



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MATEMÁTICA

Densidade de carcaças de vertebrados mortos por colisões em segmentos de estradas na região do Alentejo.

Nuno Miguel Peixoto da Costa Teixeira

Orientação:

Prof. Dr. Russell Gerardo Alpizar Jara

Prof.^a Dra. Anabela Cristina Cavaco Ferreira Afonso

Mestrado em Modelação Estatística e Análise de Dados

Dissertação

Évora, 2016



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MATEMÁTICA

Densidade de carcaças de vertebrados mortos por colisões em segmentos de estradas na região do Alentejo.

Nuno Miguel Peixoto da Costa Teixeira

Orientação:

Prof. Dr. Russell Gerardo Alpizar Jara

Prof.^a Dra. Anabela Cristina Cavaco Ferreira Afonso

Mestrado em Modelação Estatística e Análise de Dados

Dissertação

Évora, 2016

Agradecimentos

Aos meus orientadores, Professor Russell Alpizar Jara e Professora Anabela Afonso, por todo o apoio e confiança que depositaram neste trabalho, pelos ensinamentos, pela simpatia e pela disponibilidade demonstrada, sem os quais este trabalho dificilmente chegaria a bom porto.

Ao Professor António Mira pela amabilidade na disponibilização dos dados, e pelos conselhos e apontamentos preciosos, que contribuíram para tornar esta tese num documento mais rico.

À Teresa Saraiva pela amizade e pelo apoio incondicional.

À Leonor por aturar os meus desabafos ao longo do tempo que eu dediquei a este trabalho, mesmo nunca tendo percebido bem do que ele trata.

Aos meus pais, por tudo.

Resumo

A mortalidade de fauna selvagem por atropelamento representa um importante fator de impacto sobre os ecossistemas envolventes.

A compreensão da magnitude do impacto depende da quantificação exata do número de indivíduos atropelados, estando limitada por dois constrangimentos: remoção de carcaças por ação de necrófagos, e detetabilidade incompleta das carcaças durante a prospeção.

Os métodos de amostragem por distâncias foram desenvolvidos para permitir estimar densidade de animais a partir das distâncias observadas entre estes e um transecto linear ou pontual.

Este trabalho pretendeu verificar a adequabilidade dos métodos de amostragem por distâncias na estimação da densidade de carcaças de anfíbios em duas estradas do interior do Alentejo.

Foram ajustados vários modelos de amostragem por distâncias, que revelaram existir uma elevada heterogeneidade dos dados em função de diversos fatores, sendo particularmente relevantes o troço amostrado, a espécie e o estado de conservação das carcaças.

Abstract

Carcasses density of vertebrates killed by collisions in road segments in the Alentejo region

Wildlife road mortality represents an important ecological impact over the surrounding ecosystems.

The comprehension about the magnitude of the roadkill impacts depends on the exact quantification on the individuals killed by vehicle collision, which is limited by two main constraints: carcass removal by scavengers, and incomplete detectability of the corpses.

Distance sampling methods were developed in order to enable the estimation of animal density based on the recorded distances from a line or point transect to all the detected individuals.

The present work aims to evaluate the suitability of distance sampling methods in density estimation of amphibian carcasses in two roads of the Alentejo region.

The adjusted models revealed a high heterogeneity of the data related to several factors, of which the line transect, species and carcass decomposing state were the most relevant.

Índice

Resumo	iii
Abstract.....	v
Índice.....	vii
Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas	xi
1. Introdução.....	1
2. Objectivos	7
3. Métodos.....	8
3.1. Recolha dos Dados	8
3.2. Amostragem por distâncias	8
3.2.1. Introdução.....	8
3.2.2. Convencional.....	10
3.2.3. Estratificação.....	14
3.2.4. Covariáveis	15
3.3. Tratamento e Análise dos Dados	17
3.3.1. Análise Exploratória	17
3.3.1. Ajustamento e seleção dos modelos	18
4. Resultados.....	21
4.1. Análise Exploratória	21
4.2. Amostragem por distâncias convencional	23
4.3. Amostragem por distâncias com múltiplas covariáveis (MCDS).....	27
4.3.1. Análise Exploratória das Covariáveis	27
4.3.2. Modelos MCDS.....	33
4.4. Comparação dos Melhores Modelos CDS e MCDS	39
5. Discussão.....	41
6. Conclusões	44
7. Propostas de trabalho.....	45
8. Bibliografia	47

Índice de Figuras

Figura 3.1 – A distância μ , designada por semi-amplitude efetiva da faixa, corresponde à distância para a qual o número de objetos detetados entre μ e w é idêntico ao número de objetos não detetados entre as distâncias 0 e μ , pelo que as áreas assinaladas a cinzento têm a mesma área. Adaptado de Buckland, et al., 2015.	10
Figura 3.2 – Um bom modelo para a função de deteção deve possuir um ombro, o que significa que a função de deteção deve ser próxima de 1 na proximidade do transecto, devendo depois decrescer de forma suave à medida que a distância aumenta.....	11
Figura 3.3 – Gráficos das funções disponibilizadas pelo <i>software</i> Distance.....	13
Figura 4.1 – Nº de carcaças detetadas em cada troço de estrada.....	21
Figura 4.2 – Frequência de carcaças detetadas em função da distância, considerando a totalidade dos dados obtidos no estudo.	22
Figura 4.3 – Frequência de carcaças detetadas em função da distância por estradas e troços.	23
Figura 4.4 – Histograma das distâncias detetadas e função de deteção ajustada para o troço EN114B (D = densidade estimada de carcaças, $CVD\%$ = coeficiente de variação, D LCI = Limite inferior do intervalo de confiança da Densidade, D LCS = Limite superior do intervalo de confiança da Densidade).....	25
Figura 4.5 - Histograma da probabilidade de deteção e função de deteção para o troço EN114A (D = densidade estimada de carcaças, $CVD\%$ = coeficiente de variação, D LCI = Limite inferior do intervalo de confiança da Densidade, D LCS = Limite superior do intervalo de confiança da Densidade).....	26
Figura 4.6 - Histograma da probabilidade de deteção e função de deteção para o troço EN4A (D = densidade estimada de carcaças, $CVD\%$ = coeficiente de variação, D LCI = Limite inferior do intervalo de confiança da Densidade, D LCS = Limite superior do intervalo de confiança da Densidade)	26
Figura 4.7 - Histograma da probabilidade de deteção e função de deteção para o troço EN4B (D = densidade estimada de carcaças, $CVD\%$ = coeficiente de variação, D LCI = Limite inferior do intervalo de confiança da Densidade, D LCS = Limite superior do intervalo de confiança da Densidade)	26
Figura 4.8 - Modelos <i>Seminormal</i> e <i>Taxa de risco</i> ajustados para o estrato EN114B	27
Figura 4.9 - Histogramas da frequência de carcaças das duas ordens de anfíbios, Anura e Caudata.	28
Figura 4.10 – Histogramas com frequência de carcaças de todas as espécies com mais de 5 carcaças detetadas.....	30
Figura 4.11 – Peso médio (g) e respetivo desvio padrão das carcaças observadas nas diferentes faixas da estrada.....	31
Figura 4.12 – Comprimento médio (cm) e respetivo desvio padrão das carcaças observadas nas diferentes faixas da estrada.	31
Figura 4.13 – Histogramas dos 4 níveis da covariável peso.....	32

Figura 4.14 – Histogramas dos 4 níveis da covariável comprimento	32
Figura 4.15 - Histogramas para os dois níveis da covariável estado de conservação	33
Figura 4.16 – Densidade estimada de carcaças com os vários modelos MCDS ajustados \pm IC 95%	38

Índice de Tabelas

Tabela 3.1 – Descrição da posição relativa dos cadáveres na estrada.	8
Tabela 3.2 - Largura e distância ao observador das faixas assinaladas	17
Tabela 3.3 - Características dos troços amostrados no estudo	18
Tabela 3.4 - Covariáveis consideradas para inclusão nos modelos.	18
Tabela 3.5 – Combinações utilizadas nos modelos CDS e MCDS. Para cada combinação (função chave + expansão em série) foram utilizadas duas abordagens distintas: sem estratificação e com estratificação.	19
Tabela 4.1 - Resultados dos modelos obtidos através da amostragem por distâncias convencional (função chave: HN – <i>Seminormal</i> ; Uni – <i>Uniforme</i> ; HR – <i>Taxa de risco</i> . Expansão em série: Cos – <i>Coseno</i> ; HP – <i>Polinomial de Hermite</i> ; SP – <i>Polinomial simples</i> ; Entre parenteses – nº de termos de ajustamento. D – Densidade estimada; D LCI – Limite de confiança inferior para a densidade; D LCS – Limite de confiança superior para a densidade; CV D % – Coeficiente de variação da densidade. ΔAIC - χ^2 – valor observado para a estatística de teste; g.l. – graus de liberdade).	24
Tabela 4.2 – Densidade estimada de carcaças, e respetivos coeficiente de variação e intervalo de confiança, obtidos com os modelos <i>Seminormal</i> (CDS 3) e taxa de risco (CDS 2) ajustados para o estrato EN114B.	27
Tabela 4.3 – Ordem, peso e comprimento médios segundo a literatura, e nº de carcaças de todas as espécies detetadas no estudo.	29
Tabela 4.4 – Categorias de peso utilizadas na análise MCDS	31
Tabela 4.5 - Categorias de comprimento utilizadas na análise MCDS.....	31
Tabela 4.6 – Resultados obtidos para os diferentes estratos do modelo ID 34. (D – Densidade; IC _{95%} (D) - Intervalo de confiança a 95% para a densidade; LCI – Limite inferior do intervalo de confiança; LCS – Limite superior do intervalo de confiança; CV D % – coeficiente de variação estimado da densidade estimada.).....	34
Tabela 4.7 - Modelos MCDS ajustados (HN – <i>Seminormal</i> ; HR – <i>Taxa de risco</i> ; D – Densidade; IC _{95%} (D) - Intervalo de confiança a 95% para a densidade; LCI – Limite inferior do intervalo de confiança; LCS – Limite superior do intervalo de confiança; CV D % – coeficiente de variação estimado da densidade estimada.).....	35
Tabela 4.8 – Análise comparativa dos melhores modelos CDS e MCDS (HN – <i>Seminormal</i> ; Uni – <i>Uniforme</i> ; P _a – Probabilidade de deteção; D – Densidade; D LCI – Limite inferior do intervalo de confiança da densidade; D LCS – Limite superior do intervalo de confiança da densidade; CV(D) % – coeficiente de variação da densidade; Entre parenteses – nº de termos de ajustamento).	40

1. INTRODUÇÃO

As estradas são estruturas fundamentais nas sociedades humanas, permitindo a circulação de pessoas e bens entre diversos pontos afastados geograficamente, desempenhando um papel vital na economia e no desenvolvimento social. O desenvolvimento de uma grande rede viária, contudo, acarreta um elevado conjunto de impactes sobre o meio envolvente, interferindo com o normal funcionamento dos ecossistemas onde se inserem.

A compreensão dos efeitos ecológicos das estradas tem sofrido uma preocupação crescente por parte da comunidade científica, permitindo uma consolidação do conhecimento associado a esta problemática (Coffin, 2007). Esta preocupação culminou com a publicação do livro *Road Ecology* (Forman, 2003), que consolidou a informação enquanto área do conhecimento multidisciplinar.

São múltiplas as formas pelas quais as estradas interagem com o meio envolvente, tendo sido sistematizadas por vários autores. Uma proposta foi apresentada por van der Ree et al. (2015), que dividiu os impactes causados por estradas em 7 categorias:

- **Perda de habitat** – a construção de estradas implica a destruição do coberto vegetal, resultando na perda de habitat tanto na zona de implementação como nas áreas adjacentes;
- **Degradação de habitat** – a interação de fatores bióticos e abióticos resulta na perda de qualidade dos habitats localizados nas áreas adjacentes;
- **Barreira ou filtros ao movimento** – as estradas limitam o movimento de animais, sendo que as luzes, ruído, poluição química e presença de veículos exacerbam este comportamento;
- **Mortalidade de vida selvagem** – as estradas potenciam a colisão de veículos com fauna selvagem;
- **Evitação (*avoidance*)** – algumas espécies evitam a proximidade de estradas devido aos fatores de perturbação;
- **Atração** – algumas espécies são atraídas por estradas (e.g. os répteis procuram as estradas para termorregulação);
- **Criação de habitat ou corredores de dispersão** – em algumas paisagens altamente modificadas, as bermas das estradas podem fornecer o melhor habitat disponível

(e.g. algumas espécies de plantas invasoras proliferem frequentemente nas bermas das estradas).

Uma classificação semelhante foi apresentada por Trombulak, et al., 2000, que agregou os impactes das estradas sobre os ecossistemas terrestres e aquáticos em 7 categorias (aumento da mortalidade em resultado da construção, aumento da mortalidade por colisão com veículos, modificação do comportamento animal, alteração do ambiente físico, alteração do ambiente químico, proliferação de espécies invasoras, e maior intensidade de utilização antrópica do espaço).

De entre todos os factores de perturbação apontados, a mortalidade de fauna selvagem por colisão com veículos tem reunido particular atenção, tendo sido apontada como o principal factor antrópico de mortalidade de vertebrados (Forman, 1998).

A mortalidade de fauna selvagem por atropelamento apresenta um largo espectro taxonómico, afetando comunidades de avifauna (Erritzoe et al., 2003), mamíferos terrestres (Bruinderink & Hazebroek, 1996) e voadores (Lesiński, 2007), herpetofauna (Hels & Buchwald, 2001), mas também invertebrados, particularmente insetos (Muñoz et al., 2015).

O grupo dos anfíbios é um dos mais afetados pela mortalidade em estradas, o que resulta de algumas particularidades ecológicas inerentes a este grupo faunístico, como padrões fenológicos, estrutura populacional e seleção de habitat (Trombulak & Frissell, 2000; Hels & Buchwald, 2001; Puky, 2005; Gibbs & Shriver, 2005). Exemplo disto são as migrações entre os locais de hibernação e os locais de reprodução, que por vezes implicam o atravessamento de estradas, podendo por isso resultar em avultada mortalidade. A dispersão de juvenis no período pós-reprodutor potencia também a ocorrência de atropelamentos (Langen et al., 2009). A elevada incidência da mortalidade em estradas sobre as populações de anfíbios é particularmente relevante quando se considera que se trata de um dos grupos mais ameaçados à escala global (Stuart, 2004).

Em Portugal ocorrem 17 espécies de anfíbios, algumas das quais enfrentam diversos graus de ameaça (Loureiro et al., 2008). A bibliografia sobre a mortalidade de anfíbios em estradas portuguesas é ainda escassa revelando, contudo, a afetação de várias espécies, particularmente da ordem Anura (Santos et al., 2011)

A avaliação dos impactes da mortalidade de anfíbios em estradas por atropelamento está limitada por constrangimentos metodológicos que limitam a sua quantificação.

A maioria dos estudos sobre mortalidade em estradas baseia-se na simples contagens de indivíduos, que podem ser convertidos em índices de abundância relativa (e.g. nº de

carcaças/km). Estes índices são medidas que se correlacionam com a densidade populacional, sendo no entanto muito limitados quando o objetivo é realizar inferência acerca da população (Williams et al., 2002).

Apesar de a utilização de índices de mortalidade (e.g. nº de carcaças/km), desde que as metodologias empregues se mantenham constantes, poder ser útil para efeitos comparativos – por exemplo para a avaliação de tendências temporais, ou para avaliar a eficácia de determinada medida de mitigação – eles não revelam os reais impactes demográficos sobre as populações. Com efeito, os estudos baseados em contagens assumem frequentemente que todos os indivíduos são detetados o que, apesar de ser verdade para espécies grandes e conspícuas, não acontece com o grupo dos anfíbios (Hels & Buchwald, 2001).

A estimativa do número de indivíduos mortos em estradas é principalmente afetada por dois fatores: a remoção de carcaças entre o momento da morte e a prospeção, e a incompleta detetabilidade das carcaças por parte dos observadores (Teixeira et al., 2013).

A remoção de carcaças está fortemente associada à atividade de necrófagos e outros predadores podendo, contudo, ser influenciada por outros fatores, como intensidade do tráfego e condições meteorológicas (Beebee, 2013). Para além disso, as taxas de remoção das carcaças são táxon-específicas, variando de acordo com determinadas características das espécies, como o tamanho ou a palatabilidade (Elzanowski et al., 2009).

Relativamente à detetabilidade, é influenciada pela conspicuidade da carcaça, pela existência de vegetação nas bermas, pelo método de amostragem utilizado e pela aptidão do observador (Teixeira et al., 2013). De uma forma geral, a conspicuidade das carcaças é proporcional ao tamanho havendo, contudo, outras características que podem afetar a probabilidade de deteção de uma determinada espécie, como a existência de pelo, penas ou coloração (Elzanowski et al., 2009). A existência da vegetação nas bermas pode também diminuir a detetabilidade das carcaças, particularmente dos indivíduos que foram projetados para as bermas ficando ocultos entre a vegetação (Hobday & Minstrell, 2008). Os métodos de amostragem variam consoante o tipo de locomoção utilizada, sendo os mais comuns a realização de percursos pedestres e a realização de percursos de automóvel a baixa velocidade, havendo ainda alguns estudos baseados em contagens realizadas de moto ou bicicleta (Erritzoe et al., 2003; Puky, 2005).

Apesar de existirem algumas variantes para os diversos métodos de amostragem, é consensual a ideia de que os percursos de automóvel têm menor eficácia do que os pedestres

no que respeita à contagem de carcaças em estradas, o que resulta principalmente da velocidade a que os percursos são realizados (Collinson et al., 2014). No caso particular dos anfíbios, vários estudos apontam para grandes discrepâncias entre o número de indivíduos detetados através de percursos pedestres e percursos de automóvel, e que resultam da reduzida conspicuidade deste grupo faunístico (Slater, 2002; Puky, 2005; Langen, et al., 2007).

Considerando que a contagem de carcaças representa apenas uma proporção da mortalidade ocorrida, torna-se necessário determinar fatores de correção que permitam converter o número de carcaças observadas numa estimativa da mortalidade real. Os fatores de correção deverão permitir que, a partir os dados da mortalidade observada, se obtenham estimativas não enviesadas da mortalidade real, sendo para isso necessário estimar o número de carcaças entretanto removidas, assim como as que não foram detetadas durante a prospeção.

A utilização de fatores de correção para estimar mortalidade de fauna selvagem a partir de contagens de carcaças tem sido amplamente utilizada em estudos de mortalidade em eólicos, tendo sido desenvolvidos vários estimadores para o efeito, sendo que em Portugal é já obrigatória a sua utilização em projetos de monitorização de mortalidade em parques eólicos (ICNF, 2009).

Verifica-se, no entanto, que a utilização de fatores de correção para estimar mortalidade em estradas é ainda bastante incipiente (Teixeira et al., 2013). Alguns autores desenvolveram protocolos baseados em métodos de captura-recaptura, por forma a corrigir a remoção por carcaças e a detetabilidade incompleta (Hels & Buchwald, 2001; Guinard et al., 2012). Mais recentemente Teixeira, et al. (2013), baseados nos trabalhos desenvolvidos por Erickson, et al. (2000) e Shoenfeld (2004) para estimação de mortalidade de avifauna em parques eólicos, apresentaram um conjunto de equações diferenciais para estimar a mortalidade em estradas, incorporando a indefinição resultante da remoção por carcaças e a detectabilidade incompleta.

Os factores que influenciam a taxa de remoção de carcaças em estradas foram analisados por (Santos et al., 2011), que recorreram a análise de sobrevivência para decrever o tempo de sobrevida de carcaças em estradas, otimizar as metodologias de prospecção, e compreender os factores que influenciam a probabilidade de persistência de carcaças de diferentes espécies.

Relativamente à detectabilidade incompleta das carcaças, existem ainda poucos estudos dedicados a compreender a sua influência sobre as estimativas de mortalidade em estradas. No entanto, esta questão tem sido alvo de diversos estudos relativos à estimação de mortalidade em parques eólicos, havendo vários estimadores de mortalidade que incorporam a detectabilidade de carcaças. Na sua forma mais comum são realizados testes de controlo de detecção de carcaças, sendo que os estimadores incluem um termo de ajustamento baseado na proporção de carcaças detectadas pelos observadores (Erickson et al., 2000; Shoenfeld, 2004; Jain et al., 2007; Huso, 2011; Korner-Nievergelt, et al., 2011). Slater (2002) experimentou uma abordagem semelhante em estradas, tendo utilizado carcaças artificiais (cabeças de galinha) para quantificar a discrepância entre o número real de carcaças e o número detectado pelos observadores.

No que respeita aos estimadores desenvolvidos para parques eólicos, Kerns, et al. (2005) testaram um método diferente no qual, para além da incorporação de um termo de ajustamento baseado na proporção empírica de carcaças detectadas pelos observadores, testaram a aplicabilidade do método de amostragem por distâncias (Thomas, et al., 2010) como forma de calcular a probabilidade de detecção de carcaças na área prospectada. As probabilidades de detecção foram calculadas de forma estratificada, de acordo com as classes de visibilidade encontradas no terreno, tendo-se observado algumas discrepâncias entre os dois métodos utilizados, particularmente nas classes de menor visibilidade. Os autores consideraram o método de amostragem por distâncias como uma ferramenta eficaz no cálculo das probabilidades de detecção de carcaças sugerindo, no entanto, a necessidade de aperfeiçoar o protocolo metodológico por forma a cumprir os pressupostos do método.

A utilização do método de amostragem por distâncias pode oferecer algumas vantagens face aos métodos empíricos, que se baseiam em testes de detectabilidade para calcular a proporção de carcaças detectadas pelos observadores. Desde logo porque implica uma menor recolha de dados, uma vez que não é necessário realizar amostragens de controlo para calcular proporções de carcaças detectadas. Com efeito, os métodos de amostragem por distâncias na observação e contagem de carcaças, sendo que para a sua implementação é apenas necessária a recolha adicional das distâncias das carcaças ao transecto percorrido pelo observador.

Pretende-se com este trabalho verificar a aplicabilidade do método de amostragem por distâncias no estudo de mortalidade em estradas, particularmente no que concerne à mortalidade de anfíbios, no caso em que os dados disponíveis não correspondem a distâncias

exactas nem a classes de distâncias, mas sim a categorias de distâncias relativamente à berma onde se realiza o transecto.

Apesar da estimativa da abundância de carcaças em estradas ser principalmente afectada por dois factores, nomeadamente a indisponibilidade das carcaças no momento da prospecção devido à remoção por predadores e a detectabilidade incompleta durante a prospecção, a utilização dos métodos de amostragem por distâncias pretende apenas verificar a sua aplicabilidade na correcção da detectabilidade incompleta.

2. OBJECTIVOS

O objetivo do presente trabalho é avaliar a aplicabilidade dos métodos de amostragem por distâncias na obtenção de estimativas não enviesadas de mortalidade de anfíbios em estradas, como forma de corrigir os erros resultantes de taxas de detetabilidade incompletas.

Por forma a dar cumprimento aos objetivos gerais do trabalho, definiram-se os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar o cumprimento dos pressupostos dos métodos de amostragem por distâncias quando aplicados a dados de mortalidade em estradas, no caso em que as distâncias não foram recolhidas como distâncias exatas nem como intervalos de distâncias, mas sim como categorias de distâncias que identificam a zona em que em que foram feitas as deteções relativamente à berma onde se realiza o transecto.
- Analisar e comparar os resultados dos métodos de amostragem por distâncias com e sem inclusão de covariáveis em dados de mortalidade em estradas;
- Avaliar, à luz dos resultados obtidos, as metodologias tradicionais de recolha de dados de mortalidade em estradas, e apresentar eventuais propostas de melhoria.

3. MÉTODOS

3.1. Recolha dos Dados

A recolha dos dados ocorreu entre Janeiro de 2005 e Janeiro de 2006. Neste período realizaram-se diariamente transectos lineares de automóvel em 4 troços das estradas nacionais EN4 e EN114. As prospeções tiveram início até duas horas após o nascer do sol.

Os trabalhos foram realizados por um técnico que conduzia a uma velocidade de cerca de 20km/hora enquanto procurava carcaças em ambas as faixas.

No decorrer dos transectos foram registadas todas as carcaças de animais observadas na estrada, sendo a sua posição assinalada com recurso a GPS. Os indivíduos foram identificados no local, sendo assinalada a espécie correspondente. Nos casos em que o estado de degradação das carcaças não permitiu a identificação ao nível da espécie, a identificação foi realizada ao nível dos grupos taxonómicos superiores.

Foi assinalado o estado de conservação de todas as carcaças observadas, sendo este classificado como “inteiro” ou “parcial / vestígio”. Foi ainda atribuído um peso (em gramas) e comprimento a cada uma das espécies identificadas, sendo estes valores baseados em dados bibliográficos.

Para cada registo foi assinalada a posição na estrada relativamente ao observador, sendo utilizada a classificação apresentada na Tabela 3.1.

Os dados foram armazenados numa folha de cálculo Microsoft Excel.

Tabela 3.1 – Descrição da posição relativa dos cadáveres na estrada.

Posição	Sigla	Descrição
Berma 1	B1	Cadáveres localizados na berma utilizada para realização do transecto
Faixa 1	F1	Cadáveres localizados na faixa contígua à utilizada para realização do transecto
Centro	C	Cadáveres que intersectam a linha central da estrada
Faixa 2	F2	Cadáveres localizados na faixa oposta ao observador
Berma 2	B2	Cadáveres localizados na berma oposta ao observador

3.2. Amostragem por distâncias

3.2.1. Introdução

O termo amostragem por distâncias foi introduzido por Buckland et al. (1993) (Buckland et al., 2015), para definir um conjunto de métodos baseados em amostragens em transectos ou em pontos que permitem estimar a densidade ou a abundância de animais a partir das

distâncias aos indivíduos detectados. A publicação do primeiro livro sobre o método foi acompanhado pela disponibilização do *software* Distance (Laake et al., 1993), que permitia implementar os métodos apresentados no livro.

Os métodos de amostragem por distâncias foram sofrendo várias actualizações ao longo do tempo, tendo sido desenvolvidas novas funções que permitiram alargar a sua gama de aplicação. A publicação do livro *Advanced Distance Sampling* (Buckland et al., 2004) introduziu alguns métodos mais avançados, como *multiple-covariate distance sampling*, *density surface modelling*, e *mark-recapture distance sampling* for double-observer data, que foram incorporados no *software* Distance. Mais recentemente a publicação do livro *Distance Sampling: Methods and Applications* (Buckland et al., 2015) sumariza todos os desenvolvimentos sobre amostragem por distâncias ocorridos até ao momento, incluindo as suas aplicações nos softwares Distance e R.

De uma forma geral, os métodos de amostragem por distâncias baseiam-se na amostragem de áreas através de transectos lineares ou pontuais, sendo anotada a distância de todos os objectos de interesse (no caso de transectos lineares interessa a distância perpendicular, enquanto na amostragem por transectos pontuais interessa a distância radial) à linha central do transecto ou ao ponto de amostragem. Os métodos de amostragem por distâncias permitem ainda que, ao invés de serem registadas as distâncias exactas ao objecto de interesse, estas sejam recolhidas na forma de classes de distâncias.

A aplicação dos métodos de amostragem por distâncias requer o cumprimento de um conjunto de pressupostos, designadamente:

1. Os objectos de estudo encontram-se distribuídos de forma independente em relação aos pontos ou linhas;
2. Os objectos localizados sobre os pontos ou linhas tem probabilidade de detecção igual a 1;
3. As distâncias são medidas correctamente;
4. Os objectos são localizados na sua posição inicial. No caso da amostragem de animais, este pressuposto implica que se assume que estes não se movimentam em resposta à presença do observador.

Como no presente trabalho apenas será utilizada a amostragem por transectos lineares, nas secções seguintes apenas será focado este método. Daqui em diante, abreviar-se-á amostragem por transectos lineares somente por amostragem por distâncias.

3.2.2. Convencional

Na sua forma mais simples, designada por amostragem por distâncias convencional, daqui por diante designada por CDS (*Conventional Distance Sampling*), são recolhidas as distâncias perpendiculares (x) a um transecto linear de área $2lw$, em que l é o comprimento do transecto e w corresponde a metade da largura da área amostrada.

As distâncias recolhidas são utilizadas para modelar a função de detecção $g(x)$, definida como a probabilidade de detectar um objecto que se encontra a uma distância perpendicular x ($0 \leq x \leq w$) relativamente à linha central do transecto. A partir desta função é possível estimar a probabilidade de detecção de um objecto na área de interesse, representada por P_a ($0 \leq P_a \leq 1$), e por conseguinte a quantidade de objectos não detectados. A estimativa da densidade de objectos numa determinada área A ($A = 2lw$) pode então ser calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\hat{D} = \frac{n}{2wl\hat{P}_a},$$

em que n corresponde ao número observado de objectos.

Desta forma, se for estimado que foram detectados metade dos objectos presentes na área de comprimento l e largura $2w$, a estimativa de densidade é o dobro da calculada se fosse assumido que todos os objetos haviam sido detetados. Isto é equivalente a estimar a densidade assumindo que a contagem de objetos foi completa numa área de largura μ , sendo esta distância designada por semi-amplitude efetiva da faixa (Figura 3.1).

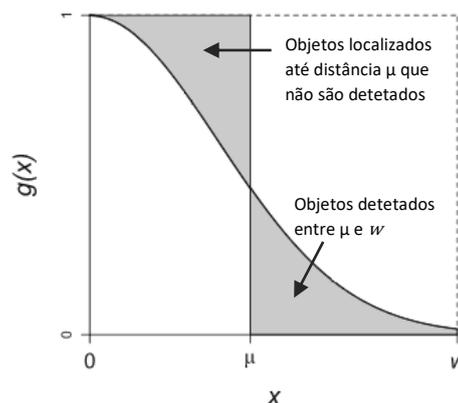


Figura 3.1 – A distância μ , designada por semi-amplitude efetiva da faixa, corresponde à distância para a qual o número de objetos detetados entre μ e w é idêntico ao número de objetos não detetados entre as distâncias 0 e μ , pelo que as áreas assinaladas a cinzento têm a mesma área. Adaptado de Buckland, et al., 2015.

O conceito fundamental na estimação da densidade através dos métodos de amostragem por distâncias é a função de detecção $g(x)$, que representa a probabilidade de detectar um objecto em função da distância à linha central do transecto. Desta forma, a etapa

fundamental em qualquer análise de amostragem por distâncias é a seleção de um modelo plausível e parcimonioso para a função de detecção, que deverá apresentar as seguintes características (Buckland et al., 2015):

- Ombro: O modelo deverá possuir um ombro, ou seja, a probabilidade de detecção deverá ser igual ou próxima de um na proximidade do transecto. Esta propriedade é também designada por critério da forma (Figura 3.2):

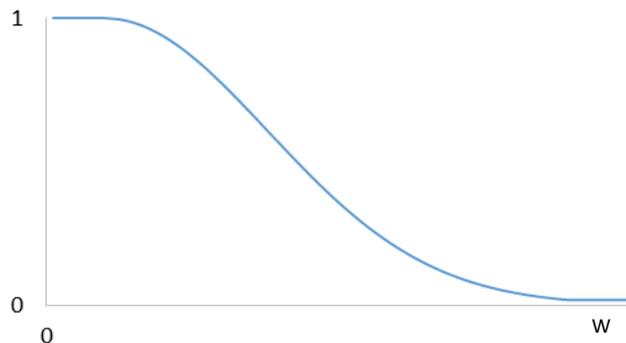


Figura 3.2 – Um bom modelo para a função de detecção deve possuir um ombro, o que significa que a função de detecção deve ser próxima de 1 na proximidade do transecto, devendo depois decrescer de forma suave à medida que a distância aumenta.

- Decrescente: O modelo deverá ser uma função decrescente com a distância à linha central do transecto.
- Robustez: O modelo deverá ser flexível, capaz de assumir um grande conjunto de formas, sendo que a utilização de termos de ajustamento tem como objetivo permitir esta flexibilidade.
- Robustez ao agrupamento: Apesar de os métodos amostragem por distâncias se basearem na modelação da detetabilidade em função da distância, existem outros fatores que podem influenciar a probabilidade de detecção. Existem métodos complementares (e.g. MCDS) que permitem a inclusão desses fatores no modelo. Não obstante, e de acordo com esta propriedade, a análise inferencial obtida a partir do modelo *de* amostragem por distâncias convencional não deverá ser afetada pela ausência dos fatores no modelo.
- Eficiência de estimação: Deverão ser preferidos modelos que apresentem elevada precisão (menor erro padrão). Contudo, não deverão ser selecionados modelos com elevada precisão sem primeiro garantir que estão cumpridas as propriedades anteriores.

O *software* Distance disponibiliza quatro funções chave para a função de detecção (Figura 3.3), e ainda três expansões em série para os casos em que a função de detecção, por si só, não permite um ajuste adequado.

O modelo mais simples é o modelo uniforme:

$$g(y) = 1, \quad 0 \leq y \leq w.$$

Este modelo assume que todos os objectos até uma distância w da linha central do transecto são detectados. A inclusão de expansões em série permite flexibilizar o modelo.

A segunda função chave é o modelo *seminormal*:

$$g(y) = \exp\left[\frac{-y^2}{2\sigma^2}\right], \quad 0 \leq y \leq w, \quad \sigma^2 > 0.$$

Esta função garante de $g(0) = 1$, como requerido pelos pressupostos do modelo. O parâmetro σ é um parâmetro de escala, sendo que a sua variação não afecta a forma do modelo, mas apenas a rapidez com que a probabilidade de detecção diminui em função da distância.

A terceira função chave é o modelo *taxa de risco*:

$$g(y) = 1 - \exp[(-y/\sigma)^{-b}], \quad 0 \leq y \leq w, \quad \sigma > 0, \quad b \geq 1.$$

Este modelo, para além do parâmetro de escala σ , possui também um parâmetro de forma b , permitindo maior flexibilidade.

O *software* Distance possui ainda uma quarta função chave, designadamente exponencial negativa, cuja presença é justificada apenas por motivos históricos, sendo o seu uso desaconselhado (Buckland et al., 2015). Este desaconselhamento prende-se com a ausência de ombro na função de detecção, que resulta no aparecimento de um pico da probabilidade de detecção na proximidade da linha central do transecto. De acordo com (Buckland et al., 2015) este modelo é, *a priori*, pouco plausível, pois uma vez que se assume que todos os objetos localizados sobre a linha tem probabilidade de detecção igual a 1, é implausível que muitos objectos localizados na proximidade da linha não sejam detectados.

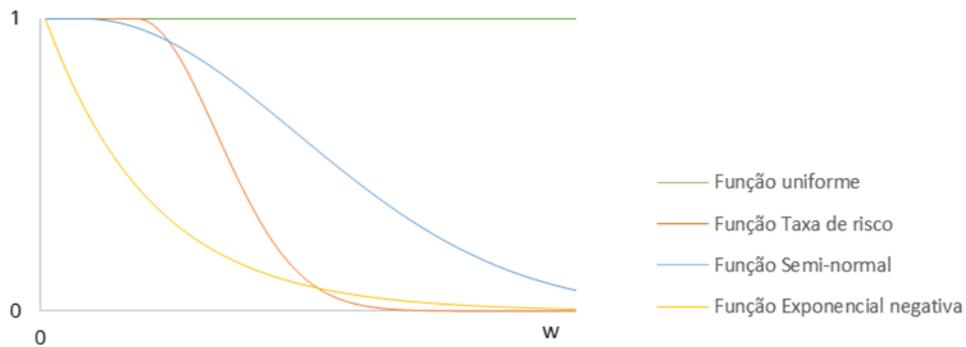


Figura 3.3 – Gráficos das funções disponibilizadas pelo *software* Distance

Para além das funções chave, o *software* Distance permite adicionar três tipos de expansões em séries que apenas são necessárias caso as funções chave revelem um mau ajuste aos dados, podendo ser adicionadas a qualquer das funções chave. As expansões em série disponibilizadas pelo *software* Distance são os seguintes:

- Coseno: $\sum_{j=1}^m a_j \cos\left(\frac{j\pi y}{w}\right)$,
- Polinomial simples: $\sum_{j=1}^m a_j \left(\frac{y}{w}\right)^{2j}$,
- Polinomial de Hermite: $\sum_{j=2}^m a_j H_{2j}(y_s)$.

Para que a estimação da densidade seja possível é necessário encontrar uma forma de estimar a função de deteção $g(y)$. Para isso é calculada a função densidade de probabilidade $f(y)$ através do reescalonamento de $g(y)$ de forma a que o seu integral seja igual à unidade. A vantagem na utilização da função densidade de probabilidade é que existem métodos para ajustar estas funções.

A função densidade de probabilidade pode ser definida relativamente à função de deteção da seguinte forma:

$$f(y) = \frac{g(y)}{\mu},$$

sendo que:

$$\mu = \int_0^w g(y) dy.$$

Um caso particular desta relação é que $f(0) = 1/\mu$, uma vez que, de acordo com os pressupostos do modelo, $g(0) = 1$.

Tendo calculado a função densidade de probabilidade, e estimado o seu valor para $y = 0$ para calcular $f(0)$, torna-se possível calcular a densidade através de seguinte equação:

$$\hat{D} = \frac{n}{2wlP_a} = \frac{n}{2\hat{\mu}l} = \frac{n\hat{f}(0)}{2l}.$$

A função densidade de probabilidade pode ser ajustada através de métodos de máxima verosimilhança. Descrevendo as distâncias perpendiculares entre a linha central do transecto e os n objectos detectados como y_1, y_2, \dots, y_n , a função de verosimilhança, condicional a n , é dada pela sua função densidade de probabilidade conjunta. Assumindo que as distâncias perpendiculares y_i são independentes, esta verosimilhança é dada por:

$$\mathcal{L}_y = \prod_{i=1}^n f(y_i) = \frac{\prod_{i=1}^n g(y_i)}{\mu^n}.$$

No caso de as distâncias, por conveniência, terem sido agrupadas em classes, o modelo para $f(y)$ é ajustado aos dados agrupados usando uma função de verosimilhança multinomial:

$$\mathcal{L}_m = \frac{n!}{n_1! \dots n_u!} \prod_{j=1}^u f_j^{n_j},$$

em que n_j é o número de objectos detectados no intervalo de distâncias j , $j = 1, \dots, u$, $n = \sum_{j=1}^u m_j$, e $f_j = \int_{c_{j-1}}^{c_j} f(y) dy$, sendo que c_0, c_1, \dots, c_u ($c_0 \leq c_1 \leq \dots \leq c_u$) correspondem às distâncias limite dos intervalos (pontos de corte), com $c_u = w$, e $c_0 = 0$.

O agrupamento das distâncias pode ser realizado aquando da recolha dos dados, ou *a posteriori*, durante a sua análise, caso se verifique, por exemplo, ter havido uma tendência para arredondar os seus valores. O agrupamento dos dados não resulta em perdas relevantes na precisão (Buckland et al., 2015).

3.2.3. Estratificação

A estratificação dos dados permite estimar valores de densidade independentes para diferentes estratos.

Esta abordagem pode ser utilizada quando se pretende estimar a densidade de um subconjunto de dados (e.g. estimar a densidade de uma determinada espécie, ou estimar densidade num habitat específico), sendo no entanto necessário que exista um número suficiente de observações em cada estrato (Marques et al., 2007).

A estratificação dos dados pode também ser utilizada quando se verifica ausência de robustez ao agrupamento em modelos de amostragem por distância convencional. Isto pode ocorrer quando há uma elevada heterogeneidade nas funções de deteção entre os diferentes níveis de um determinado fator. É o caso, por exemplo, de amostragens cuja área amostragem inclui habitats muito diferentes, ou animais com comportamentos distintos.

Em ambos os casos podem ser calculadas diferentes funções de deteção para cada um dos estratos, e calculada a respetiva densidade. A densidade global pode ser calculada como a média ponderada pela área de cada estrato.

Existem dois tipos de estratificação dos dados, podendo esta ser definida *a priori*, aquando do delineamento experimental (pré-estratificação), ou após a análise preliminar dos dados, nos casos em que se verifique uma grande heterogeneidade das funções de deteção entre os diferentes estratos, ou quando se pretende analisar um subconjunto dos dados (pós-estratificação).

O *software* Distance apenas permite um nível de estratificação, não sendo possível incluir a estratificação para diferentes fatores em simultâneo.

3.2.4. *Covariáveis*

Para além da distância, a probabilidade de deteção pode ser influenciada por diversos fatores, como habitat, comportamento animal ou observador. A inclusão de covariáveis em modelos de amostragem por distâncias, designados daqui por diante por MCDS (*Multiple-covariate Distance Sampling*), permite que a função de deteção seja modelada em função da distância e das covariáveis.

Esta solução apresenta algumas vantagens relativamente à estratificação dos dados, particularmente quando não há um número suficiente de observações (Buckland, et al., 2001, recomenda um número mínimo de 60-80 observações em transectos lineares para uma estimação fiável da função de deteção) em cada estrato para ajustar diferentes funções de deteção.

A inclusão de covariáveis nos modelos permite reduzir a variância das estimativas de densidade, permitindo modelar a heterogeneidade da função de deteção que é ignorada pelos métodos convencionais da amostragem por distâncias (Marques et al., 2007). Para além disso, os modelos com covariáveis múltiplas possibilitam um maior conhecimento das covariáveis que afetam a função de deteção.

Os métodos MCDS permitem que a função de detecção seja modelada em função da distância à linha central do transecto (y), e por uma ou mais covariáveis, representadas pelo vector z . As covariáveis podem ser do tipo qualitativo (e.g. espécie, habitat) ou quantitativas (e.g. tamanho do grupo de indivíduos, percentagem de cobertura de vegetação).

As covariáveis são introduzidas no modelo através do parâmetro escala (σ). Uma vez que apenas as funções de detecção *seminormal* e *taxa de risco* possuem este parâmetro, apenas elas podem ser utilizadas nos métodos MCDS. O parâmetro escala é modelado em função das covariáveis da seguinte forma:

$$\sigma(z_i) = \exp\left(\alpha + \sum_{q=1}^Q \beta_q z_{iq}\right),$$

em que $z_i = (z_{i1}, z_{i2}, \dots, z_{iQ})$ é o vector dos valores da covariável, e $\alpha, \beta_1, \dots, \beta_Q$ são os coeficientes a ser estimados.

A função de detecção *seminormal* pode então ser expressa da seguinte forma:

$$g(y_i, z_i) = \exp\left[\frac{-y_i^2}{2\sigma^2(z_i)}\right], \quad 0 \leq y_i \leq w, \quad \sigma^2 \geq 0,$$

e a função de detecção *taxa de risco* como:

$$g(y_i, z_i) = 1 - \exp\left[\left(\frac{-y_i}{\sigma(z_i)}\right)^{-b}\right], \quad 0 \leq y_i \leq w, \quad \sigma > 0, \quad b \geq 1.$$

A função de verosimilhança para a estimação dos parâmetros pelos métodos MCDS, para além de ser condicional a n , é também condicional a z_{iq} :

$$\mathcal{L}_{y|z} = \prod_{i=1}^n f_{y|z}(y_i|z_i),$$

em que $f_{y|z}(y_i|z_i)$ é a função densidade de probabilidade de y_i condicional às covariáveis z_i e a n .

Após o ajuste da função de detecção, a densidade pode ser calculada através da seguinte equação:

$$\hat{D} = \frac{1}{a} \sum_{i=1}^n \frac{1}{\hat{P}_a(z_i)}$$

em que a é o tamanho da área abrangida, n é o número de observações, e $\hat{P}_a(z_i)$ é a probabilidade estimada de detetar um objeto, dado que se encontra a uma distância inferior

a w da linha central do transecto, e possui valores de covariáveis iguais a z_i , podendo ser expressa da seguinte forma:

$$\hat{P}_a(z_i) = \frac{1}{w} \int_0^w \hat{g}(y_i, z_i) dy$$

3.3. Tratamento e Análise dos Dados

3.3.1. Análise Exploratória

O protocolo metodológico não visou a recolha das distâncias entre as carcaças detetadas e a linha central do transecto, mas antes as faixas onde as carcaças foram detetadas (ver ponto 3.1), ou seja, categorias de distâncias. Uma vez que estas faixas possuem largura variável consoante o troço da estrada, elas não correspondem às classes de distâncias usualmente utilizadas na amostragem por distâncias, cuja largura de cada classe é fixa para todo o delineamento.

Por forma a ultrapassar este problema e permitir a utilização dos dados em amostragem por distâncias, foi atribuído um valor médio de distância relativamente ao transecto de cada uma das categorias de distâncias, cujos valores se encontram representados na Tabela 3.2.

Como a linha central da estrada (C) não corresponde a um intervalo de distâncias, as carcaças observadas neste local foram distribuídas aleatoriamente pelas duas faixas de rodagem (F1 ou F2). Para cada carcaça observada na linha foi atribuído, de forma aleatória, um valor de 0 ou 1, utilizando a função de geração de números aleatórios no Microsoft Excel 2013. De seguida, todas as carcaças assinaladas com 0 foram classificadas como F1 e as carcaças com 1 como F2.

Tabela 3.2 - Largura e distância ao observador das faixas assinaladas

Faixa	Largura (m)	Distância média ao observador (m)
B1	2	1
F1	3	3,5
F2	3	6,5
B2	2	9

No que concerne à análise de amostragem por distâncias, considerou-se cada troço amostrado como correspondendo a um transecto linear.

Uma vez que, para cada transecto, foram realizadas várias réplicas temporais, estas foram agrupadas num único transecto, cujo comprimento total corresponde ao comprimento do

transecto multiplicado pelo número de visitas, de acordo com as recomendações apresentadas em (Mathai et al., 2013) (Tabela 3.3). Desta forma a análise por distâncias foi realizada considerando apenas quatro transectos lineares. Como consequência deste procedimento, a variabilidade temporal da densidade de carcaças foi ignorada, tendo-se assumido que a densidade foi constante ao longo do período amostrado.

Tabela 3.3 - Características dos troços amostrados no estudo

Estrada	Transecto	Comprimento (km)	Réplicas temporais	Comprimento total amostrado (km)
EN114	EN114A	2,8	36	100,8
	EN114B	7,2	45	324
EN4	EN4A	4,01	43	172,43
	EN4B	8,35	60	501

Foram criados histogramas das distâncias para cada um dos transectos lineares, tendo esta análise sido realizada no *software* R. A análise visual dos modelos indicou quais as funções chave mais adequadas a cada um dos transectos, assim como a necessidade de incluir expansões em série.

Para além da distância existem outros fatores passíveis de influenciar a função de deteção, que podem ser incluídos nos modelos de amostragem por distâncias na forma de covariáveis. Desta forma, foram seleccionadas cinco covariáveis que se considerou poderem afetar a função de deteção, sendo que duas estão relacionadas com a taxonomia das espécies detetadas, duas com a morfologia, e uma com o estado de conservação em que as carcaças foram observadas (Tabela 3.4).

Previamente à criação dos modelos foi realizada uma análise exploratória das covariáveis, que consistiu na criação de diversos histogramas com a frequência de deteção de carcaças para cada um dos níveis das covariáveis e o cálculo de algumas medidas resumo.

Tabela 3.4 - Covariáveis consideradas para inclusão nos modelos.

Covariáveis	Tipo
Ordem	Nominal
Espécie	Nominal
Peso da espécie	Contínua
Comprimento da espécie	Contínua
Estado de conservação	Nominal

3.3.1. Ajustamento e seleção dos modelos

Após a análise exploratória dos dados a estimação foi realizada recorrendo ao *software* Distance. Para a estimação da probabilidade de deteção foram considerados modelos sem

covariáveis (CDS) e com covariáveis (MCDS). Para além disso, foram ainda consideradas duas abordagens distintas: sem estratificação e com estratificação dos dados por transecto.

Os modelos mais simples tiveram por objetivo a estimativa a densidade global de anfíbios mortos no conjunto dos troços amostrados, através do ajuste de uma função de deteção à totalidade dos dados, não incluindo qualquer nível de estratificação.

Os modelos estratificados tiveram por objetivo ajustar diferentes funções de deteção e obter estimativas individuais de densidade para cada transecto linear. Neste caso, a estimativa global de densidade foi obtida como a média das estimativas de densidade nos diferentes estratos ponderada pelo esforço de amostragem no estrato.

Para cada abordagem (com e sem estratos) foram seleccionadas várias combinações de funções chave e expansões em série por forma a encontrar o melhor modelo para a função de deteção. A combinação das funções chave e expansões em série foi realizada de acordo com as recomendações de Thomas, et al. (2010) (Tabela 3.5).

Independentemente da expansão em série utilizada, estabeleceu-se um número máximo de 2 termos de ajustamento para cada expansão. A seleção dos diferentes modelos ajustados para a função de deteção foi realizada de forma automática através da janela de definição das propriedades do modelo disponível no *software* Distance 6.0, tendo como critério o menor AIC.

Todos os modelos foram ajustados com o mesmo filtro nos dados, tendo sido definidos 4 intervalos de distâncias, nomeadamente 0-2 metros, 2-5 metros, 5-8 metros e 8-10 metros.

Tabela 3.5 – Combinações utilizadas nos modelos CDS e MCDS. Para cada combinação (função chave + expansão em série) foram utilizadas duas abordagens distintas: sem estratificação e com estratificação.

Modelos	Função chave	Expansão em série
CDS	Uniforme	Coseno
	Seminormal	Coseno
	Seminormal	Polinomial de Hermite
	Taxa de risco	Polinomial simples
MCDS	Seminormal	Coseno
	Taxa de risco	Polinomial Simples

Para a seleção dos modelos foi realizada, numa primeira fase, uma inspeção visual dos histogramas e das funções de deteção ajustadas para cada um dos modelos. Esta análise pode ser suficiente para rejeitar alguns modelos cuja forma é implausível para um determinado conjunto de dados. Isto acontece, por exemplo, quando a função seleccionada não apresenta um ombro (critério da forma), apresentando uma diminuição abrupta da probabilidade de deteção na proximidade da linha central do transecto.

Numa segunda fase, sempre que possível, a qualidade do ajuste dos modelos selecionados foi verificada através da realização de testes de ajustamento qui-quadrado (χ^2), que analisa as discrepâncias entre o número de objectos observados num dado intervalo de distâncias e o número de objetos esperado de acordo com um determinado modelo.

Para a realização do teste de ajustamento qui-quadrado, dado um número u de classes de distâncias, cujos pontos de corte são definidos como c_0, c_1, \dots, c_u ($c_0 = 0, c_u = w$), e um número n de observações, sendo n_j ($j = 1, 2, \dots, u$) o número de observações na classe j , o número esperado de observações na classe j é dado por n multiplicado pela probabilidade estimada de objetos nessa classe $\hat{\pi}_j$, a qual é obtida a partir da função densidade de probabilidade ajustada das distâncias:

$$\hat{\pi}_j = \int_{c_{j-1}}^{c_j} \hat{f}(y) dy.$$

A estatística de teste χ^2 é dada por:

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^u \frac{(n_j - n\hat{\pi}_j)^2}{n\hat{\pi}_j},$$

que tem uma distribuição χ^2 com $u - q - 1$ graus de liberdade, em que u é o número de classes e q é o número de parâmetros do modelo.

Uma vez que a verdadeira função de deteção não é conhecida, a análise dos dados passa normalmente pelo ajustamento de vários modelos competidores. Estes modelos divergem entre si pelo tipo de análise adotada – CDS ou MCDS – pelo tipo de função chave, pelo tipo de expansão em série e pelo número, de termos de ajustamento considerados na expansão em série. A seleção entre vários modelos competidores foi realizada por métodos de critério de informação, nomeadamente o critério de informação de Akaike (AIC), que é definido da seguinte forma:

$$AIC = -2 \log_e \hat{\mathcal{L}} + 2q$$

em que $\hat{\mathcal{L}}$ é a função de máxima verosimilhança do modelo, e q é o número de parâmetros do modelo (nº de parâmetros da função chave mais número de termos de ajustamento da expansão em série).

O AIC foi calculado para cada modelo competidor, sendo selecionado o modelo com menor valor de AIC. Este critério foi ainda apresentado na forma ΔAIC , que representa a diferença entre o AIC de um modelo e o menor AIC de entre os vários modelos em análise. Seguindo este critério, o melhor modelo terá um ΔAIC igual a 0.

4. RESULTADOS

4.1. Análise Exploratória

Da base de dados original, contendo os registos de mortalidade de todos os grupos de animais, isolaram-se os dados referentes ao grupo dos anfíbios, que foram utilizados no presente trabalho.

No total das campanhas de amostragem foram detetadas 625 carcaças de anfíbios, sendo que 238 foram detetadas na EN 114 e 387 na EN4 (Figura 4.1).

Apesar de os troços EN114B e EN4B terem contabilizado o maior número de carcaças, as maiores taxas de encontro (nº de carcaças/km) foram registadas nos troços EN114A e EN4A.

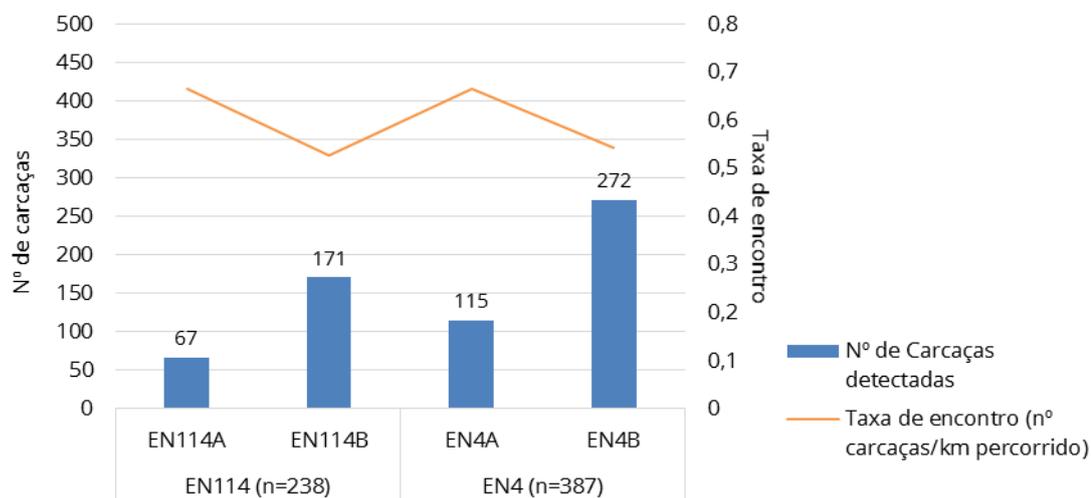


Figura 4.1 – Nº de carcaças detetadas em cada troço de estrada.

Considerando a totalidade dos dados recolhidos no estudo, verifica-se que houve uma maior proporção de carcaças detetadas na faixa F1, verificando-se ainda uma diminuição progressiva do número de carcaças em função da distância (Figura 4.2).

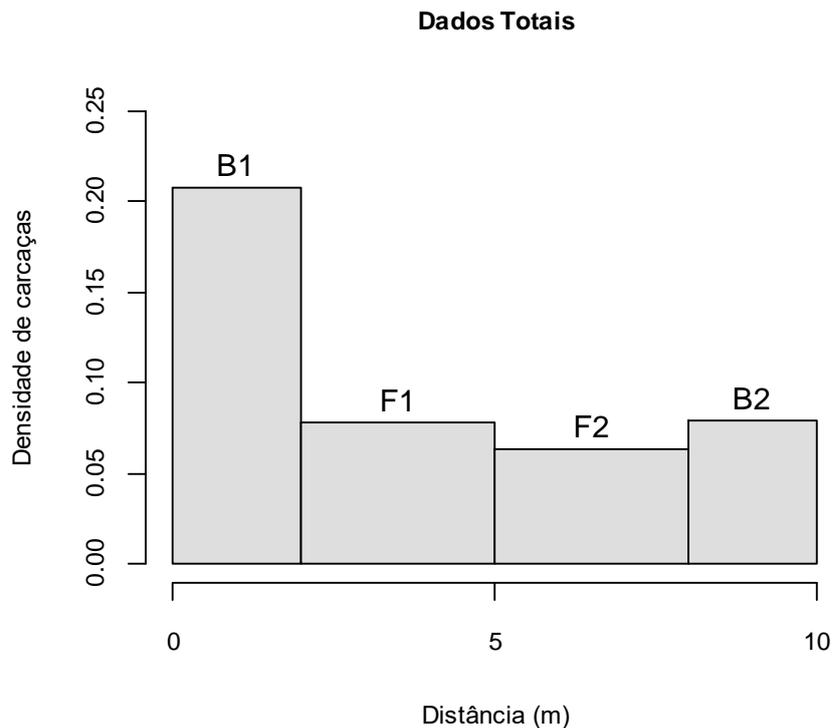


Figura 4.2 – Frequência de carcaças detetadas em função da distância, considerando a totalidade dos dados obtidos no estudo.

Apesar de a análise agregada dos resultados indicar uma diminuição da probabilidade de deteção em função da distância ao observador, observaram-se algumas diferenças na variação da probabilidade de deteção entre os vários troços amostrados (Figura 4.3).

Desta forma, enquanto na estrada EN114 se registou um pico do número de carcaças detetadas na faixa B1, seguido de uma diminuição abrupta para as restantes faixas, na estrada EN4 a variação do número de carcaças detetadas em função da distância foi menos pronunciada (Figura 4.3).

Verificou-se ainda que a elevada densidade de carcaças detetadas na faixa B1 da EN114 decorreu dos resultados obtidos no troço EN114B. Realça-se ainda o facto de em ambos os troços da EN114 a densidade de carcaças em F2 ser superior a F1.

Relativamente à EN4 destaca-se o aumento da densidade de carcaças na faixa B2 relativamente a F2, sendo que esse aumento foi mais pronunciado no troço EN4B onde inclusivamente a densidade de carcaças em B2 foi superior a F1.

As diferenças assinaladas entre as diferentes estradas/troços sugere a necessidade de estratificação dos resultados.

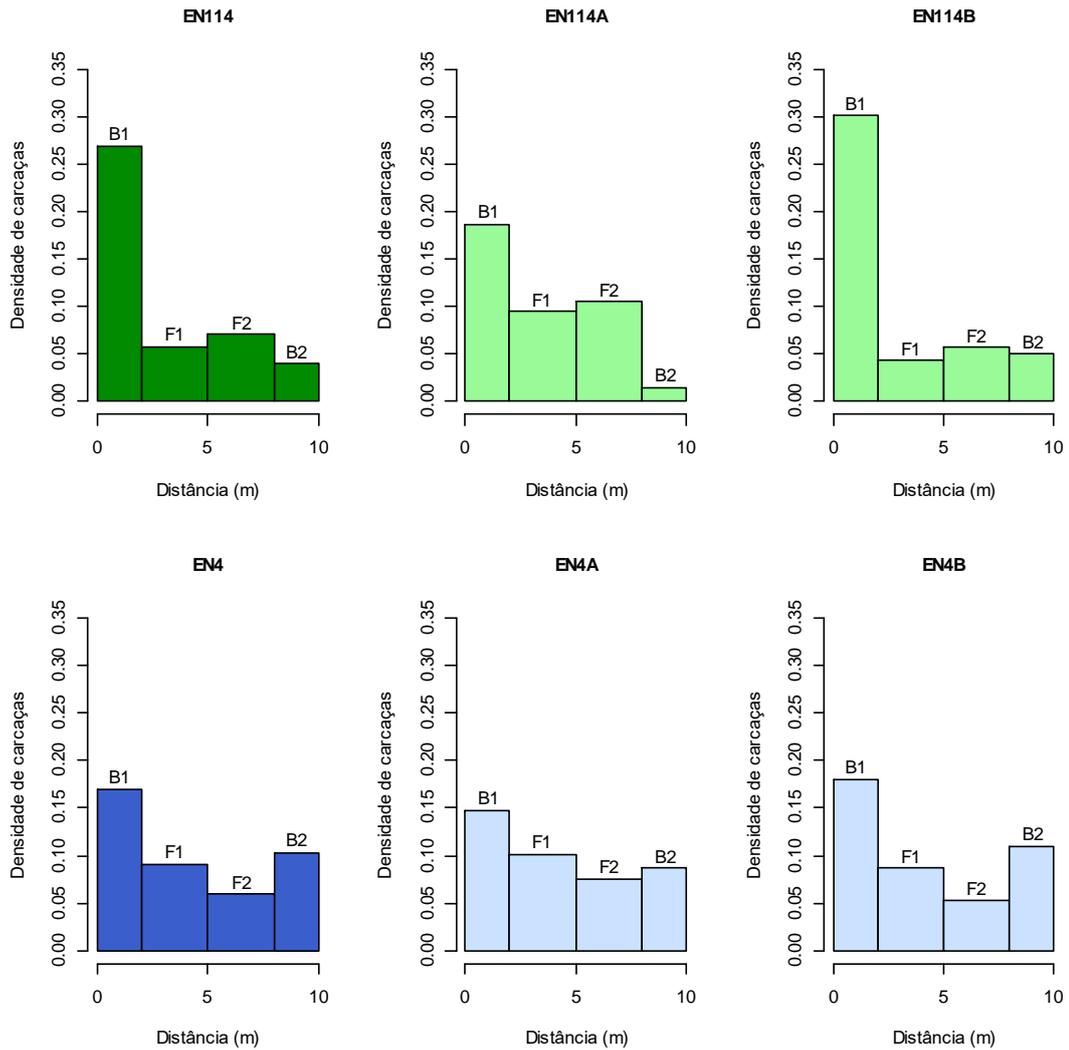


Figura 4.3 – Frequência de carcaças detetadas em função da distância por estradas e troços.

4.2. Amostragem por distâncias convencional

Para estimar a densidade de carcaças de anfíbios foram ajustados 6 modelos CDS, cujos resultados são apresentados na Tabela 4.1. Para a criação destes modelos foram considerados os 625 registos de carcaças obtidos durante o estudo, não se tendo realizado qualquer truncatura dos dados.

Tabela 4.1 - Resultados dos modelos obtidos através da amostragem por distâncias convencional (função chave: HN – *Seminormal*; Uni – *Uniforme*; HR – *Taxa de risco*. Expansão em série: Cos – *Coseno*; HP – *Polinomial de Hermite*; SP – *Polinomial simples*. \hat{D} – Densidade estimada; LCI(\hat{D})– Limite de confiança inferior para a densidade; LCS(\hat{D})– Limite de confiança superior para a densidade; $\widehat{CV}(\hat{D})\%$ – Coeficiente de variação da densidade; \hat{N} – Abundância estimada; LCI(N) - Limite de confiança inferior para a abundância; LCS(N) - Limite de confiança superior para a abundância; ΔAIC – diferença entre o valor de AIC de cada modelo em relação ao menor de AIC obtido; χ^2 – valor observado para a estatística de teste; g.l. – graus de liberdade).

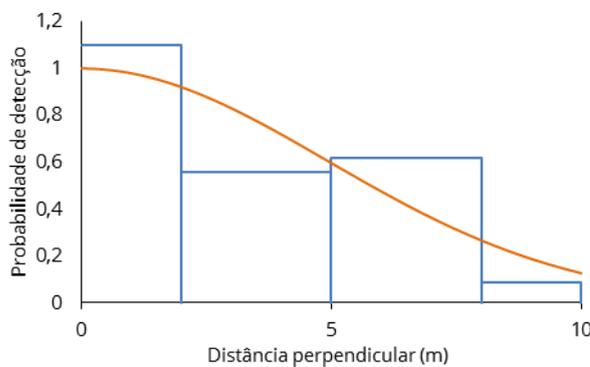
Modelo	Estratificação	Estratos	Função chave	Expansão em série (nº de termos)	Nº Parâmetros	\hat{D}	IC _{95%} (D)		$\widehat{CV}(\hat{D})\%$	\hat{N}	IC _{95%} (N)		ΔAIC	Teste de ajustamento de Qui-quadrado		
							LCI(D)	LCS(D)			LCI(N)	LCS(N)		χ^2	g.l.	Valor-p
CDS 1	Não	-	HN	Cos (1)	2	111,609	94,843	7,7	7,7	1226	1042	1442	36,67	28,855	1	0,000
		-	HN	-	1	79,839	69,949	6,3	6,3	877	768	1015	99,64	97,020	2	0,000
		-	Uni	Cos (2)	2	96,209	82,131	7,4	7,4	1057	902	1238	57,14	48,465	1	0,000
		-	HR	SP (1)	3	139,126	83,334	26,5	26,5	1528	915	2551	31,74	Teste não possível.		
CDS 2	Sim	EN114A	HN	-	7	201,232	21,639	160,7	160,7	2210	238	20552	0,00	6,679	2	0,035
		EN114B	HR	SP (1)										Teste não possível.		
		EN4A	Uni	Cos (1)										2,232	2	0,309
		EN4B	HN	Cos (1)										23,617	1	0,000
CDS 3	Sim	EN114A	HN	-	6	107,683	96,783	5,4	5,4	1183	1063	1316	18,83	6,679	2	0,035
		EN114B	HN	Cos (1)										28,079	1	0,000
		EN4A	Uni	Cos (1)										2,232	2	0,309
		EN4B	HN	Cos (1)										23,617	1	0,000

O modelo estratificado CDS 2 foi o que apresentou menor valor de AIC, verificando-se no entanto que o valor de densidade obtido através deste modelo foi bastante superior aos restantes. Além disso, apresenta uma precisão muito reduzida, como se pode verificar pelo coeficiente de variação da densidade.

Por forma a compreender a origem da elevada variância observada no modelo CDS 2 efetuou-se uma análise detalhada das funções de deteção ajustadas para cada um dos estratos (Figura 4.4; Figura 4.5; Figura 4.6; Figura 4.7), tendo-se verificado que a elevada variância observada deriva essencialmente dos resultados obtidos no troço EN114B.

Entre os vários modelos testados, o que apresentou melhor ajuste para o troço EN114B foi um modelo *taxa de risco* com 1 termo de ajustamento *polinomial simples*. Como se pode observar na Figura 4.5, a função ajustada apresenta um coeficiente de variação muito elevado, resultando num amplo intervalo de confiança para a estimativa da densidade. Este modelo foi o único a apresentar uma redução acentuada da probabilidade de deteção na 1ª classe de distância.

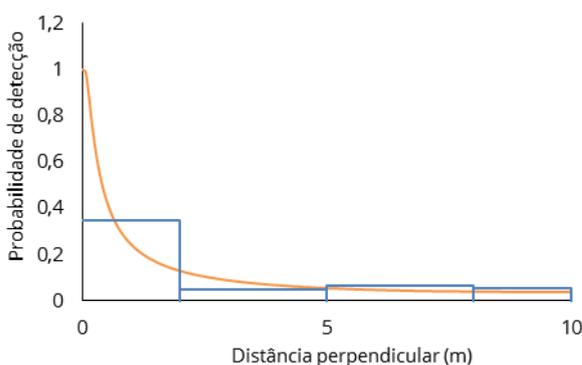
Os modelos ajustados para os restantes troços apresentaram coeficientes de variação reduzidos.



EN 114A (Seminormal/Coseno)

- $\hat{D} = 112,59$
- $\widehat{CV}(\hat{D})\% = 10,91$
- $IC_{95\%}(D) = (90,612; 139,89)$

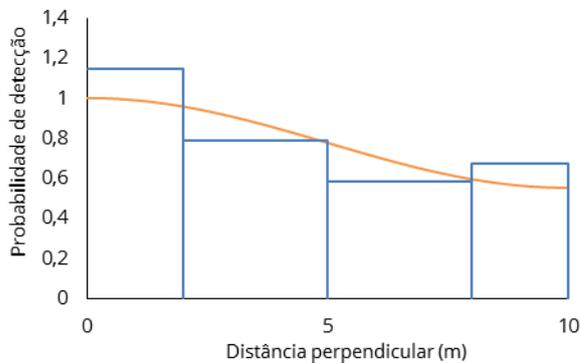
Figura 4.4 – Histograma das distâncias detetadas e função de deteção ajustada para o troço EN114B (\hat{D} = densidade estimada de carcaças, $\widehat{CV}(\hat{D})\%$ = coeficiente de variação, $IC_{95\%}(D)$ = intervalo de confiança a 95% para a densidade de carcaças)



EN 114B (Taxa de risco/Polinomial simples)

- $\hat{D} = 459,75$
- $\widehat{CV}(\hat{D})\% = 238,37$
- $IC_{95\%}(D) = (30,262; 6984,9)$

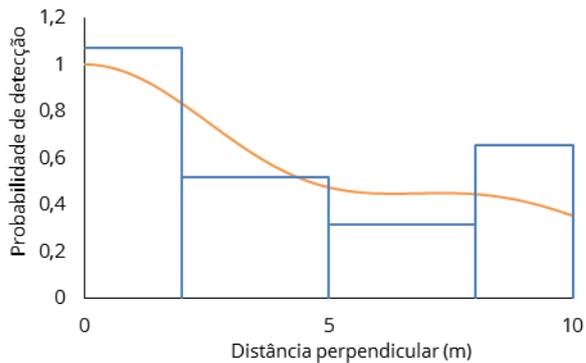
Figura 4.5 - Histograma da probabilidade de detecção e função de detecção para o troço EN114A (\hat{D} = densidade estimada de carcaças, $\widehat{CV}(\hat{D})\%$ = coeficiente de variação, $IC_{95\%}(D)$ = intervalo de confiança a 95% para a densidade de carcaças)



EN 4A (Uniform/Coseno)

- $\hat{D} = 85,934$
- $\widehat{CV}(\hat{D})\% = 10,29$
- $IC_{95\%}(D) = (70,118; 105,32)$

Figura 4.6 - Histograma da probabilidade de detecção e função de detecção para o troço EN4A (\hat{D} = densidade estimada de carcaças, $\widehat{CV}(\hat{D})\%$ = coeficiente de variação, $IC_{95\%}(D)$ = intervalo de confiança a 95% para a densidade de carcaças)



EN 4B (Semi-normal/Coseno)

- $\hat{D} = 91,560$.
- $\widehat{CV}(\hat{D})\% = 9,93$
- $IC_{95\%}(D) = (75,338; 111,28)$.

Figura 4.7 - Histograma da probabilidade de detecção e função de detecção para o troço EN4B (\hat{D} = densidade estimada de carcaças, $\widehat{CV}(\hat{D})\%$ = coeficiente de variação, $IC_{95\%}(D)$ = intervalo de confiança a 95% para a densidade de carcaças)

Uma vez que não é possível no *software* Distance pedir para ajustar outra função de detecção num estrato específico, repetiu-se o processo de ajustamento mas sem a inclusão de modelos *taxa de risco* (modelo CDS 3).

O modelo CDS 3 apresentou um aumento da precisão da densidade estimada ($\widehat{CV}(\hat{D}) = 5,4\%$), que se traduziu no entanto num maior valor de AIC (Tabela 4.1).

Comparativamente com o modelo CDS 2, a única diferença foi a substituição da função chave *taxa de risco* com expansão e série polinomial simples no estrato EN114B por uma função chave *seminormal* com expansão em série coseno.

Como se pode verificar na Figura 4.8, as duas funções de detecção ajustadas para o troço EN114B são bastante distintas, sendo que a função *seminormal* não apresenta o declínio acentuado da

probabilidade de detecção junto à linha central do transecto verificado com a função *taxa de risco*. A comparação entre os dois modelos revela que neste estrato o novo modelo ajustado (seminormal com expansão em série coseno) fornece uma estimativa de densidade mais baixa, e numa precisão bastante superior (Tabela 4.2).

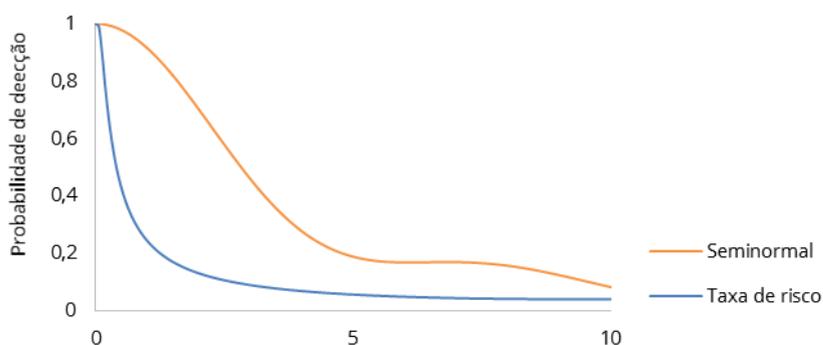


Figura 4.8 - Modelos *Seminormal* e *Taxa de risco* ajustados para o estrato EN114B

Tabela 4.2 – Densidade estimada de carcaças no estrato EN114B, e respetivos coeficiente de variação e intervalo de confiança, obtidos com os modelos *Seminormal* e um termo de ajustamento de uma expansão em série coseno (CDS 3) e taxa de risco com um termo de ajustamento de uma expansão polinomial simples (CDS 2).

		Seminormal (coseno)	Taxa de risco (Polinomial simples)
Densidade estimada		142,66	459,75
Coeficiente de variação (%)		8,85	238,37
Intervalo de confiança a 95% para a densidade	Limite inferior	119,84	30,262
	Limite Superior	169,83	6984,9

4.3. Amostragem por distâncias com múltiplas covariáveis (MCDS)

Ajustaram-se vários modelos MCDS por forma a verificar a existência de covariáveis com influência na detetabilidade.

4.3.1. Análise Exploratória das Covariáveis

4.3.1.1. Covariável Ordem

A inclusão da covariável ordem pretendeu verificar a existência de diferenças na função de detecção entre os dois níveis desta categoria taxonómica (Caudata e Anura). Os indivíduos da ordem Caudata caracterizam-se por possuírem um corpo alongado, com uma cauda relativamente longa, enquanto os pertencentes à ordem Anura caracterizam-se pelo corpo curto, sem cauda. Atendendo a estas diferenças morfológicas, considera-se provável que estas possam exercer alguma influência na função de detecção.

A análise dos histogramas revelou existirem diferenças na detetabilidade de carcaças entre as duas ordens de anfíbios (Figura 4.9). Desta forma, enquanto a ordem Anura registou uma diminuição progressiva da frequência de registos em função da distância, a ordem Caudata apresentou uma diminuição acentuada da frequência de registos entre B1 e F1, destacando-se ainda o aumento da frequência na faixa B2.

O aumento da densidade de carcaças da ordem Caudata entre as faixas F2 e B2 poderá resultar do facto de nas bermas, devido à menor intensidade de trânsito, as carcaças se encontrarem em melhor estado de conservação, aumentando a sua conspicuidade. O mesmo não se passa, contudo, para os indivíduos da ordem Anura, o que deverá resultar do menor comprimento corporal, sendo que neste caso o aumento do número de indivíduos inteiros nas bermas é atenuado pelas dimensões mais reduzidas dos indivíduos, levando a uma diminuição da densidade de carcaças detetadas em B2.

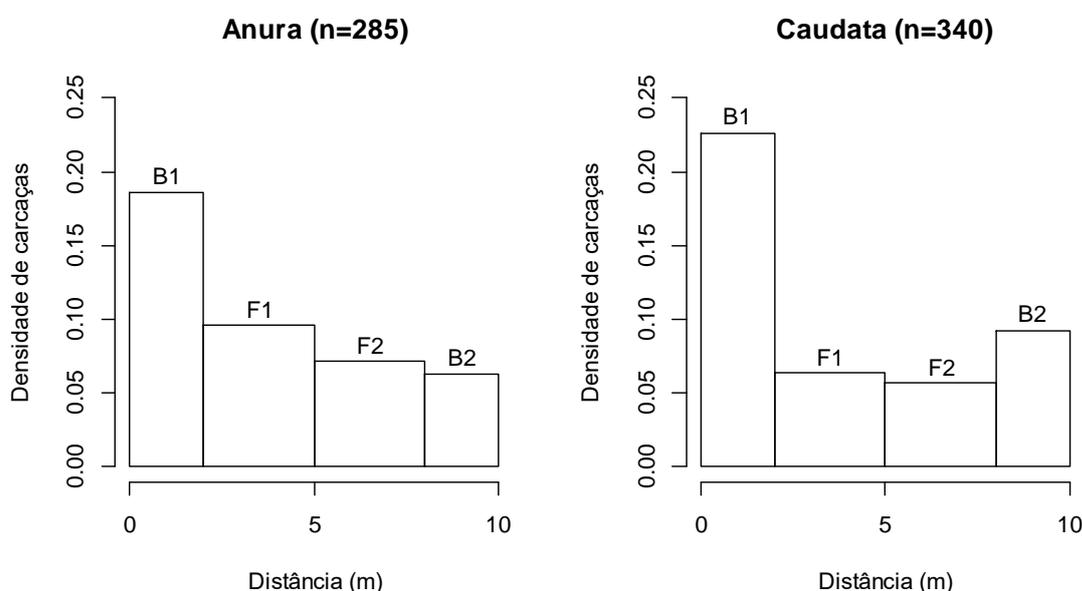


Figura 4.9 - Histogramas da frequência de carcaças das duas ordens de anfíbios, Anura e Caudata.

4.3.1.2. Covariáveis Espécie, Peso e Comprimento

As covariáveis espécie, peso e comprimento encontram-se naturalmente relacionadas, o que torna redundante a sua utilização num mesmo modelo. A inclusão das três covariáveis pretendeu apenas verificar a sua adequabilidade em diferentes modelos MCDS, e verificar se a sua utilização conduz a diferenças relevantes no ajuste dos modelos.

Os resultados permitiram identificar 10 espécies de anfíbios, havendo ainda 2 registos para os quais apenas foi possível atribuir o género (*Hyla* sp.), e 25 registos cuja classificação se restringiu à Ordem (Tabela 4.3). Uma vez que não foi realizada a medição dos parâmetros biométricos no

terreno, os valores de peso e comprimento atribuídos a cada uma das espécies basearam-se em dados bibliográficos.

Analisando o número de carcaças observadas das diferentes espécies destaca-se desde logo o reduzido número de registos das espécies mais pequenas. Com efeito, verificou-se que todas as espécies com comprimento igual ou inferior a 5 cm ocorreram apenas de forma residual.

Por forma a verificar diferenças na detetabilidade das diferentes espécies, criaram-se histogramas com a frequência de deteção das espécies para as quais se detetou um mínimo de 5 carcaças.

Pela análise dos histogramas verifica-se que, de uma forma geral, as espécies da ordem Anura registaram uma diminuição progressiva da frequência de registos em função da distância, não apresentando picos de detetabilidade muito pronunciados na faixa B1 (Figura 4.10).

No que respeita às espécies da ordem Caudata verificou-se uma maior disparidade na frequência de registos em função das distâncias, bem evidenciada pelas discrepâncias observadas entre as espécies *Pleurodeles waltl* e *Salamandra salamandra*, as duas espécies desta ordem que reuniram o maior número de registos. Com efeito, enquanto para a primeira se verificou uma distribuição aproximadamente uniforme das carcaças em função da distância, a segunda evidenciou um pico de mortalidade na faixa B1, seguida de uma diminuição abrupta para B2.

Tabela 4.3 – Ordem, peso e comprimento médios segundo a literatura, e nº de carcaças de todas as espécies detetadas no estudo.

Espécie	Ordem	Peso (g)	Comprimento (cm)	Nº de carcaças
<i>Alytes cisternasii</i>	Anura	4	3,7	2
<i>Anura sp.</i>	Anura	50,3	7,6	24
<i>Bufo bufo</i>	Anura	125	10,5	78
<i>Discoglossus galganoi</i>	Anura	28,5	6,5	37
<i>Epidalea calamita</i>	Anura	22	5,8	23
<i>Hyla meridionalis</i>	Anura	5,4	4,2	3
<i>Hyla sp.</i>	Anura	5	5	2
<i>Pelobates cultripes</i>	Anura	30	7,4	115
<i>Pelodytes punctatus</i>	Anura	4,2	4,5	1
<i>Caudata sp.</i>	Caudata	28,6	14,7	1
<i>Pleurodeles waltl</i>	Caudata	25	11	121
<i>Salamandra salamandra</i>	Caudata	30	16	211
<i>Triturus marmoratus</i>	Caudata	27	14	7

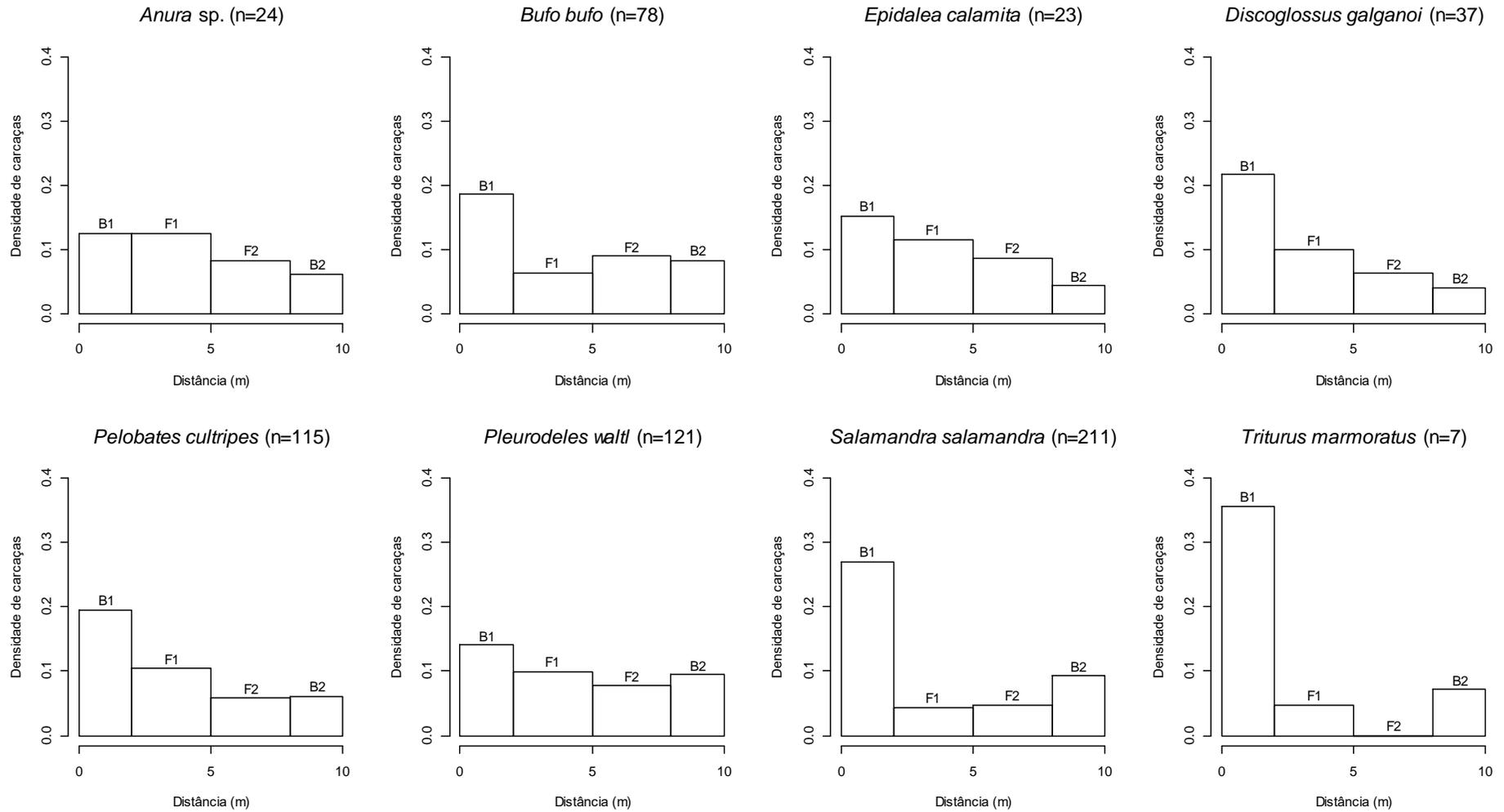


Figura 4.10 – Histogramas com frequência de carcaças de todas as espécies com mais de 5 carcaças detetadas

A média dos pesos das carcaças observadas apresenta uma certa variação ao longo das várias faixas, sendo ligeiramente superior na faixa de rodagem mais afastada do observador (F2) do que nas outras 3 faixas (Figura 4.11).

No que respeita ao comprimento verificou-se que a média dos comprimentos das carcaças detetadas nas bermas (faixas B1 e B2) foi superior ao observado nas faixas centrais (F1 e F2) (Figura 4.12).

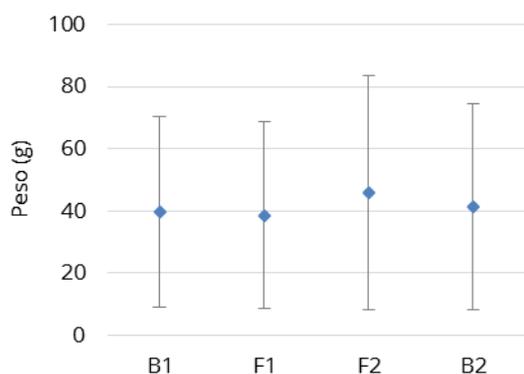


Figura 4.11 – Peso médio (g) e respetivo desvio padrão das carcaças observadas nas diferentes faixas da estrada.

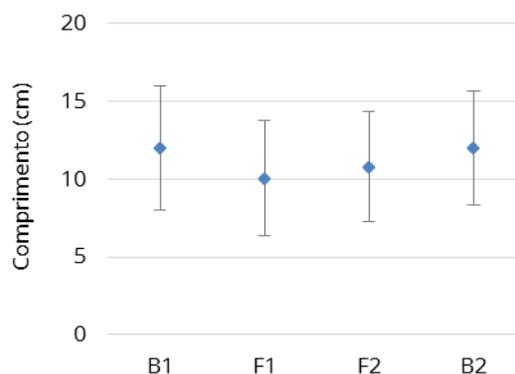


Figura 4.12 – Comprimento médio (cm) e respetivo desvio padrão das carcaças observadas nas diferentes faixas da estrada.

Para além da inclusão das covariáveis peso e comprimento medidas em escala contínua, efetuou-se também a sua inclusão em modelos MCDS na forma de variáveis categóricas, pretendendo-se desta forma avaliar se estas diferenças produzem variações nas estimativas de densidade. A categorização das variáveis peso e comprimento encontra-se representada na Tabela 4.4 e Tabela 4.5.

Tabela 4.4 – Categorias de peso utilizadas na análise MCDS

Categoria	Peso (g)
P1]0; 10]
P2]10; 25]
P3]25; 50]
P4]50; ...[

Tabela 4.5 - Categorias de comprimento utilizadas na análise MCDS

Categoria	Comprimento (cm)
C1]0; 6]
C2]6; 8]
C3]8; 12]
C4]12; ...[

Através da análise dos histogramas construídos para cada uma das categorias de peso das carcaças observadas verifica-se que nas categorias que englobam os indivíduos mais leves (P1, P2 e P3, *i.e.*, peso entre 0 e 50 g) houve uma diminuição progressiva da frequência de deteção de carcaças entre as faixas B1 e F2, seguida por um aumento na deteção na berma mais afastada (B2). Para a categoria que inclui os indivíduos mais pesados (P4, *i.e.*, peso superior a 50g), verificou-se um pico de detetabilidade na faixa B1, seguida por uma distribuição aproximadamente uniforme entre F1 e B2 (Figura 4.13).

No que respeita à covariável comprimento, nas categorias que incluem os indivíduos menores (C1 e C2) verificou-se uma distribuição semelhante da frequência de deteções, tendo-se registado uma diminuição progressiva do número de registos em função da distância ao observador (Figura 4.14). Para as categorias que incluem os indivíduos maiores (C3 e C4, *i.e.*, comprimento superior a 8 cm), verificou-se uma diminuição da frequência de registos entre as faixas B1 e F1 (mais pronunciada na categoria C4), uma distribuição homogénea entre F1 e F2, e um aumento da frequência de registos na berma mais afastada do observador (mais acentuada na categoria C4).

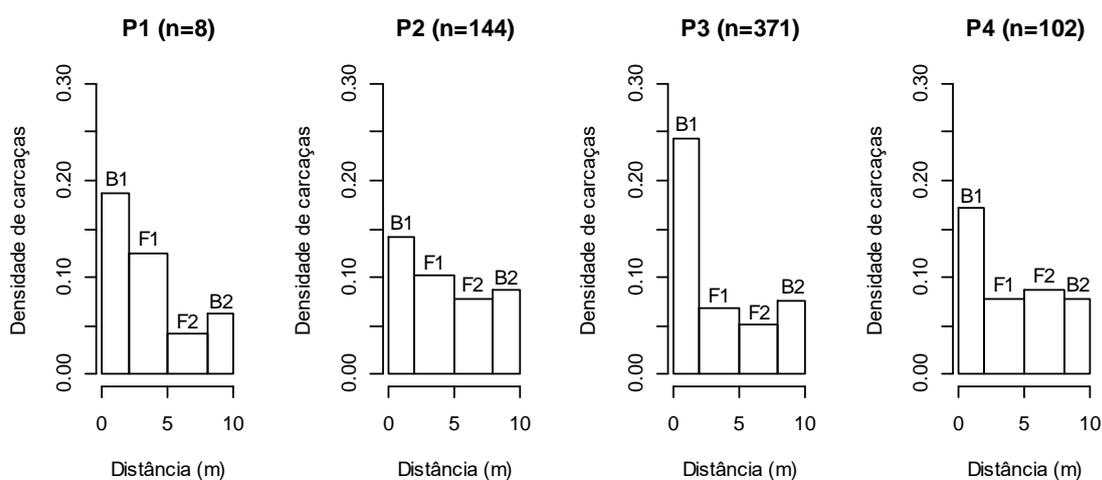


Figura 4.13 – Histogramas dos 4 níveis da covariável peso

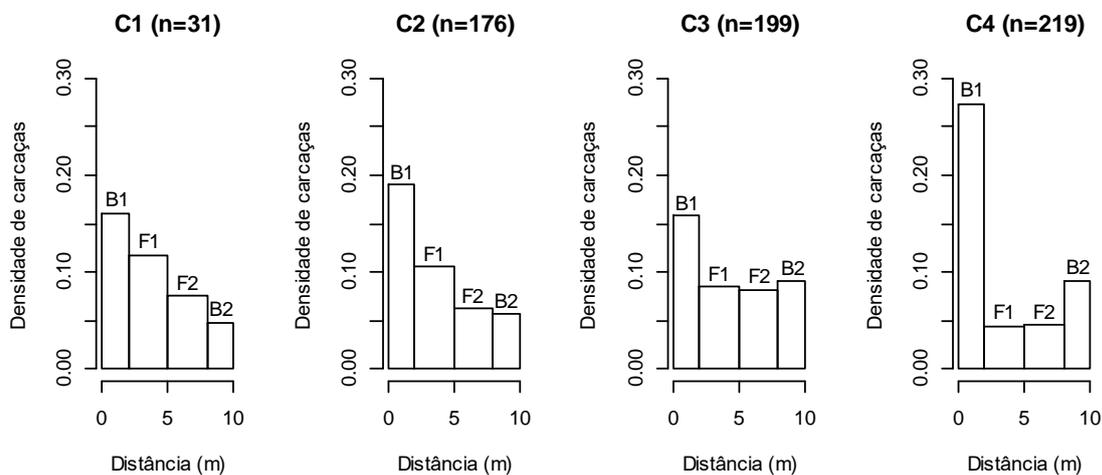


Figura 4.14 – Histogramas dos 4 níveis da covariável comprimento

4.3.1.3. Covariável Estado de Conservação

Relativamente à covariável estado de conservação, verificou-se que as carcaças detetadas de forma intacta ocorreram com maior frequência nas bermas, sendo detetadas nas faixas F1 e F2 apenas de forma residual (Figura 4.15).

As carcaças que, aquando da deteção, se encontravam desintegradas, existindo apenas de forma parcial ou vestígios, ocorreram com maior prevalência na faixa B1, verificando-se uma distribuição aproximadamente uniforme entre F1 e B2.

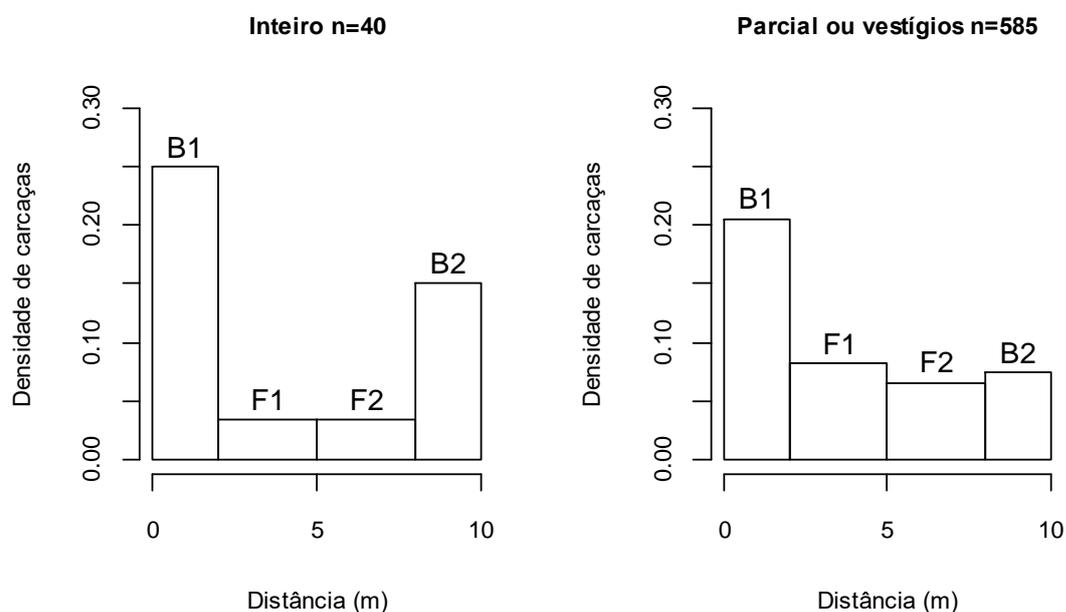


Figura 4.15 - Histogramas para os dois níveis da covariável estado de conservação

4.3.2. Modelos MCDS

Foram ajustados 59 modelos MCDS, dos quais 28 incluíram uma covariável, 24 incluíram duas covariáveis, e 7 foram ajustados com três covariáveis. Os resultados dos modelos são apresentados na Tabela 4.7.

Os modelos com duas covariáveis foram ajustados conjugando a covariável estado de conservação com todas as restantes. Os modelos com três covariáveis resultaram da combinação das covariáveis peso e comprimento (medidas escala contínua e nominal), com a covariável estado de conservação.

Para cada covariável/conjunto de covariáveis foram ajustados quatro modelos, que resultaram da seleção de diferentes funções de deteção com a existência de estratificação. Desta forma, para cada covariável/conjunto de covariáveis foram ajustados 2 modelos *seminormal* (com e

sem estratificação) com expansão em série coseno, e 2 modelos *taxa de risco* (com e sem estratificação) com expansão em série *polinomial simples*.

O número de termos de ajustamento foi selecionado de forma automática pelo *software* Distance 6.0, tendo-se definido um máximo de 2 termos de ajustamento.

De acordo como os resultados verifica-se que o modelo ID 34 foi o que apresentou menor valor de AIC. O modelo ajustado consiste numa função chave *seminormal* sem qualquer expansão em série, inclui as covariáveis espécie e estado de conservação, e considera ainda a estratificação por transecto. Verificou-se, no entanto, que este modelo apresentou uma variância elevada, sendo o modelo com o maior coeficiente de variação. A elevada variância resultou do fraco ajuste do modelo no transecto EN114B, cujo coeficiente de variação foi superior ao dos restantes estratos (Tabela 4.6). Por forma a contornar este problema foi adicionado um termo de ajustamento ao modelo o que, apesar de melhorar a sua precisão ($\widehat{CV}(\widehat{D}) = 6,6\%$), resultou num aumento do valor do AIC (AIC = 775,92).

Tabela 4.6 – Resultados obtidos para os diferentes estratos do modelo ID 34. (D – Densidade; IC_{95%}(D) - Intervalo de confiança a 95% para a densidade; LCI – Limite inferior do intervalo de confiança; LCS – Limite superior do intervalo de confiança; $\widehat{CV}(\widehat{D})\%$ – coeficiente de variação estimado da densidade estimada; \widehat{N} – Abundância estimada; LCI(N) - Limite de confiança inferior para a abundância; LCS(N) - Limite de confiança superior para a abundância)

Estrato	Função chave	\widehat{D}	IC _{95%} (D)		$\widehat{CV}(\widehat{D})$ %	\widehat{N}	IC _{95%} (N)	
			LCI(D)	LCS(D)			LCI(N)	LCS(N)
EN114A	Seminormal	122,98	104,22	145,11	8,28	1351	1145	1594
EN114B	Seminormal	108,76	24,49	483,12	87,66	1194	269	5306
EN4A	Seminormal	102,32	85,27	122,79	9,22	1124	936	1349
EN4B	Seminormal	86,86	80,74	93,452	3,71	954	887	1026

Desta forma optou-se por selecionar o modelo ID 6 como aquele que apresenta melhor relação entre qualidade do modelo e variância das estimativas de densidade. Este modelo ajustado consiste numa função chave *seminormal* sem termos de ajustamento, e inclui a covariável espécie.

A realização de uma análise comparativa dos vários modelos MCDS revelou algumas discrepâncias dos valores estimados de densidade. Verificou-se no entanto que 52 dos modelos ajustados apresentaram estimativas de densidade situadas entre 100 e 130 carcaças /km². Esta estimativa corresponde à densidade média por transecto, e ignora a variação temporal da densidade.

Tabela 4.7 - Modelos MCDS ajustados (HN – Semnormal; HR – Taxa de risco; Expansão em série: Cos – Coseno; HP – Polinomial de Hermite; SP – Polinomial simples; \hat{D} – Densidade estimada; $IC_{95\%}(D)$ - Intervalo de confiança a 95% para a densidade; LCI – Limite inferior do intervalo de confiança; LCS – Limite superior do intervalo de confiança; $\widehat{CV}(\hat{D})\%$ – coeficiente de variação estimado da densidade estimada.)

N.º	Covariável	Função chave	Expansão em série (nº de termos)	Estratificação	Parâmetros	Δ AIC	AIC	\hat{D}	$IC_{95\%}(D)$		$\widehat{CV}(\hat{D})$ %	\hat{N}	$IC_{95\%}(N)$	
									LCI(D)	LCS(D)			LCI(N)	LCS(N)
1	Ordem	HN	cos (1)	Não	3	1264,7	1649,2	129,06	111,63	149,21	5,8	1417	1226	1639
2		HN	-	Sim	11	1238,5	1623,0	127,92	120,12	136,22	3,2	1405	1319	1496
3		HR	-	Não	15	1259,2	1643,7	108,21	77,42	151,26	10,6	1188	850	1661
4		HR	SP (1)	Sim	8	1256,9	1641,4	110,37	76,28	159,69	18,8	1212	838	1754
5	Espécie	HN	cos (1)	Não	10	1270,5	1655,0	129,07	111,64	149,22	5,8	1417	1226	1639
6		HN	-	Sim	35	378,1	762,6	116,74	108,09	126,07	3,9	1282	1187	1385
7		HR	SP (1)	Não	11	1254,3	1638,8	161,91	139,46	187,99	6,7	1778	1532	2065
8		HR	-	Sim	38	927,9	1312,3	111,02	78,47	157,05	17,8	1219	862	1725
9	Peso	HN	cos (1)	Não	3	1264,1	1648,6	129,14	111,70	149,30	5,8	1418	1227	1640
10		HN	-	Sim	11	1235,3	1619,7	128,25	120,02	137,05	3,4	1408	1318	1505
11		HR	SP (1)	Não	4	1275,4	1659,9	109,76	94,30	127,75	6,9	1205	1036	1403
12		HR	-	Sim	15	1256,5	1641,0	106,28	83,33	135,56	12,4	1167	915	1489
13	Comprimento	HN	cos (1)	Não	3	1265,2	1649,7	129,07	111,64	149,22	5,8	1417	1226	1639
14		HN	-	Sim	11	1239,3	1623,8	127,39	119,63	135,66	3,2	1399	1314	1490
15		HR	SP (1)	Não	4	1265,8	1650,3	110,00	90,65	133,50	9,6	1208	996	1466
16		HR	-	Sim	15	1252,9	1637,4	105,59	84,40	132,11	11,4	1160	927	1451
17	Peso categorizado	HN	cos (1)	Não	4	1261,9	1646,4	129,04	111,61	149,18	5,8	1417	1226	1638
18		HN	cos (1)	Sim	8	1253,9	1638,4	128,16	104,07	157,83	6,8	1407	1143	1733
19		HR	SP (1)	Não	5	1257,9	1642,4	112,97	97,58	130,78	6,3	1241	1072	1436
20		HR	-	Sim	18	1303,4	1687,9	93,94	84,17	104,85	5,6	1032	924	1151
21	Comprimento categorizado	HN	cos (1)	Não	5	1262,6	1647,1	129,07	111,65	149,22	5,8	1417	1226	1639
22		HN	-	Sim	18	516,9	901,3	107,15	100,29	114,48	3,4	1177	1101	1257
23		HR	SP (1)	Não	6	1261,4	1645,8	109,12	91,66	129,90	8,5	1198	1007	1427
24		HR	SP (1)	Sim	21	860,1	1244,6	103,40	91,11	117,34	6,4	1136	1001	1289
25	Estado de conservação	HN	cos (1)	Não	3	1263,7	1648,2	129,02	111,59	149,16	5,8	1417	1226	1638
26		HN	-	Sim	10	1280,5	1665,0	106,56	99,94	113,63	3,3	1170	1098	1248

N.º	Covariável	Função chave	Expansão em série (nº de termos)	Estratificação	Parâmetros	Δ AIC	AIC	\hat{D}	IC _{95%} (D)		$\widehat{CV}(\hat{D})$ %	\hat{N}	IC _{95%} (N)	
									LCI(D)	LCS(D)			LCI(N)	LCS(N)
27		HR	SP (1)	Não	3	1263,7	1648,2	129,02	111,59	149,16	5,8	1417	1226	1638
28		HR	-	Sim	10	1280,5	1665,0	106,56	99,94	113,63	3,3	1170	1098	1248
29		HN	cos (1)	Não	4	1265,4	1649,9	129,06	111,63	149,21	5,8	1417	1226	1639
30	Ordem + Estado de conservação	HN	-	Sim	14	1285,5	1670,0	106,79	100,09	113,94	3,3	1173	1099	1251
31		HR	-	Não	4	1311,0	1695,4	103,76	89,70	120,04	6,2	1140	985	1318
32		HR	-	Sim	18	1267,9	1652,3	104,02	84,26	128,42	10,7	1142	925	1410
33	Espécie + Estado de conservação	HN	-	Não	10	1347,5	1732,0	82,08	70,99	94,90	5,8	901	780	1042
34		HN	-	Sim	38	0,0	384,5	99,07	57,07	171,98	28,5	1088	627	1889
35		HR	SP (1)	Não	12	1256,3	1640,8	165,44	142,38	192,23	6,7	1817	1564	2111
36		HR	-	Sim	43	929,6	1314,1	111,34	95,11	130,33	8,0	1223	1045	1431
37	Peso + Estado de conservação	HN	cos (1)	Não	4	1263,7	1648,2	128,95	111,54	149,08	5,8	1416	1225	1637
38		HN	-	Sim	14	1281,7	1666,2	107,12	99,92	114,84	3,5	1176	1097	1261
39		HR	-	Não	4	1310,7	1695,2	103,98	89,84	120,35	6,3	1142	987	1322
40		HR	-	Sim	19	1262,4	1646,8	106,50	83,57	135,70	12,3	1170	918	1490
41	Comprimento + Estado de conservação	HN	cos (1)	Não	4	1265,6	1650,1	129,02	111,60	149,16	5,8	1417	1226	1638
42		HN	-	Sim	14	1285,3	1669,7	106,72	99,98	113,91	3,3	1172	1098	1251
43		HR	-	Não	4	1308,1	1692,6	105,95	90,90	123,50	7,0	1164	998	1356
44		HR	-	Sim	18	1277,9	1662,4	106,68	91,29	124,67	7,9	1172	1003	1369
45	Peso categorizado + Estado de conservação	HN	cos (1)	Não	5	1262,4	1646,9	129,10	111,67	149,25	5,8	1418	1226	1639
46		HN	cos (1)	Sim	10	1256,4	1640,9	128,24	104,14	157,91	6,8	1408	1144	1734
47		HR	SP (1)	Não	6	1259,7	1644,1	113,17	97,75	131,03	6,3	1243	1074	1439
48		HR	-	Sim	22	1297,3	1681,8	95,05	79,99	112,96	8,8	1044	878	1241
49	Comprimento categorizado + Estado de conservação	HN	cos (1)	Não	6	1263,3	1647,8	129,15	111,71	149,31	5,8	1418	1227	1640
50		HN	-	Sim	23	1250,3	1634,8	128,63	120,53	137,27	3,3	1413	1324	1508
51		HR	SP (1)	Não	7	1263,6	1648,1	109,75	92,31	130,49	8,4	1205	1014	1433
52		HR	-	Sim	25	1279,3	1663,8	104,25	92,96	116,91	5,8	1145	1021	1284
53	Peso + Comprimento + Estado de conservação	HN	cos (1)	Não	5	1265,5	1650,0	128,95	111,54	149,08	5,8	1416	1225	1637
54		HN	-	Sim	18	1287,0	1671,5	107,55	100,34	115,27	3,5	1181	1102	1266
55		HR	SP (1)	Não	6	1264,1	1648,5	115,22	97,53	136,13	8,0	1265	1071	1495

N.º	Covariável	Função chave	Expansão em série (nº de termos)	Estratificação	Parâmetros	Δ AIC	AIC	\hat{D}	IC _{95%} (D)		$\widehat{CV}(\hat{D})$ %	\hat{N}	IC _{95%} (N)	
									LCI(D)	LCS(D)			LCI(N)	LCS(N)
56		HR	SP (1)	Sim	23	1290,4	1674,9	108,91	94,05	126,11	7,5	1196	1033	1385
57	Peso categorizado + Comprimento categorizado + Estado de conservação	HN	cos (1)	Não	8	1266,6	1651,1	129,15	111,72	149,31	5,8	1418	1227	1640
58		HR	SP (1)	Não	9	1250,4	1634,9	166,05	142,91	192,95	6,7	1824	1569	2119
59		HR	SP (1)	Sim	34	1289,1	1673,5	115,86	105,13	127,69	4,9	1272	1155	1402

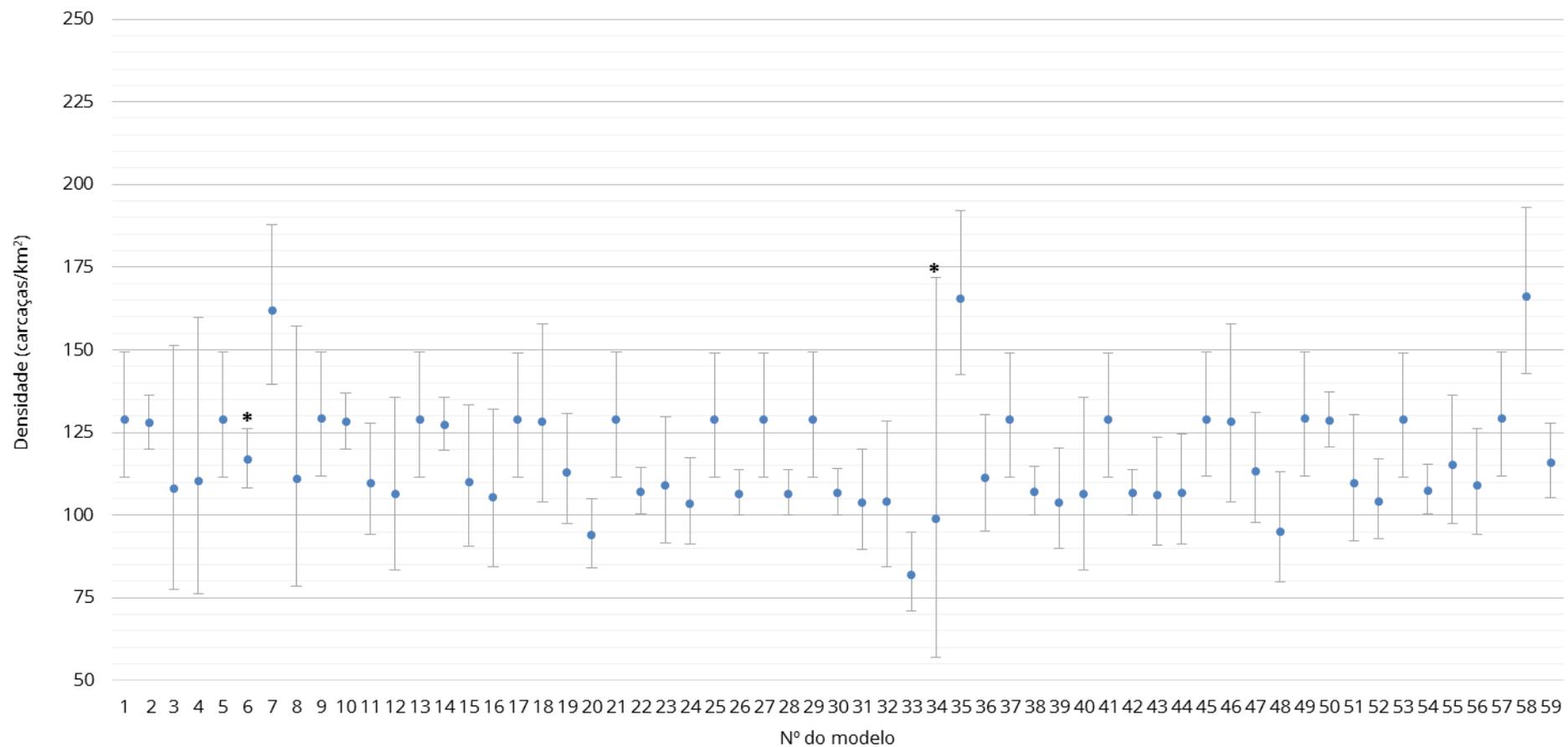


Figura 4.16 – Densidade estimada de carcaças (com intervalo de confiança a 95%) com os vários modelos MCDS ajustados.

4.4. Comparação dos Melhores Modelos CDS e MCDS

Efetuuou-se uma análise comparativa entre os diferentes modelos ajustados (CDS e MCDS), tendo-se analisado de forma conjunta os resultados obtidos para os melhores modelos (Tabela 4.8).

O modelo MCDS apresentou um valor de AIC bastante inferior ao obtido pelo modelo CDS, indicativo de melhor qualidade do modelo uma vez que o critério AIC penaliza os modelos com maior número de parâmetros.

O modelo MCDS foi o que forneceu uma estimativa de densidade de carcaças mais precisa, que também se traduziu numa menor amplitude do intervalo de confiança, tendo-se obtido uma estimativa de densidade inferior à dada pelo modelo CDS.

Em ambos os modelos se observaram diferenças na probabilidade de deteção entre os diferentes estratos, sendo que em ambos os casos o estrato EN114B apresentou a menor probabilidade de deteção estimada, enquanto a maior probabilidade de deteção estimada foi obtida no estrato EN4A.

Tabela 4.8 – Análise comparativa dos melhores modelos CDS e MCDS (HN – *Seminormal*; Uni – *Uniforme*; Expansão em série: Cos – *Coseno*; HP – *Polinomial de Hermite*; SP – *Polinomial simples*; \hat{P}_a – Probabilidade de detecção estimada; \hat{D} – Densidade estimada; LCI – Limite inferior do intervalo de confiança da densidade; LCS – Limite superior do intervalo de confiança da densidade; $\widehat{CV}(\hat{D})\%$ – coeficiente de variação da densidade; \hat{N} – Abundância estimada; LCI(N) - Limite de confiança inferior para a abundância; LCS(N) - Limite de confiança superior para a abundância; Entre parênteses – nº de termos de ajustamento).

Modelo	Estratificação	Estrato	Covariáveis	Função chave	Expansão em série (nº de termos)	\hat{P}_a	Nº de parâmetros	\hat{D}	IC _{95%} (D)		$\widehat{CV}(\hat{D})\%$	\hat{N}	IC _{95%} (N)		AIC	Teste de ajustamento de Qui-quadrado		
									LCI(D)	LCS(D)			LCI(N)	LCS(N)		χ^2	g.l.	Valor-p
CDS	Sim	EN114A	-	HN	-	0,590	6	107,68	96,78	119,81	5,4	1183	1063	1316	1656,4	6,679	2	0,035
		EN114B		HN	Cos (1)	0,370										28,079	1	0,000
		EN4A		Uni	Cos (1)	0,776										2,232	2	0,309
		EN4B		HN	Cos (1)	0,593										23,617	1	0,000
MCDS	Sim	EN114A	Espécie	HN	-	0,540	35	116,74	108,09	126,07	3,9	1282	1187	1385	762,6	Teste não possível.		
		EN114B		HN	Cos (1)	0,313												
		EN4A		HN	-	0,653												
		EN4B		HN	-	0,625												

5. DISCUSSÃO

Este trabalho demonstrou a adequabilidade da utilização dos métodos de amostragem por distâncias para estimar densidade de carcaças de anfíbios em estradas levantando, no entanto, algumas questões relativas ao cumprimento dos pressupostos.

A análise dos resultados globais da mortalidade demonstrou uma diminuição da probabilidade de detecção com o aumento da distância à linha central do transecto, o que constitui o princípio fundamental dos métodos de amostragem por distâncias por transectos lineares.

O ajuste de modelos CDS revelou-se eficaz na modelação de função de detecção global, verificando-se no entanto uma melhoria dos modelos após a estratificação dos dados por transecto, *i.e.*, troço de estrada.

Considera-se que a estratificação geográfica de mortalidade de anfíbios é particularmente relevante, uma vez que os diferentes estratos poderão apresentar funções de detecção distintas. Estas diferenças poderão ter origem em particularidades ecológicas das diferentes espécies, nomeadamente a preferência por determinados tipos de habitat, que podem influenciar a distribuição das carcaças nos diferentes estratos.

A inclusão de covariáveis nos modelos (MCDS) revelou-se uma melhor estratégia com a obtenção de menores valores de AIC e maior precisão nas estimativas de densidade. Tal como verificado para a abordagem CDS, o melhor modelo MCDS ajustado considera a estratificação por transecto.

Os modelos MCDS que apresentaram menor AIC incluíram as covariáveis espécie e estado de conservação sendo que estes resultados, considerando a variabilidade das frequências de detecção das diversas espécies, eram espectáveis.

Relativamente à covariável espécie, verificou-se uma grande heterogeneidade nas frequências de detecção das diferentes espécies, havendo espécies com picos evidentes de frequência de detecção junto ao transecto (e.g. *Salamandra salamandra*), e outras com distribuição aproximadamente uniforme em função da distância (e.g. *Pleurodeles waltl*). Na origem desta heterogeneidade poderão estar diversos fatores, nomeadamente os relacionados com a morfologia das espécies, como o tamanho ou a cor, que poderão influenciar as probabilidades de detecção. Verificou-se com efeito que as quatro espécies de maior dimensão (*Bufo bufo*, *Pleurodeles waltl*, *Salamandra salamandra* e *Triturus marmoratus*) registaram um aumento da

frequência de deteção na berma oposta ao transecto, o que ilustra a influência desta covariável na função de deteção.

No que respeita à covariável estado de conservação verificaram-se diferenças assinaláveis nas funções de deteção entre as carcaças inteiras e as detetadas de forma parcial ou vestígios. Esta heterogeneidade das funções de deteção surge do facto de as carcaças inteiras surgirem com maior frequência nas bermas, uma vez que nestes locais há menor intensidade de tráfego. Desta forma, a menor probabilidade de deteção de carcaças inteiras nas faixas F1 e F2 não está relacionada com a variação da probabilidade de deteção em função da distância à linha central do transecto, mas sim com o facto de elas raramente ocorrerem nesses locais. Este comportamento da distribuição das distâncias das carcaças inteiras detetadas torna difícil o ajuste de um modelo, uma vez que a função de deteção deve ser decrescente.

As restantes covariáveis analisadas (ordem, peso e comprimento) encontram-se naturalmente relacionadas com a covariável espécie, tornando redundante a sua utilização simultânea. Relativamente à covariável peso, não se verificaram grandes diferenças entre a sua utilização como variável contínua e categórica, tendo-se obtido resultados idênticos de ambas as formas. Quanto à covariável comprimento, obtiveram-se melhores resultados com a utilização da covariável na forma categórica, particularmente com a utilização de modelos *seminormal* e *taxa de risco* estratificados, cujos valores de AIC foram inferiores aos obtidos para os mesmos modelos com a covariável medida em escala contínua.

Apesar de os resultados demonstrarem a adequação dos métodos de amostragem por distâncias indicarem a sua aplicabilidade na estimação da densidade de carcaças em estradas, verificaram-se alguns constrangimentos metodológicos que limitaram uma avaliação mais aprofundada do tema.

Desde logo se salienta que o protocolo metodológico de recolha de dados não contemplou a posterior aplicação de métodos de amostragem por distâncias, limitando desta forma a sua utilização. A utilização de intervalos de distâncias, ao invés de distâncias exatas, impediu a avaliação da qualidade do ajuste dos modelos quer por gráficos *qqplot* quer pelos testes de bondade de ajustamento Kolmogorov-Smirnov e Cramér-von Mises. Por outro lado, a realização do teste de bondade de ajustamento de χ^2 ficou restrita aos modelos com no máximo dois parâmetros estimados uma vez que só existiam quatro intervalos de distâncias. Verificou-se no entanto que os melhores modelos ultrapassaram este limite de parâmetros, impedindo a utilização do teste χ^2 .

A aplicação dos métodos de amostragem por distâncias requer o cumprimento de quatro pressupostos teóricos, dos quais um está relacionado com o delineamento experimental, e três se relacionam com a utilização dos modelos.

Os pressupostos dos modelos indicam que a probabilidade de deteção na linha central do transecto é igual a 1, as distâncias são medidas de forma exata e os objetos são localizados na posição inicial. No que respeita aos dois últimos pressupostos assume-se que, uma vez que se trata de prospeção de carcaças, o seu cumprimento está naturalmente garantido. Relativamente à probabilidade certa da deteção de carcaças na linha central do transecto, considera-se que a realização de transectos de automóvel, mesmo que a baixa velocidade, poderá violar o seu cumprimento. Com efeito, vários estudos concluíram existir uma menor probabilidade de deteção de carcaças através de realização de transectos de automóvel comparativamente com a realização de transectos pedestres (Slater, 2002; Langen, et al., 2007), o que poderá resultar na não deteção de carcaças sobre a linha central do transecto e, conseqüentemente, numa probabilidade de deteção sobre a linha inferior a 1 ($g(0) < 1$). Esta menor detetabilidade poderá ter origem na maior velocidade a que são realizados de automóvel uma vez que, mesmo a baixa velocidade, o tempo de prospeção é inferior ao disponível em transectos pedestres, podendo levar a que mais carcaças (particularmente as de menor porte) passem despercebidas ao observador. Para além disso, a realização de transectos de automóvel interfere com a visibilidade sobre o troço de estrada, o que poderá também afetar a probabilidade de deteção sobre a linha central do transecto.

6. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram uma diminuição da probabilidade de deteção de carcaças de anfíbios em função da distância à linha central do transecto percorrido pelo observador, indicando a adequabilidade dos dados à utilização dos métodos de amostragem por distâncias.

Os resultados revelaram uma elevada variabilidade das funções de deteção das diferentes espécies, o que pode resultar num enviesamento das estimativas calculadas através de modelos que não consideram como covariável a espécie. O ajuste de modelos com covariáveis (MCDS) mostrou ser mais eficaz na modelação da heterogeneidade da função de deteção ignorada nos modelos sem covariáveis (CDS).

7. PROPOSTAS DE TRABALHO

A realização de transectos de automóvel resulta numa menor probabilidade de deteção de carcaças sobre a linha central do transecto comparativamente com a realização de transectos pedestres, o que representa uma limitação à aplicação dos métodos de amostragem por distâncias, que determinam que todos os objetos presentes na linha central do transecto têm que ser detetados, ou seja $g(0) = 1$. Desta forma, considera-se que em trabalhos futuros deverão ser realizados transectos pedestres de controlo, por forma a quantificar a proporção de carcaças não detetadas pelos transectos de automóvel, e conseqüentemente estimar $g(0)$. Esta probabilidade de deteção deverá ser incorporada na estimação da densidade, permitindo desta forma verificar a influência do modo de prospeção de carcaças sobre as estimativas de densidade.

Em trabalhos futuros deverão ser recolhidas as distâncias exatas das carcaças detetadas., o que poderá esclarecer algumas questões relativas à probabilidade de deteção (e.g. será que existe um aumento da probabilidade de deteção junto à faixa central, uma vez que neste local há menor intensidade de tráfego e, conseqüentemente, as carcaças mantêm a sua integridade durante mais tempo, sendo mais facilmente detetadas?). Para além disso, a utilização de distâncias exatas permitirá aplicar outros testes de ajustamento para avaliar a qualidade dos modelos ajustados, contribuindo para uma melhor compreensão da adequabilidade dos métodos de amostragem por distâncias.

A idade dos indivíduos atropelados é um fator passível de influenciar a probabilidade de deteção das carcaças. Para uma mesma espécie indivíduos de diferentes idades podem apresentar peso e comprimento muito distintos, influenciando desta forma a probabilidade de deteção. Desta forma a idade dos indivíduos deverá também ser incorporada nos modelos na forma de covariável.

A probabilidade de deteção de carcaças pode ainda ser influenciada pelo técnico responsável pelo trabalho de prospeção, uma vez que diferentes técnicos poderão variar no que respeita à experiência na realização do trabalho, acuidade visual, etc. O técnico responsável pela realização da prospeção deverá também ser incluído no modelo na forma de covariável.

Por último, as estimativas de densidade e abundância obtidas pela amostragem por distâncias deverão ser corrigidas para a remoção de carcaças entre o momento da morte e a prospeção, por forma a obter as estimativas de densidade e abundância reais. Para o efeito, deverão ser calculadas as probabilidades de remoção das carcaças, o que pode ser efetuado através de

testes de remoção nos quais um número determinado de carcaças são colocadas nas estradas e, através de visitas regulares aos locais onde estas foram colocadas, é calculado o tempo que demoram a ser removidas. Alternativamente poderá ser seguida a metodologia adotada por Santos et al. (2011), que utilizou as próprias carcaças detetadas no decorrer dos trabalhos de prospeção para calcular o tempo que estas demoravam a ser removidas. Segundo este protocolo, após a deteção das carcaças a sua posição é assinalada com GPS, e as carcaças são deixadas na sua posição inicial. Através de um esquema de visitas diárias, a posição das carcaças anteriormente encontradas é visitada até que estas sejam removidas. Após a estimação das probabilidades de deteção, estas podem ser incorporadas diretamente no software Distance na forma de multiplicadores na definição das propriedades do modelo.

8. BIBLIOGRAFIA

- Beebee, T. J. (2013). Effects of Road Mortality and Mitigation Measures on Amphibian Populations. *Conservation Biology*, 27(4), pp. 657-668.
- Bernardino, J., Bispo, R., Costa, H., & Mascarenhas, M. (2013). Estimating bird and bat fatality at wind farms : a practical overview of estimators , their assumptions and limitations. *New Zealand Journal of Zoology*, 40, pp. 37-41.
- Bruinderink, G., & Hazebroek, E. (1996). Ungulate Traffic Collisions in Europe. *Conservation Biology*, 10(4), pp. 1059-1067.
- Buckland, S. T., Anderson, D. R., Burnham, K. P., Laake, J. L., Borchers, D. L., & Thomas, L. (2001). *Introduction to Distance Sampling: Estimating Abundance of Biological Populations*. Oxford: Oxford University Press.
- Buckland, S. T., Rexstad, E. A., Marques, T. A., & Oedekoven, C. S. (2015). *Distance Sampling: Methods and Applications*. Springer.
- Buckland, S. T., Anderson, D. R., Burnham, K. P., & Laake, J. L. (1993). *Distance Sampling: Estimating Abundance of Biological Populations*. London: Chapman and Hall.
- Buckland, S. T., Anderson, D. R., Burnham, K. P., Laake, J. L., Borchers, D. L., & Thomas, L. (2004). *Advanced Distance Sampling*. Oxford: Oxford University Press.
- Coffin, A. W. (2007). From roadkill to road ecology: A review of the ecological effects of roads. *Journal of Transport Geography*, pp. 396-406.
- Collinson, W. J., Parker, D. M., Bernard, R. T., Reilly, B. K., & Davies-Mostert, H. T. (2014). Wildlife road traffic accidents: a standardized protocol for counting flattened fauna. *Ecology and evolution*, 4(15), pp. 3060-71.
- Elzanowski, A., Ciesiołkiewicz, J., Kaczor, M., Radwańska, J., & Urban, R. (2009). Amphibian road mortality in Europe: A meta-analysis with new data from Poland. *European Journal of Wildlife Research*, 55(1), pp. 33-43.
- Erickson, W., Strickland, M., Johnson, G., & Kern, J. (2000). Examples of statistical methods to assess risk of impacts to birds from wind plants.
- Erritzoe, J., Mazgajski, T., & Rejt, Ł. (2003). Bird Casualties on European Roads — A Review. *Acta Ornithologica*, 38(2), pp. 77-93.
- Erritzoe, J., Mazgajski, T., & Rejt, Ł. (2003). Bird Casualties on European Roads — A Review. *Acta Ornithologica*, 38(2), pp. 77-93.
- Forman, R. T. (1998). Road ecology: A solution for the giant embracing us. *Landscape Ecology*, 13(4).
- Forman, R. T. (2003). *Road ecology: science and solutions*. Island Press.
- Gibbs, J., & Shriver, W. (2005). Can road mortality limit populations of pool-breeding amphibians? *Wetlands Ecology and Management*, 13(3), pp. 281-289.

- Guinard, É., Julliard, R., & Barbraud, C. (2012). Motorways and bird traffic casualties: Carcasses surveys and scavenging bias. *Biological Conservation*, 147(1), pp. 40-51.
- Hels, T., & Buchwald, E. (2001). The effect of road kills on amphibian populations. *Biological Conservation*, 99(3), p. 99.
- Hobday, A., & Minstrell, M. (2008). Distribution and abundance of roadkill on Tasmanian highways: Human management options. *Wildlife Research*, 35(7), pp. 712-726.
- Huso, M. (2011). An estimator of wildlife fatality from observed carcasses. *Environmetrics*, 22(3), pp. 318-329.
- ICNF. (2009). *Recomendações para Planos de Monitorização de Parque Eólicos*. ICNF. Obtido em 7 de 01 de 2016, de <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/patrinatur/resource/docs/Mam/morc/morc-recom-p-eolic>
- Jain, A., Kerlinger, P., Curry, R., & Slobodnik, L. (2007). *Annual Report for the Maple Ridge Wind Power Project Postconstruction Bird and Bat Fatality Study - 2006. Final Report*. Curry & Kerlinger.
- Kerns, J., Erickson, W., & Arnett, E. (2005). Bat and bird fatality at wind energy facilities in Pennsylvania and West Virginia. Em E. Arnett, *Relationships between bats and wind turbines in Pennsylvania and West Virginia: an assessment of bat fatality search protocols, patterns of fatality, and behavioural interactions with wind turbines. Final report submitted to the Bats and Wind Energy Coope* (pp. 24 - 95). Austin, TX: Bat Conservation International.
- Korner-Nievergelt, F., Korner-Nievergelt, P., Behr, O., Niermann, I., Brinkmann, R., & Hellriegel, B. (2011). A new method to determine bird and bat fatality at wind energy turbines from carcass searches. *Wildlife Biology*, 17(4), pp. 350-363.
- Laake, J., Buckland, S., & Anderson, D. (1993). *DISTANCE Users' Guide V2.0*. Fort Collins, CO: Colorado Cooperative Fish and Wildlife Research Unit, Colorado State.
- Langen, T., Machniak, A., Crowe, E., Mangan, C., Marker, D., Liddle, N., & Roden, B. (2007). Methodologies for Surveying Herpetofauna Mortality on Rural Highways. *Journal of Wildlife Management*, 71(4), pp. 1361-1368.
- Langen, T., Ogden, K., & Swarting, L. (2009). Predicting hot spots of herpetofauna road mortality along highway networks. *Journal of Wildlife Management*, 73(1), pp. 104-114.
- Lesiński, G. (2007). Bat road casualties and factors determining their number. *Mammalia*, 71(3), pp. 138-142.
- Loureiro, A., Ferrand de Almeida, N., Carretero, M. A., & Paulo, O. S. (2008). *Atlas dos anfíbios e répteis de Portugal* (1ª edição ed.). Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade.
- Marques, T. A., Thomas, L., Fancy, S. G., & Buckland, S. T. (2007). Improving estimates of bird density using multiple-covariate distance sampling. *The Auk*, 124(4), p. 1229.

- Mathai, J., Jathanna, D., & Duckworth, J. W. (2013). How useful are transect surveys for studying carnivores in the tropical rainforests of Borneo. *Raffles Bulletin of Zoology, Supplement*, pp. 9-20.
- Matos, C., Sillero, N., & Argaña, E. (2012). Spatial analysis of amphibian road mortality levels in northern Portugal country roads. *Amphibia-Reptilia*, 33(3-4), pp. 469-483.
- Miller, D. (2013). Distance: a Simple Way to Fit Detection Functions to Distance Sampling Data and Calculate Abundance/Density for Biological Populations. *R package version 0.7.3*.
- Muñoz, P., Torres, F., & Megías, A. (2015). Effects of roads on insects: a review. *Biodiversity and Conservation*, 24(3), pp. 659-682.
- Puky, M. (2005). Amphibian road kills: a global perspective. *Road Ecology Center*.
- Santos, S., Carvalho, F., & Mira, A. (2011). How long do the dead survive on the road? Carcass persistence probability and implications for road-kill monitoring surveys. *PLoS one*, 6(9), p. e25383.
- Shoenfeld, P. (2004). Suggestions regarding Avian Mortality Extrapolation.
- Slater, F. (2002). An assessment of wildlife road casualties - The potential discrepancy between numbers counted and numbers killed. *Web Ecology*, 3, pp. 33-42.
- Stuart, S. (2004). Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science*, 306(5702), pp. 1783-1786.
- Teixeira, F. Z., Coelho, A. V., Esperandio, I. B., & Kindel, A. (2013). Vertebrate road mortality estimates: Effects of sampling methods and carcass removal. *Biological Conservation*, 157, pp. 317-323.
- Thomas, L., Buckland, S., Rexstad, E., Laake, J., Strindberg, S., Hedley, S., . . . Burnham, K. (2010). Distance software: design and analysis of distance sampling surveys for estimating population size. *Journal of Applied Ecology*, pp. 5-14.
- Trombulak, S., & Frissell, C. (2000). Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conservation biology*, 14(1), pp. 18-30.
- van der Ree, R., Grilo, C., & Smith, D. (2015). *Handbook of Road Ecology*. John Wiley & Sons.
- Williams, B. K., Nichols, J. D., & Conroy, M. J. (2002). *Analysis and management of animal populations*. Academic Press.