portugal. *Hydrobiologia* 634, 11-24.
- Pita, R., Mira, A. & Beja, P., 2010. Spatial segregation of two vole species (*Arvicola sapidus* and *Microtus cabrerae*) within habitat patches in a highly fragmented farmland landscape. *European Journal of Wildlife Research* 56, 651-662.
- Recuero, E., 2014. Sapo de espuelas – *Pelobates cultripes*. Márquez, R., 2011. In: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-

- Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
<http://www.vertebradosibericos.org/>
- Reques, R., 2014. Sapillo moteado ibérico – *Pelodytes ibericus*. In: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
<http://www.vertebradosibericos.org/>
- Reques, R., 2014. Tritón pigmeo – *Triturus pygmaeus*. In: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Rhazi, L., Grillas, P., Saber, E-R., Rhazi, M., Brendonck, L. & Waterkeyn, A., 2011. Vegetation of Mediterranean temporary pools: a fading jewel? *Hydrobiologia* 689, 23-36.
- Rhazi, L., Grillas, P., Toure, A.M. & Ham, L.T., 2001. Impact of land use in catchment and human activities on water, sediment and vegetation of Mediterranean temporary pools. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie / Life Sciences* 324, 165-177.
- Rivera, A.C., Velo-Antón, G. & Galán, P., 2007. Ecology of amphibians in small coastal Holocene islands: local adaptations and the effect of exotic tree plantations. *Munibe* 25, 94-103.
- Rubbo, M., Lanterman, J.L., Falco, R.C. & Daniels, T.J., 2011. The influence of amphibians on mosquitoes in seasonal pools: can wetlands protection help to minimize disease risk? *Wetlands* 31, 799-804.
- Ruiz, E., 2008. Management of Natura 2000 habitats. *Mediterranean temporary ponds 3170. Technical Report 2008 07/24.
- Ruhí, A., Sebastian, O.S., Feo, C., Franch, M., Gascón, S., Richter-Boix, A., Boix, D. & Llorente,, G., 2012. Man-made Mediterranean temporary ponds as a tool for amphibian conservation. *Annales Limnologie. – International Journal Limnology* 48, 81-93.
- Said, A., Stevens, D. K. & Sehlke, G., 2004. An innovative index for evaluating water quality in streams. *Environmental Management* 34, 406-414.
- Salvador, A., 2014. Gallipato – *Pleurodeles waltl*. In: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>

- Sillero, N., 2014. Ranita meridional – *Hyla meridionalis*. In: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Silveira, J.G., 1998. Avian uses of vernal pools and implications for conservation practice, in: C.W. Witham, E.T. Bauder, D. Belk, W.R. Ferren Jr., and R. Ornduff (Editors). Ecology, Conservation, and Management of Vernal Pool Ecosystems – Proceedings from a 1996 Conference. California Native Plant Society, Sacramento, CA. 1998.
- Stuart, S.N., Chanson, J.S., Cox, N.A., Young, B.E., Rodrigues, A.S.L., Fischman, D.L. & Waller, R.W., 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306, 1783.
- van de Vliet M.S., Diekmann O.E., Machado, M., Beebee, T.J., Beja, P., & Serrão, E.A. (2014). Genetic divergence for the amphibian *Pleurodeles waltl* in Southwest Portugal: Dispersal barriers shaping geographic patterns. *Journal of Herpetology*, 48, 38-44.
- Velo-Antón, G., Zamudio, K.R. & Cordero-Rivera, A., 2012. Genetic drift and rapid evolution of viviparity in insular fire salamanders (*Salamandra salamandra*). *Heredity* 108, 410-418.
- Walston, L.J. & Mullin, S.J., 2008. Variation of surrounding forest habitat influences the initial orientation of juvenile amphibians emigrating from breeding ponds. *Canadian Journal of Zoology* 86, 141-146.
- Wells, K.D., 2010. The ecology and behavior of amphibians. University of Chicago Press.
- Williams, P., Biggs, J., Fox, G., Nicolet, P. & Whitfield, M., 2001. History, origins and importance of temporary ponds. *Freshwater Forum* 17, 7-15.
- Zacharias, I. & Zamparas, M., 2010. Mediterranean temporary ponds. A disappearing ecosystem. *Biodiversity and Conservation* 19, 3827-3834.
- Zacharias, I., Dimitriou, E., Dekker, A. & Dorsman, E., 2007. Overview of temporary ponds in the Mediterranean region: Threats, management and conservation issues. *Journal of Environmental Biology* 28, 1-9.
- Zedler, J.B. & Kercher, S., 2005. Wetland resources: trends, ecosystem services, and restorability. *Annual Review of Environmental Resources* 30, 39-74.

ANEXOS

Amostragem de crustáceos de água doce

Durante a realização dos varrimentos de anfíbios foram capturados ocasionalmente crustáceos de água doce. Por ser um grupo mal estudado a nível nacional resolveu-se realizar uma amostragem idêntica à realizada para os anfíbios (3 varrimentos de 10m por charco) mas com um camaroeiro de rede mais fina. Por estas espécies serem praticamente impossíveis de identificar em campo foram conservados alguns indivíduos de cada espécie em álcool a 70% para posterior identificação em laboratório. Esta identificação foi feita por especialistas nestes grupos.

Com a análise das amostras recolhidas em campo foi possível identificar 10 espécies de Maxilopoda, 17 espécies de Branchiopoda e mais 2 espécies de Ostracoda (Tabela 17). Os dados sobre a ocorrência destas espécies no nosso país são muito poucos e a maioria delas não apresenta qualquer estatuto de conservação. Contudo outras espécies mais estudadas são atualmente protegidas (De Roeck *et al.*, 2007). Assim estes dados constituem um importante contributo para o conhecimento das nossas espécies.



Figura 15- *Triops baeticus* e *Streptocephalus torvicornis* capturados durante a realização das amostragens de anfíbios

Tabela 17- Lista de espécies identificadas de crustáceos de água doce encontrados nos charcos temporários Mediterrânicos

Espécie	Presença (nº charcos)	Área	pH	Condutividade
Maxillopoda (Copepods)- Calanoida				
<i>Copidodiaptomus numidicus</i>	4	864-15258	6.7-7.5	66-206
<i>Dussartius baeticus</i>	6	744-29948	6.2-7.2	137-455
<i>Hemidiaptomus roubai</i>	1	32567	7.1	66
<i>Mixodiaptomus incrassatus</i>	12	444-57415	6.6-7.8	66-172
Maxillopoda (Copepods)- Cyclopoida				
<i>Acanthocyclops robustus</i>	6	307-1487	6.5-7.6	66-377
<i>Cyclops strennus (strennus?)</i>	1	444	7.2	172
<i>Diacyclops bicuspidatus odessanus</i>	1	685	7	66
<i>Eucyclops serrulatus</i>	1	1325	6.5	320
<i>Megacyclops viridis</i>	1	78	8.1	214
<i>Paracyclops fimbriatus</i>	1	2920	6.2	169
Grandes Branchiopoda				
<i>Chirocephalus diaphanus</i>	3	78-2709	6.9-8.1	66-214
<i>Streptocephalus torvicornis</i>	2	2577-3522	6.7-7.1	66-258
<i>Tanymastix stagnalis</i>	1	78	8.1	214
<i>Triops baeticus</i>	8	1123-25393	6.7-7.4	66-258
Pequenos Branchiopoda				
<i>Ceriodaphnia laticaudata</i>	2	296-685	6.9-7	66
<i>Ceriodaphnia quadrangular</i>	10	296-57415	6.5-7.8	66-320
<i>Daphnia hispanica</i>	1	864	6.7	199
<i>Daphnia pulicaria</i>	4	296-444	6.9-7.6	66-377
<i>Daphnia rosea</i>	1	1325	6.5	320
<i>Eurycercus lamellatus</i>	2	3549-24933	7-7.1	66
<i>Macrothrix hirsuticornis</i>	1	925	6.8	137
<i>Megafenestria aurita</i>	3	307-57415	7-7.8	167-377
<i>Moina brachiata</i>	9	864-57415	6.6-7.8	66-199
<i>Scapholeberis rammneri</i>	3	2577-20900	6.6-7.1	66-258
<i>Simocephalus exspinosus</i>	4	307-20900	6.6-7.6	66-377
<i>Simocephalus serrulatus</i>	1	3549	7	66
<i>Simocephalus vetulus</i>	10	314-32567	6.2-7.5	66-173
Ostracoda				
<i>Ostracoda spp.</i>	19	78-52952	6.2-8.1	66-455
<i>Cypris bispinosa</i>	4	3549-52952	6.6-7.2	66-144