



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado em Biologia da Conservação**

Dissertação

**Importância de habitats naturais remanescentes do biótopo  
Montado para a conservação de anfíbios.**

Cláudia Sofia dos Reis Santos Lima

Orientador(es) | Paulo Sá-Sousa

Erika Almeida

Évora 2023





**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado em Biologia da Conservação**

Dissertação

**Importância de habitats naturais remanescentes do biótopo  
Montado para a conservação de anfíbios.**

Cláudia Sofia dos Reis Santos Lima

Orientador(es) | Paulo Sá-Sousa  
Erika Almeida

Évora 2023





A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Carla Pinto Cruz (Universidade de Évora)

Vogais | João Eduardo Rabaça (Universidade de Évora) (Arguente)  
Paulo Sá-Sousa (Universidade de Évora) (Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador e professor Paulo Sá sousa, obrigada pela primeira introdução ao fabuloso mundo destes animais que se tornaram nos meus favoritos e toda a ajuda com a minha dissertação.

À minha co-orientadora Erika Almeida obrigada por tudo, desde as sugestões deste trabalho até aos conselhos para trabalhar nesta área, pela companhia e apoio em todas as saídas de campo e toda a ajuda na escrita.

Ao André Oliveira e o Marco Maia um obrigada pela introdução à identificação dos anfíbios adultos e pela companhia nas saídas de campo, e além da identificação de anfíbios alguns répteis à mistura.

Um muito obrigada à Paula Matono pela grande ajuda com a estatística.

Obrigada à minha família por todo o apoio durante estes anos e apoiarem estudar o que gosto e onde queria. Um beijo enorme aos meu pais e ao meu irmão por manterem a minha sanidade intacta durante a escrita da dissertação. Um beijinho especial à minha irmã que mesmo de longe não me deixou de apoiar e aconselhar.

Ao meu namorado Pepper, um grande obrigado por todo o apoio emocional, sugestões e carinho durante este ano e meio.

## **Resumo:**

O montado é um agro-sistema com grande importância cultural e de elevada biodiversidade. Este agro-sistema apresenta habitats naturais remanescentes, locais de extrema relevância para a biodiversidade. Este trabalho teve como objetivo mostrar a importância destes habitats na comunidade de anfíbios do montado. Deste modo, foram identificadas em campo e com recurso a sistema de informação geográfica 267 manchas de vegetação pertencentes a charcos/as, galerias ripícolas, manchas de matos, bosquetes e afloramentos rochosos. As amostragens de anfíbios foram realizadas em noites de chuva e consistiram em percorrer transetos a pé de forma a identificar as espécies e quais os micro-habitats onde se encontravam. Foram identificados 796 indivíduos de dez espécies. Ficou demonstrado, a importância dos habitats aquáticos nos anfíbios, mas ficou por comprovar a importância dos habitats terrestres. Os anfíbios respondem melhor à escala dos micro-habitats e cada espécie apresenta um conjunto específico de variáveis diferentes.

**Palavras-chave:** Espécies Ibéricas, Zonas húmidas, Batracologia, refúgio, micro-habitats

**Abstract:****The importance of remnant natural habitats of the biotope Montado for the conservation of amphibians**

The montado is an agro-system of great cultural importance and high biodiversity. This agro-system has remnant natural habitats that are extremely important for the local biodiversity. The aim of this study was to show the importance of these habitats for the amphibian community of the montado. In this way, 267 patches of vegetation belonging to ponds, riparian galleries, patches of scrub, woodland and rocky outcrops were identified in the field and using a geographic information system. Amphibian sampling was conducted on rainy nights and consisted of walking transects to identify the species and the microhabitats where they were found. A total of 796 individuals of ten species were identified. The importance of aquatic habitats was demonstrated, but the importance of terrestrial habitats remains to be seen. Amphibians respond better to the scale of microhabitats and each species has a specific set of different variables.

**Keywords:** Iberian species; batrachology; wetlands, refuge, microhabitats

# Índice

<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>1.1. O montado</b> .....	1
<b>1.2. Habitats naturais remanescentes (HNRs) em montado</b> .....	2
<b>1.3. Anfíbios ibéricos</b> .....	6
<b>1.4. Objetivos</b> .....	8
<b>2. Metodologia</b> .....	9
<b>2.1. Área de Estudo</b> .....	9
<b>2.2. Identificação dos diferentes HNRs</b> .....	10
<b>2.3. Amostragem de anfíbios</b> .....	13
<b>2.4. Recolha e tratamento de dados</b> .....	16
<b>2.5. Análise estatística</b> .....	18
<b>3. Resultados</b> .....	19
<b>3.1. Habitats naturais remanescentes (HNRs)</b> .....	19
<b>3.2. Anfíbios</b> .....	21
<b>3.3. HNRs e anfíbios</b> .....	26
<b>4. Discussão</b> .....	32
<b>4.1. Entorno ambiental</b> .....	32
<b>4.2. Presença de anfíbios</b> .....	34
<b>4.3. Medidas de conservação</b> .....	38
<b>5. Considerações finais</b> .....	40
<b>6. Referências bibliográficas</b> .....	41

# Índice de Figuras

Figura 1- Localização da área de estudo com as diferentes herdades amostradas sinalizadas.....	10
Figura 2-Exemplos de HNRs na área de estudo. A- galeria ripícola fechada; B- galeria ripícola aberta; C- afloramento rochoso; D- charco ;E- bosquete; F- Matos. ....	11
Figura 3- Exemplo de um transeto dentro de um buffer de 100m, com a presença de HNRs realizado em SIG (a azul: galeria ripícola (GR); verde: bosquete (BQT); amarelo: matos (MTs); branco: afloramento rochoso (AR); turquesa: charco ou charca (CH)). ....	17
Figura 4 -Total de manchas (nº) de cada tipo de habitat natural remanescente (HNR) (■) e respetiva frequência de ocorrência (%) (■) nos transetos amostrados.....	20
Figura 5--Abundância média das espécies de anfíbios (nº) (■) e respetiva frequência de ocorrência (%) (■) em cada tipo de micro-habitat .....	24
Figura 6-Abundância média (nº) das espécies de anfíbios (■) e respetiva frequência de ocorrência (%) (■) nos transetos amostrados no outono e primavera. ....	25
Figura 7-Boxplot da riqueza e diversidade de espécies de anfíbios (▪ média; □ erro padrão; I desvio padrão) nos transetos amostrados no outono e primavera. ....	25
Figura 8-Abundância média (nº) das espécies de anfíbios (■) e respetiva frequência de ocorrência (%) (■) nos transetos amostrados com e sem habitats naturais remanescentes (HNR). ....	26
Figura 9-Boxplot da riqueza e diversidade de espécies de anfíbios (▪ média; □ erro padrão; I desvio padrão) nos transetos amostrados com e sem habitats naturais remanescentes (HNRs). ....	27
Figura 10-Diagrama de ordenação (biplot) da Análise de Redundância das espécies de anfíbios, com base nas variáveis de HNRs. Abreviaturas das espécies de anfíbios: Ac-Alytes cisternasii; Dg-Discoglossus galganoi, Ec-Epidalea calamita; Hm-Hyla meridionalis; Pi-Pelodytes ibericus; Pc-Pelobates cultripis; Pp-Pelophylax perezi; Pw-Pleurodeles waltl; Ss-Salamandra	

salamandra; Tp-triturus pygmaeus e das variáveis: DIST- distância média dos transetos aos HNRs; AMBGR- área média de galerias ripícolas dentro do buffer; NGR-número de manchas de galerias ripícolas; AOCH-Área original dos charcos; NCH-número de manchas de charcos no buffer.....	28
Figura 11-Diagrama de ordenação (biplot) da Análise de Redundância das espécies de anfíbios, com base nas variáveis de micro-habitat. Abreviaturas das espécies de anfíbios: Ac-Alytes cisternasii; Dg-Discoglossus galganoi, Ec-Epidalea calamita; Hm-Hyla meridionalis; Pi-Pelodytes ibericus; Pc-Pelobates cultripes; Pp-Pelophylax perezi; Pw-Pleurodeles waltl; Ss-Salamandra salamandra; Tp-triturus pygmaeus e das variáveis: ET- estradão e trilhos; VE-vegetação; SO-solo; RO-rochas; AG-dentro de água. ....	29
Figura 12-Exemplo de um indivíduo de T. pygmaeus numa rocha.....	30
Figura 13- Indivíduo de P.perezi dentro de um charco.....	30
Figura 14-Diagrama de Venn com os resultados da partição da variância da comunidade de anfíbios (composição e abundância), explicada pelas variáveis de micro-habitat e dos habitats naturais remanescentes, e pelos fatores ambientais.....	31
Figura 15-Exemplo de um sapo-corredor (E.calamita) num buraco na terra durante o trabalho de campo.....	34
Figura 16- Exemplo de dois indivíduos de triturus pygmaeus num tronco. ....	36
Figura 17- Indivíduo de P. waltl com ovos de anuros na boca. ....	37

# Índice de Tabelas

Tabela 1- HNRs presentes em cada herdade. Os números representam um índice de HNRs presentes em cada herdade em que: 0- HNR inexistente; 1- HNR presente, mas em número reduzido e 2- presente em grande quantidade. CH-charco ou charca; GR - galeria ripícola; MTs- matos; BQT- bosquetes e AR- .....	12
Tabela 2- Nomes e respetivo código das espécies típicas do sul de Portugal (Ferrand <i>et al.</i> 2001; Loureiro, 2010; J. Sousa, 2021) , com o estatuto de conservação do IUCN e presença de espécies na diretiva de habitats. ....	14
Tabela 3-Área (total e dentro do buffer) de cada tipo de HNR e distância aos transetos amostrados (média e desvio padrão).....	20
Tabela 4-Abundância total (nº) e frequência de ocorrência (%) das espécies de anfíbios e respetivas classes de desenvolvimento, nos transetos amostrados. ....	22

# 1. Introdução

## 1.1. O montado

A origem do montado remonta ao século VI e resulta de uma desmatagem seletiva dos matos mediterrânicos, porém com uma certa preservação das árvores, sobretudo do sobreiro (*Quercus suber*) e da azinheira (*Quercus rotundifolia*), para a produção de bolota a fim de alimentar o gado. No entanto, devido à pressão humana já existente, houve a necessidade da aplicação de leis que protegessem este sistema. Assim, no séc. VII foi implementada a proibição do corte de sobreiros e azinheiras aplicando-se penas para quem danificasse os montados, a par da aplicação de leis que obrigavam a plantar estas árvores ou manter árvores novas para o renovo deste sistema (Pinto-Correia *et al.* 2013).

Atualmente, o montado consiste num sistema agro-silvo-pastoril, no qual podem coexistir atividades de produção diversas, tais como a florestal, pastoril, cinegética e/ou turística (Muñoz-Rojas *et al.* 2019). Neste sistema, o coberto vegetal é condicionado pelo pastoreio do gado (Muñoz-Rojas *et al.* 2019), com a predominância das espécies arbóreas sobreiro (*Quercus suber*) e azinheira (*Quercus rotundifolia*), mas também, podendo coexistir com outras quercíneas (Pereira *et al.* 2015). Em suma, o montado é uma formação florestal seminatural, caracterizado pela existência de um estrato arbóreo e uma pastagem natural ou seminatural sob coberto, ainda com a presença, mais comum, de manchas de matos baixos (ex: sargaçais, giestais) e, mais pontual, de elementos remanescentes do sub-bosque florestal primordial (ex. folhado *Viburnum tinus*, murta *Myrtus communis*) sendo assim constituído por um mosaico diverso de vegetação mantido por um sistema agrícola mais tradicional (Capelo & Vila-Viçosa, 2021; da Silva Alves *et al.* 2009). Entretanto, o montado pode ainda ser esparso ou denso dependendo da densidade de árvores existentes, com manchas de arbustos dispersos pela matriz de vegetação. Em Portugal e Espanha (onde tem a designação de Dehesa) este ecossistema tem igual importância e semelhança, todavia algo parecido existe em França, Itália e Grécia (ALFA, 2004; Pereira *et al.* 2015). Configura um habitat de interesse

comunitário (6310) protegido por lei pela rede natura 2000 e está inclusivamente classificado como alto valor natural (*High Nature Value farmland*), ou seja, consegue promover ou preservar um elevado nível de biodiversidade, através da agricultura de baixa intensidade, o que vai traduzir-se num coberto vegetal heterogéneo (ALFA, 2004; Price, 2013).

Esta biodiversidade inclui vários grupos faunísticos incluindo vários anfíbios ibéricos que utilizam os charcos temporários e charcas utilizadas para a atividade agrícola, assim como espécies de especial interesse para a conservação que se reproduzem nesta área, tais como a águia-imperial ibérica (*Aquila adalberti*), o abutre negro (*Aegypius monachus*), e o lince ibérico (*Lynx pardinus*) (Pereira *et al.* 2015; Pinto-Correia *et al.* 2013; Simonson *et al.* 2018).

Contudo, durante o século XXI, verificou-se em Portugal um declínio deste sistema agro-silvo-pastoril, causado pela mudança das práticas tradicionais de gestão para as práticas intensivas de produção ou, simplesmente, pelo completo abandono destas atividades (Muñoz-Rojas *et al.* 2019; Oksuz *et al.* 2020; Pereira *et al.* 2015; Pinto-Correia & Godinho, 2013). Esta mudança contribuiu para a fragmentação e a destruição dos habitats naturais, sendo estas as principais causas da perda de biodiversidade (Lindgren, 2017).

## **1.2. Habitats naturais remanescentes (HNRs) em montado**

Apesar da homogeneização da paisagem que ocorreu neste século XXI, ainda existem, em diversas matrizes do montado, manchas de vegetação remanescentes (daqui em diante, referidos como habitats naturais remanescentes - HNRs). Estes assemelham-se ao que seriam os habitats naturais, antes da intervenção do homem, mas atualmente permanecem com dimensões mais reduzidas, nalguns casos com apenas alguns metros quadrados de tamanho (Hunter *et al.* 2017). Muitos destes HNRs resultam de práticas antigas e tradicionais do uso do solo, com uma biodiversidade específica que já não se encontra na matriz agrícola ou pastoreada, ou sobreviveram noutros ambientes mais naturais e não intervencionados (Poschlod & Braun-

Reichert, 2017). Por exemplo, este é o caso dos pequenos afloramentos rochosos presentes na matriz que limitam o pastoreio e a limpeza mecânica, permitindo o crescimento de árvores e arbustos bem desenvolvidos (Chozas *et al.* 2022). Segundo este autor, o contraste entre as espécies herbáceas que dominam a matriz de vegetação e as árvores, arbustos e trepadeiras presentes na comunidade vegetal de afloramentos, fazem destes o fator crucial na manutenção do grande nível de biodiversidade existente no Montado. Estes elementos fornecem também micro-habitats, acolhendo desta maneira espécies que não estão presentes em mais lugar nenhum da matriz da vegetação.

Tal como refere Hunter *et al.* (2017), “HNRs são locais com uma importância ecológica desproporcional ao seu tamanho, seja porque podem apresentar recursos que limitam populações chave ou processos que influenciam uma área bastante maior que estas, ou porque noutras vezes suportam uma imensa diversidade, abundância e produtividade”. Este autor refere-se a *Small Nature Features* (SNFs) que apresentam características semelhantes aos HNRs aqui nomeados, tendo feito por essa razão uma tradução direta para HNRs. Os HNRs podem assim servir como habitats adicionais para espécies especialistas (faunísticas e florísticas), aumentando a heterogeneidade e, conseqüentemente, a biodiversidade da paisagem, sendo responsáveis pela grande heterogeneidade espacial e temporal do montado. Estes habitats servem, inclusivamente como refúgio; fonte de alimento e/ou de água para vários organismos em paisagens agrícolas.

Os principais HNRs presentes na matriz do montado e considerados neste estudo são as charcas/ charcos, galerias ripícolas, manchas de matos, bosquetes e afloramentos rochosos :

- Charcas e charcos: para melhor definir este habitats, é necessário mencionar primeiro o que são zonas húmidas, pois é uma definição mais abrangente destes elementos. A Convenção de Ramsar define, então zonas húmidas como “zonas de pântano, charco, turfeira ou água, natural ou artificial, permanente ou temporária, com água estagnada ou corrente, doce, salobra ou salgada, incluindo zonas marinhas cuja profundidade na

maré baixa não exceda os seis metros” (Ramsar, 1971). As charcas e charcos são, portanto, zonas húmidas de tamanho reduzido, inundados por água doce ou muito pouco salina, que podem ser permanentes ou sazonais com vegetação anfíbia ou higrófila. As charcas diferenciam-se dos charcos principalmente pelo seu uso agrícola (rega e abeberamento de gado) (Aguiar *et al.* 2021; da Silva Alves *et al.* 2009) Por sua vez, os charcos temporários são caracterizados pela alternância entre períodos de encharcamento e de ausência total de água durante o ano (Grillas *et al.* 2004). O hidroperíodo (tempo de inundação e altura da coluna da água) (Pinto-Cruz & Silva, 2021) é o fator chave para a grande biodiversidade neste local. Esta característica permite a utilização dos charcos por espécies diferentes em diferentes épocas, enquanto que a fase seca faz com que não exista colonização por indivíduos típicos de zonas húmidas permanentes e a fase húmida impeça a invasão por parte de espécies terrestres. Os charcos temporários mediterrânicos são um habitat exclusivo da Região Mediterrânica (Calhoun *et al.* 2017; Ferreira & Beja, 2013; Pinto-Cruz & Silva, 2021).

- Galerias ripícolas: Referidas como corredores estreitos e verdes que atravessam a paisagem mediterrânica, distinguindo-se de vegetações vizinhas pela sua estrutura, morfologia e composição (Aguiar, 2004). São especialmente importantes em zonas semi-áridas por apresentarem um microclima distinto e com sombra (proteção contra temperaturas extremas) e reterem humidade. Desta forma, conseguem suportar uma maior densidade e diversidade de espécies (faunísticas e florísticas) que as áreas adjacentes tais como o bunho (*Schoenoplectus lacustris*) e a rabaça (*Apium nodiflorum*), espécies florísticas típicas desta paisagem. Devido à sua natureza linear são importantes corredores biológicos para a migração de animais. Também são cruciais para a manutenção da qualidade de água e habitat aquático em rios e ribeiras (Kondolf *et al.* 1996; Aguiar, 2004).
- Manchas de matos: configuram comunidades lenhosas dominadas por espécies arbustivas tais como as estevas, sargaços (*Cistus* spp) e

carrascais (Capelo & Vila-Viçosa, 2021). Aumentam vastamente a biodiversidade de uma paisagem, por apresentarem diferentes tipos de espécies de plantas, líquenes e escaravelhos assim como diversos recursos alimentares importantes para várias espécies de aves. Várias espécies faunísticas, também utilizam estas manchas como refúgio, sendo este o caso de lagartos e cobras que preferem as áreas com manchas de matos evitando as clareiras no Montado (Godinho *et al.* 2011; Oksuz *et al.* 2020).

- Bosquetes: constituídos por espécies predominantemente arbóreas são remanescentes de comunidades florestais que correspondiam a florestas de sobreiro (*Quercus suber*) e de azinheira (*Quercus rotundifolia*) e por vezes de carvalhais de folha caduca como o carvalho-cerquinho (*Quercus faginea*). Podem apresentar outros arbustos e árvores como o carrasco (*Quercus coccifera*) ou o zambujeiro (*Olea europea* ssp. *sylvestris*). A presença de lianas e ervas perenes são indicadores de bosques bem conservados (Capelo & Vila-Viçosa, 2021).
- Afloramentos rochosos: Caracterizados como elementos geológicos que emergem do solo e devido às suas características duradouras podem fornecer microclimas estáveis e refúgios ecológicos durante milhares de anos (Couper & Hoskin, 2008). Estes elementos da paisagem influenciam inclusive o padrão de vegetação, quer diretamente quer através da sua influência nas condições climáticas e/ou drenagem do solo desse local. Deste modo, constituem habitats para uma ampla variedade de espécies florísticas e faunísticas muitas vezes endémicas e/ou especialistas tal como a vegetação rupícola característica destes locais como o *Sedum* spp e *Umbilicus rupestris*. Os afloramentos presentes no montado, têm um impacto significativo por aumentarem drasticamente a riqueza e a biodiversidade funcional da vegetação ao conseguirem proteger espécies sensíveis ao pastoreio e a atividades agrícolas (Chozas *et al.* 2022; Fitzsimons & Michael, 2017).

Com o progressivo uso intensivo do solo, estas manchas de vegetação fragmentadas podem ser o último reduto para que muitas espécies possam persistir, nomeadamente os anfíbios, funcionando como locais de refúgio, alimentação e dispersão de indivíduos.

### **1.3. Anfíbios ibéricos**

Os anfíbios ibéricos compreendem tanto os caudata (salamandras e tritões), quanto os anuros (rãs e sapos). Estes vertebrados poiquilotérmicos possuem uma pele nua muito permeável à água e ao ar e partilham o ciclo de vida dualista (terrestre e aquático). Na fase aquática ocorre a reprodução, com a postura de ovos gelificados na água, de onde eclodem larvas aquáticas (girinos) que crescem e vivem nas massas de água. Semanas ou meses depois, ocorre a metamorfose, uma modificação anatómica e fisiológica que as larvas sofrem até transformarem-se em juvenis (mais terrestres) e semelhantes aos adultos (Vitt & Caldwell, 2013).

Ecologicamente, os anfíbios ibéricos atuam tanto como presa como predador de múltiplas espécies sendo relevantes para a cadeia trófica dos ecossistemas aquáticos temporários em que normalmente se inserem. Portanto, podem ser considerados como bioindicadores de vários habitats, devido à sua natureza bifásica e à variação de dieta durante a sua fase de desenvolvimento, sendo na sua maioria, carnívoros durante a fase adulta e herbívoros durante a fase larvar (García-Muñoz *et al.* 2016; Simon *et al.* 2011).

No entanto, os anfíbios são dos vertebrados mais ameaçados, segundo a IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza), que encontrou mais de 40% das espécies avaliadas em declínio (Wake & Koo, 2018). As principais causas apontadas para este declínio decorrem da introdução das espécies invasoras, da alteração antrópica do habitat, da libertação de contaminantes químicos (pesticidas, herbicidas e fertilizantes), dos surtos de doenças infecciosas emergentes e das alterações globais induzidas pelas alterações climáticas (Collins & Storer, 2003). Um dos exemplos de espécies invasoras mais perigosas para os anfíbios ibéricos é o lagostim vermelho

(*Procambarus clarkii*). Atualmente presente em quase todo o país, causa o declínio dos anfíbios por predação dos ovos e larvas em massas de água, maioritariamente temporárias (Anastácio, 2022; Cruz *et al.* 2006).

Na região mediterrânica, este declínio de anfíbios deve-se principalmente à alteração radical dos usos de solo, na sua maioria associado à intensificação da agricultura. Por sua vez, esta alteração causa com frequência a utilização, durante a época seca, de zonas húmidas para a agricultura e gado (Albero *et al.* 2021; Ferreira & Beja, 2013; García-Muñoz *et al.* 2016). Provocando deste modo, a perda de massas de água temporárias que são cruciais para a reprodução de anfíbios desta região. Pois, o seu sucesso de reprodução e dinâmica de populações está dependente da disponibilidade destas massas de água e do seu hidroperíodo (Caballero-Díaz *et al.* 2020; Gutiérrez-Rodríguez *et al.* 2022). A colonização dos charcos e ribeiras temporários ocorre em momentos diferentes durante a época de reprodução de cada espécie (Beja & Alcazar, 2003), o que permite a utilização deste habitat por uma grande diversidade de anfíbios e de outros grupos animais.

Para compensar esta perda de habitats, existem conjuntos de água artificiais que podem ser usados como habitats alternativos de reprodução. Estes habitats artificiais são importantes quando não existem habitats de reprodução naturais circundantes (Caballero-Díaz *et al.* 2020), todavia não são considerados ideais para a maioria dos anfíbios mediterrânicos, pois estes dependem do hidroperíodo, que não vai existir neste habitats (Ferreira & Beja, 2013). Este habitats alternativos vão beneficiar maioritariamente as espécies generalistas, que já apresentam características que permitem colonizar vários tipos de habitats diferentes (Youngquist & Boone, 2014).

Apesar da importância dos habitats aquáticos para reprodução, ainda pouco se sabe de que forma os habitats terrestres circundantes influenciam as comunidades de anfíbios num determinado local. No entanto, é reconhecido que a maioria dos anfíbios que se reproduzem em charcos dependem de dois tipos de habitats: zonas húmidas para reprodução e zonas florestais para procurar alimentos, hibernar e/ou migrar (Guerry & Hunter, 2002; Rittenhouse *et al.* 2008; Roznik & Johnson, 2009). O habitat terrestre é essencial para a persistência dos anfíbios. Este habitat é usado como o habitat primário onde estes animais passam grande parte do seu ciclo de vida, como potenciais corredores biológicos

para a migração durante a época de reprodução ou para áreas de hibernação e de alimentação (Walston & Mullin, 2008).

Assim, os indivíduos têm de migrar entre estações de e para estes locais (Roznik & Johnson, 2009), o que implica a seleção de micro-habitats que minimizem a perda de água (Rittenhouse *et al.* 2008). A habilidade de discernir micro-habitats favoráveis aos anfíbios pode reduzir o risco de dessecação associado ao deslocamento de juvenis entre locais abertos, que é fundamental para manter a conectividade entre espécies em paisagens fragmentadas e vital para a estabilidade de populações regionais (Youngquist & Boone, 2014).

Por conseguinte, é esperado que os HNRs sejam importantes para a presença e persistência de populações de anfíbios num determinado local.

É crucial compreender como as diferentes espécies de anfíbios utilizam os HNRs em paisagens modificadas pelos ser humanos para identificar a combinação correta de variáveis de habitat julgadas necessárias para a conservação dos anfíbios (Valdez *et al.* 2017). E perceber como estes elementos remanescentes são usados pelos anfíbios durante todas as épocas anuais e não apenas durante a fase reprodutiva.

## **1.4. Objetivos**

O objetivo geral deste trabalho foi analisar se e de que forma a presença e a disposição espacial de diferentes HNRs em agro-sistema de montado influenciam (ex. refúgio) as comunidades de anfíbios (adultos e juvenis) em períodos concretos do ciclo vital: reprodução, a estivação e a inatividade invernal.

Neste sentido, o trabalho teve os seguintes objetivos específicos:

- identificar em campo e com recurso a sistemas de informação geográfica manchas de vegetação correspondentes aos HNRs considerados neste trabalho e na área de estudo;
- prospectar anfíbios que aí ocorreram através da identificação visual e auditiva em transectos pedestres noturnos
- analisar a informação recolhida para perceber de que forma a presença e disposição espacial de HNRs na matriz do montado influenciam a

dispersão de anfíbios adultos e juvenis após a estivação e inatividade invernal.

## **2. Metodologia**

### **2.1. Área de Estudo**

Este trabalho foi realizado no Alentejo Central, no distrito de Évora. A paisagem característica desta região é o montado com cobertura vegetal de sobreiros (*Quercus suber*) e/ou azinheiras (*Quercus rotundifolia*) e com pastoreio predominante de gado bovino. Prevalece o clima mediterrânico caracterizado pela baixa quantidade de água disponível para as plantas durante a estação quente, tendo esta a duração mínima de dois meses de estiagem (Mesquita *et al.* 2021). Tal provoca, nas épocas de temperatura elevadas, a secura das massas de água.

As amostragens foram executadas em cinco herdades privadas ( fig.1). Todas as herdades apresentavam pastoreio bovino, pois é o tipo de gado mais comum nesta região. Cada herdade tinha uma tipologia e arranjo diferente de habitats naturais remanescentes (HNRs).

Estas herdades foram escolhidas de modo que fosse possível fazer amostragens noturnas, com o acesso facilitado durante a noite e com a devida autorização dos proprietários. Este contacto foi facilitado pelo Centro de Investigação MED – Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento, no âmbito do Doutoramento da co-orientadora deste trabalho Erika Almeida.

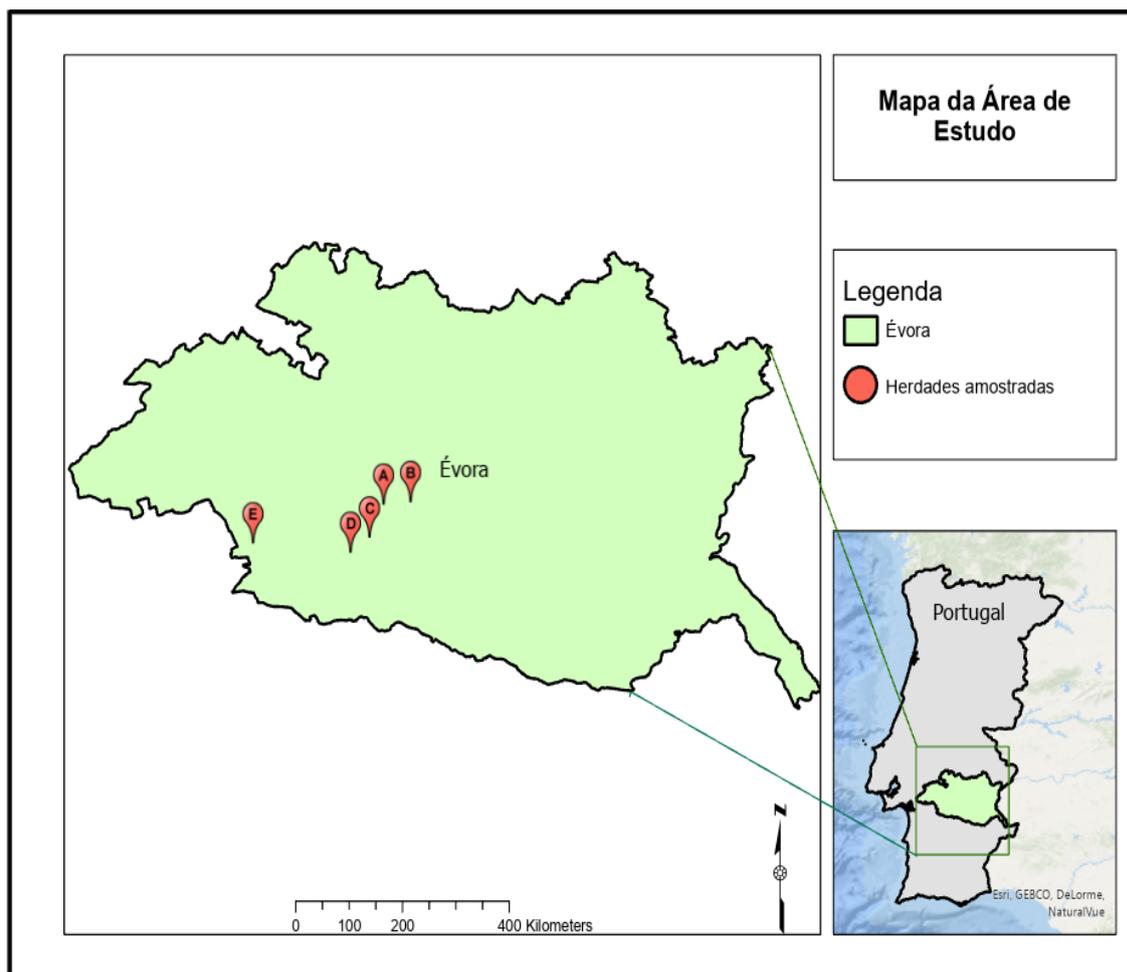


Figura 1- Localização da área de estudo com as diferentes herdades amostradas sinalizadas.

## 2.2. Identificação dos diferentes HNRs

Os HNRS considerados neste estudo (fig.2) foram os charcas/charcos (CH), galerias ripícolas (GR), bosquetes (BQT), manchas de matos (MTs) e afloramentos rochosos (AR).

Assim foram considerada/os charcas e charcos (fig.2D) tanto as massas de água mais temporárias como aquelas mais permanentes, com tamanho variável. Para os bosquetes (fig.2E) foram consideradas manchas de vegetação dominadas por espécies arbóreas com e sem espécies lianóides características destas formações vegetais. Para "matos" (fig.2F), foram consideradas as

manchas de vegetação arbustiva de porte mais baixo (matos baixos) e de porte mais arbóreo (matagais ou matos altos). Consideraram-se como afloramentos rochosos (Fig.2C) tanto os aglomerados de pedras de maiores dimensões (com dominância vertical) como as rochas tipo laje (com dominância na horizontal).



Figura 2-Exemplos de HNRs na área de estudo. A- Galeria ripícola fechada; B- galeria ripícola aberta; C- afloramento rochoso; D- charco ;E- bosquete; F- Matos.

Entretanto, a prospeção em campo, dos diferentes HNRs foi feita de automóvel, percorrendo através das diferentes áreas e dentro das herdades amostradas. Contudo, foi complementada em computador através da interpretação de imagens de satélite.

Quanto à localização de cada um dos HNRs detetados, esta foi georreferenciada através da aplicação *AlpineQuestPro* e posteriormente processados com recurso ao *Google Earth Pro* versão 7.3.6 e *ArcGisPro* versão 3.1.2. O *Google Earth* tem a vantagem do fácil acesso de imagens de satélite em diferentes anos, o que permitiu uma melhor visualização e interpretação das distintas manchas de vegetação observadas em imagens de satélite. O *ArcGis Pro* foi utilizado para fazer o desenho de recorte destas manchas num sistema de informação geográfica (SIGs), sob a forma de polígonos, para o posterior cálculo das suas áreas e disposição espacial.

Os diferentes HNRs foram identificados e caracterizados em 2020 e finalizado em 2022, no âmbito do Doutoramento em Biologia (Universidade de Évora) da bióloga Erika Almeida, co-orientadora deste trabalho.

#### DESCRICOAO DAS HERDADES

A tabela 1 sumariza os tipos de habitats remanescentes presentes em Tabela 1- HNRs presentes em cada herdade. Os números representam um índice de HNRs presentes em cada herdade em que: 0- HNR inexistente; 1- HNR presente, mas em número reduzido e 2- presente em grande quantidade. CH-charco ou charca; GR - galeria ripícola; MTs- matos; BQT- bosquetes e AR- afloramentos rochosos.

cada herdade.

	CH	GR	MTs	BQT	AR
Herdade A	2	1	1	2	1
Herdade B	1	0	1	0	1
Herdade C	1	2	1	2	1
Herdade D	1	1	1	1	2
Herdade E	1	0	1	0	1

### 2.3. Amostragem de anfíbios

Atualmente, existem 13 espécies de batracofauna na região de Évora/Alentejo Central estando listadas na tabela 2 as espécies espectáveis de encontrar na área de estudo (Ferrand *et al.* 2001; Loureiro, 2010; Sousa, 2021). Devido à localização da área de estudo no Alentejo central foi considerada presente unicamente a espécie *Pelodytes ibericus* (Reques, 2014).

Os anfíbios ibéricos são sensíveis às temperaturas noturnas inferiores a 10° e são mais ativos durante o período noturno e com humidade e/ou chuva (Albero *et al.* 2021; Mazerolle, 2001; Youngquist & Boone, 2014). Desta forma, a amostragem de campo foi realizada sempre em noites de chuva com temperatura amenas (mínimas superiores a 10°C) em duas épocas diferentes, no Outono de 2022, após a estivação e na Primavera de 2023 depois da inatividade invernal.

Dadas as características da área de estudo, dos objetivos do trabalho, e à necessidade de revistar e analisar o meio ambiente envolvente, foi escolhido o método de transetos pedestres, pois este permite e é mais compatível com a visualização simultânea de anfíbios enquanto se inspeciona os elementos naturais à volta (Corn & Bury, 1990; Gingras *et al.* 1999).

Tabela 3- Nomes e respetivo código das espécies típicas do sul de Portugal (Ferrand *et al.* 2001; Loureiro, 2010; J. Sousa, 2021) , com o estatuto de conservação do IUCN e presença de espécies na diretiva de habitats.

Nome científico	Nome Comum	Código	Estatuto de conservação	Directivas de habitat
<b>Caudata</b>				
<i>Pleurodeles waltl</i>	Salamandra-de-costelas-salientes	Pw	NT	-
<i>Lissotriton boscai</i>	Tritão-de-ventre laranja	Lb	LC	-
<i>Salamandra salamandra</i>	Salamandra-de-pintas-amarelas	Ss	LC	-
<i>Triturus pygmaeus</i>	Tritão-marmoreado-pigmeu	Tp	NT	Anexo IV
<b>Anura</b>				
<i>Alytes cisternasii</i>	Sapo-parteiro-ibérico	Ac	LC	Anexo IV
<i>Bufo spinosus</i>	Sapo-comum	Bs	LC	-
<i>Discoglossus galganoi</i>	Rã-de-focinho-pontiagudo	Dg	LC	Anexos II e IV
<i>Epidalea calamita</i>	Sapo-corredor	Ec	LC	Anexo IV
<i>Hyla meridionalis</i>	Rela-meridional	Hm	LC	Anexo IV
<i>Hyla molleri</i>	Rela-ibérica	Ha	LC	Anexo IV
<i>Pelobates cultripes</i>	Sapo-de-unha-negra	Pc	VU	Anexo IV
<i>Pelodytes ibericus</i>	Sapinho-de-verrugas-verdes-ibérico	Pi	LC	-
<i>Pelophylax perezi</i>	Rã-verde	Pp	LC	Anexo V

De seguida, foi necessário planificar e delinear em SIG os transectos pedestres noturnos para a amostragem de anfíbios, os quais incorporaram transectos pedestres de distância fixa, transectos complementares e a deteção auditiva. Procurou-se que este delineamento dos transectos prévio fosse representativo das diferentes tipologias e arranjo espacial de HNRs na área de estudo.

Concretamente, os transectos pedestres foram realizados sempre após o pôr-do-sol, em noites de chuva ou muita humidade. Foram iniciados em meados de outubro e finalizados em novembro durante o outono de 2022. A campanha da primavera iniciou-se no início de março e as amostragens foram finalizadas em maio do ano de 2023. Consistiram em percorrer a pé com recurso a lanternas frontais 42 transectos de distância fixa de 200 metros. Complementarmente, foram realizados transectos ao longo de ribeiras e charcos para a deteção de anfíbios que estivessem a utilizar as mesmas. Durante os transectos os elementos naturais presentes foram cuidadosamente inspecionados, registando as observações de anfíbios adultos e juvenis em dispersão. Foi contabilizado o tempo demorado na realização destes.

Também, durante os transectos foi realizada a deteção acústica de anuros, sendo que apenas os machos vocalizam durante a época de reprodução (Vitt & Caldwell, 2013). O coaxo é específico de cada espécie e permite a sua fácil identificação. Esta amostragem bioacústica foi efetuada com recurso a um áudio guia (Márquez, 2004) dos anuros e serviu como amostragem complementar às amostragens referidas anteriormente para registo de animais difíceis de detetar visualmente como é o exemplo do sapo-parteiro-ibérico.

Devido ao grande número de corpos de água existentes na área de estudo e também haver um ano atípico de pouca chuva no outono, em que as massas de água apenas começaram a ter água no inverno, fora da época de amostragem de outono, decidiu-se não realizar amostragens nas massas de água para confirmação da reprodução. Esta decisão não influenciou os objetivos do trabalho que consistiram principalmente em registar a dispersão de animais juvenis, sub-adultos e adultos em 2 épocas diferentes. Também a prospeção noturna através de transectos complementares ao longo de ribeiras e charcos

permitiu detetar algumas posturas e girinos apesar de não se ter feito amostragens sistemáticas com arrastos dentro de água.

## 2.4. Recolha e tratamento de dados

De forma a cumprir o objetivo do trabalho, foram considerados em ambiente SIG um entorno (*buffer*) de 100 metros à volta dos transectos realizados, onde foram desenhados todos os HNRs detetados em campo e foto interpretados a partir da análise de imagem de satélite.

Durante os transectos, foi registada cada espécie encontrada, o estágio de desenvolvimento do animal e o tipo de micro-habitat onde se encontrava. Foi usado a seguinte denominação para: o estágio de desenvolvimento - postura (P); larvas(L); adultos(A); sub-adultos (SA) ou juvenis (J), o tipo de micro-habitat - solo (SO) - solo descoberto fora de estradões e trilhos; vegetação (VE) - vegetação herbácea e rasteira; estradão e trilhos (ET) - estradas de terra e trilhos usados por vacas; matéria morta (MM) - folhada, cortiça, cepo; rocha (RO) - pedra, rocha, afloramento rochoso; poça de água (PA) - pequena massa de água encontrada pelo caminho e Água (AG) - massa de água.

Durante o trabalho de campo foi ainda registada a temperatura e humidade aproximadas com recurso a Apps de meteorologia com indicação destas métricas de hora a hora, e a presença, ou não, de chuva no momento e chuva no dia anterior.

A fig. 3 representa um exemplo de um transecto de 200m com um buffer de 100m e os diferentes tipos de HNRs presentes.



Figura 3- Exemplo de um transeto dentro de um buffer de 100m, com a presença de HNRs realizado em SIG (a azul: galeria ripícola (GR); verde: bosquete (BQT); amarelo: matos (MTs); branco: afloramento rochoso (AR); turquesa: charco ou charca (CH)).

Como variáveis de resposta, foram consideradas a riqueza específica e a abundância relativa de anfíbios.

Como variáveis explicativas foi considerado para cada buffer o número de HNRs presentes, a sua tipologia (CH, GR, BQT, MTs e AR), o tamanho (m<sup>2</sup>) e percentagem de cada um dentro do buffer, distância (m<sup>2</sup>) de cada um ao transecto, o tipo de montado (dominado por sobreiro ou azinheira) e densidade de árvores (aberto vs fechado), a temperatura e a humidade.

Para o tratamento de dados foi utilizado o *Excel* do Microsoft Office 365.

## 2.5. Análise estatística

A análise estatística foi realizada com recurso ao *software* R (versão 3.4.1). Primeiro foi testada a normalidade e a homogeneidade da variância dos dados através dos testes de Shapiro-Wilk e Levine, respetivamente.

Os anfíbios foram analisados em termos taxonómicos (espécies) e estruturais (classes de desenvolvimento). Foi ainda, analisada a riqueza e diversidade de espécies através do índice de Shannon-Wiener.

Foram feitas análises multivariadas e univariadas. A ANOVA Multivariada Permutacional (PERMANOVA) foi utilizada para testar a existência de diferenças significativas na composição específica entre épocas (outono/primavera), transetos com e sem HNR, tipos de montado e classes de densidade de árvores da matriz (Anderson, 2001).

Os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney (ANOVA univariada) foram utilizados para avaliar a existência de diferenças significativas no número de cada tipo de HNR, na abundância, riqueza e diversidade de espécies entre épocas e entre transectos com/sem HNR, assim como na abundância de anfíbios entre tipos de micro-habitats.

O teste de Z de proporções foi utilizado para testar a existência de diferenças significativas nas frequências de ocorrência de HNR de cada tipo, de espécies entre épocas e transetos com/sem HNR, assim como de anfíbios entre tipos de micro-habitats.

A Análise de Redundância (RDA) foi utilizada para saber se os anfíbios foram ou não influenciados pelo ambiente à sua volta. Para tal foi relacionado as espécies de anfíbios (composição e abundância) com três conjuntos de preditores (Jongman *et al.* 1987): (i) variáveis de caracterização dos HNR na matriz envolvente; (ii) tipos de micro-habitat; (iii) fatores ambientais. Em cada RDA, as variáveis foram selecionadas através do método *stepwise forward selection* e a significância dos modelos finais, dos eixos e das variáveis foi determinada com o teste de Monte Carlo sob 999 permutações. Para garantir a ausência de multicolinearidade entre os descritores, apenas foram mantidas nos modelos as variáveis com coeficiente de correlação de Spearman  $|r| < 0,5$  e

Variance Inflation Factors (VIF)  $< 3$  (Zuur *et al.* 2009), e de acordo com a sua potencial relevância ecológica para os objetivos do trabalho.

Os modelos obtidos com base nas RDA foram, complementarmente, utilizados para realizar uma análise de partição da variância (Borcard *et al.* 1992), de forma a determinar a importância relativa dos três conjuntos de variáveis preditoras, e os seus efeitos conjuntos, na composição e abundância da comunidade de anfíbios.

Para as análises multivariadas, os dados de abundância das espécies foram transformados utilizando  $\text{Log}(x+1)$  e as variáveis explicativas foram normalizadas. O nível de significância estatística foi estabelecido a 0.05 para todas as análises.

### **3. Resultados**

Foram realizados um total de 100 transetos (fixos e complementares), tendo sido efetuados 50 transetos durante o outono e durante a primavera, num total 1252 minutos. Destes 50 transetos, 42 são transetos fixos e oito são transetos complementares, realizados por cada época de amostragem.

#### **3.1. Habitats naturais remanescentes (HNRs)**

Foram registados 267 HNRs em 79 transetos e houve uma ausência de HNRs em 21 transetos. Os HNRs mais abundantes foram os bosquetes com um número total de 69 manchas, seguido dos charcos com 63, e os afloramentos rochosos com 61. As manchas de matos e, sobretudo, de galerias ripícolas registaram valores significativamente menores ( $P < 0.01$ ) do que os restantes tipos de HNR (Figura 4). No entanto não houve diferenças significativas na frequência de ocorrência dos diferentes HNRs nos transetos amostrados ( $P > 0.05$ ) (fig.4), o que revela uma boa distribuição das manchas de HNR nos transetos e uma representatividade equilibrada.

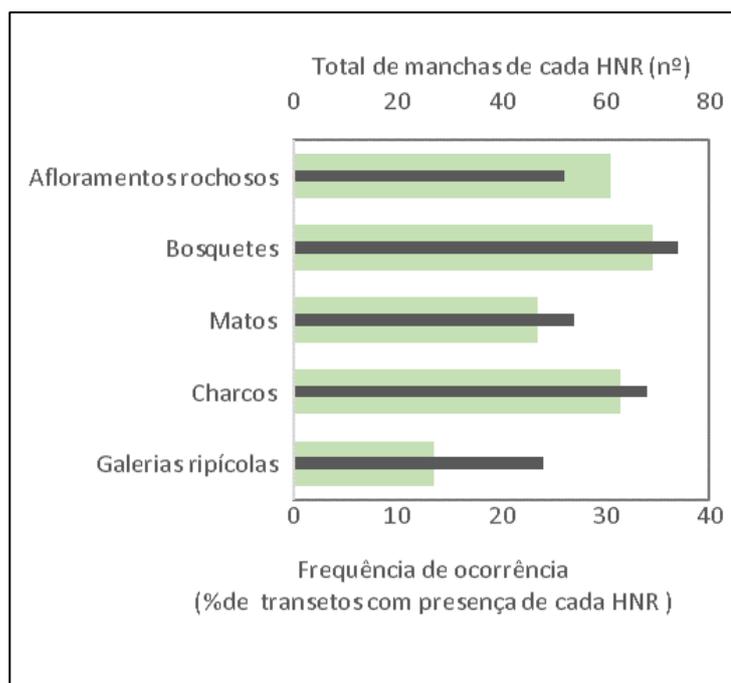


Figura 4 -Total de manchas (nº) de cada tipo de habitat natural remanescente (HNR) (■) e respectiva frequência de ocorrência (%) (■) nos transetos amostrados.

Tabela 6-Área (total e dentro do buffer) de cada tipo de HNR e distância aos transetos amostrados (média e desvio padrão).

	Afloramentos rochosos	Bosquetes	Matos	Charcos	Galerias ripícolas
Área dentro do buffer (m <sup>2</sup> )	193.36 ± 150.29	1699.64 ± 1770.36	352.41 ± 338.34	2648.42 ± 4792.36	3497.94 ± 2880.87
Área total (m <sup>2</sup> )	207.24 ± 155.46	2328.81 ± 2579.76	374.99 ± 359.43	9565.16 ± 18024.47	7530.00 ± 4656.48
Distância aos transetos (m)	35.84 ± 20.75	41.68 ± 31.83	32.13 ± 20.18	35.72 ± 29.88	33.37 ± 25.12

Os afloramentos rochosos e as manchas de matos foram os HNRs com menor área média dentro dos buffers e também de área total (área total do HNR para além do buffer). Os habitats aquáticos (charcos e galerias ripícolas) são os que apresentaram maiores áreas (dentro e fora do buffer). A distância dos HNRs aos transetos é semelhante entre HNRs, com os bosquetes a apresentarem distâncias médias um pouco superiores.

### **3.2. Anfíbios**

Foram contabilizados 796 indivíduos, pertencentes a 10 espécies de anfíbios (Tabela 4). Nem foi observado, nem ouvido nenhum indivíduo de *Lissotriton boscai*, *Bufo spinosus* e *Hyla molleri*. Os anfíbios adultos foram os mais observados nos transetos, seguido de juvenis e por fim os sub-adultos (Tab. 4).

Tabela 7-Abundância total (nº) e frequência de ocorrência (%) das espécies de anfíbios e respectivas classes de desenvolvimento, nos transetos amostrados.

Espécie	Nome comum	Classe de desenvolvimento	Abundância total (nº de indivíduos)		Frequência de ocorrência nos transetos (%)	
<i>Alytes cisternasii</i>	sapo-parteiro-ibérico	Adulto	53		12	
<i>Discoglossus galganoi</i>	rã-de-focinho-pontiagudo	Adulto	2	3	2	3
		Subadulto	1		1	
<i>Epidalea calamita</i>	sapo-corredor	Adulto	239	262	60	64
		Subadulto	22		16	
		Juvenil	1		1	
<i>Hyla meridionalis</i>	rela-meridional	Adulto	4		3	
<i>Iucns cultripes</i>	sapo-de-unha-negra	Adulto	163	189	38	46
		Subadulto	8		6	
		Juvenil	18		7	
<i>Pelodytes ibericus</i>	sapinho-de-verrugas-verdes-ibérico	Adulto	2		1	
<i>Pelophylax perezi</i>	rã-verde	Adulto	89	104	11	17
		Subadulto	3		3	
		Juvenil	12		6	
<i>Pleurodeles waltl</i>	salamandra-de-costelas-salientes	Adulto	21	28	9	12
		Subadulto	1		1	
		Juvenil	6		3	
<i>Salamandra salamandra</i>	salamandra-de-pintas-amarelas	Adulto	99	116	37	39
		Subadulto	9		5	
		Juvenil	8		7	
<i>Triturus pygmaeus</i>	tritão-marmoreado-pigmeu	Adulto	17	35	11	17
		Subadulto	11		6	
		Juvenil	7		2	

Entretanto, as espécies de anfíbios mais abundantes na área de estudo foram *E. calamita*, *P. cultripes*, *S. salamandra* e a *P. perezi*, sendo também, as que apresentaram uma maior frequência nos transetos (Tab.4). Por último as espécies com menos registros foram *H. meridionalis*, *D. galganoi* e *P. ibericus* todos com menos de cinco indivíduos (Tab.4).

A distribuição dos animais pelos transetos foi variável: por exemplo *P. perezi* teve uma abundância relativamente elevada (n=104), mas uma baixa frequência de ocorrência (em apenas 17% dos transetos amostrados), com ocorrências concentradas, numa baixa proporção de transetos. Por outro lado, *E. calamita* teve abundância (n=262) e frequência de ocorrência (em 64% dos transetos) elevadas, apresentando uma distribuição generalizada pelos transetos, ocorrendo em mais de metade dos transetos amostrados. Já a espécie *A. cisternasii* foi quase totalmente detetada através do método bioacústico.

Durante as amostragens de campo apenas foram encontradas posturas das espécies *P. cultripes* e *E. calamita*, e larvas de *S. salamandra*, *P. waltl* e *P. cultripes* por esta razão não foram considerados estes dados para a análise estatística.

Quanto à densidade de árvores e ao tipo de montado, estes não mostraram ser determinantes na composição e abundância das espécies de anfíbios. No entanto, os tipos de micro-habitats considerados influenciaram significativamente os anfíbios encontrados ( $P < 0.01$ ) (Fig. 5), com uma maior abundância de animais observados nos estradões e trilhos, vegetação e em água. Para além da vegetação e estradões/ trilhos, a maior frequência de ocorrência de animais foi também em solo e rochas.

No entanto, a distribuição dos animais pelos transetos variou conforme o micro-habitat considerado: houve 50% de transetos com registos de anfíbios com presença de vegetação, mas com uma presença baixa de animais (apenas 1,5 indivíduos por transeto) enquanto que em água o número de animais presentes foi semelhante (1,42 animais por transeto), embora registado em apenas 15% de transetos, tal significa uma maior concentração de animais na água relativamente à vegetação (Fig. 5)

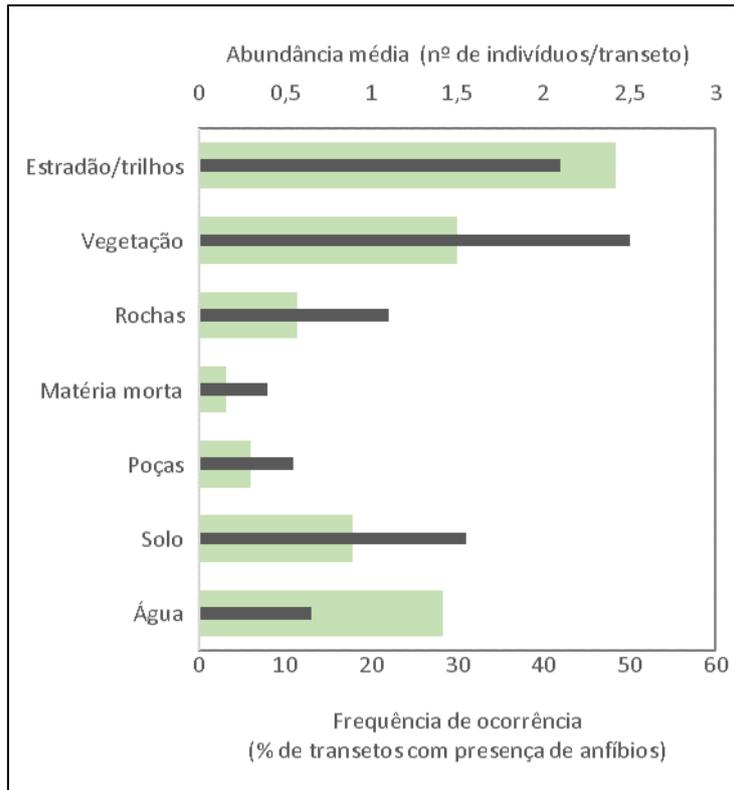


Figura 5--Abundância média das espécies de anfíbios (nº) (■) e respectiva frequência de ocorrência (%) (■) em cada tipo de micro-habitat

A época de amostragem também mostrou diferenças significativas entre outono e primavera ( $P < 0.001$ ). Com efeito, a maioria das espécies mostrou diferenças significativas na abundância e frequência de ocorrência entre épocas de amostragem ( $P < 0.001$ ), exceto *D. galganoi*, *H. meridionalis*, *P. waltl* e *T. pygmaeus* (Fig 6). A abundância, riqueza e diversidade de espécies foram significativamente superiores no outono ( $P < 0.01$ ) (Fig.7).

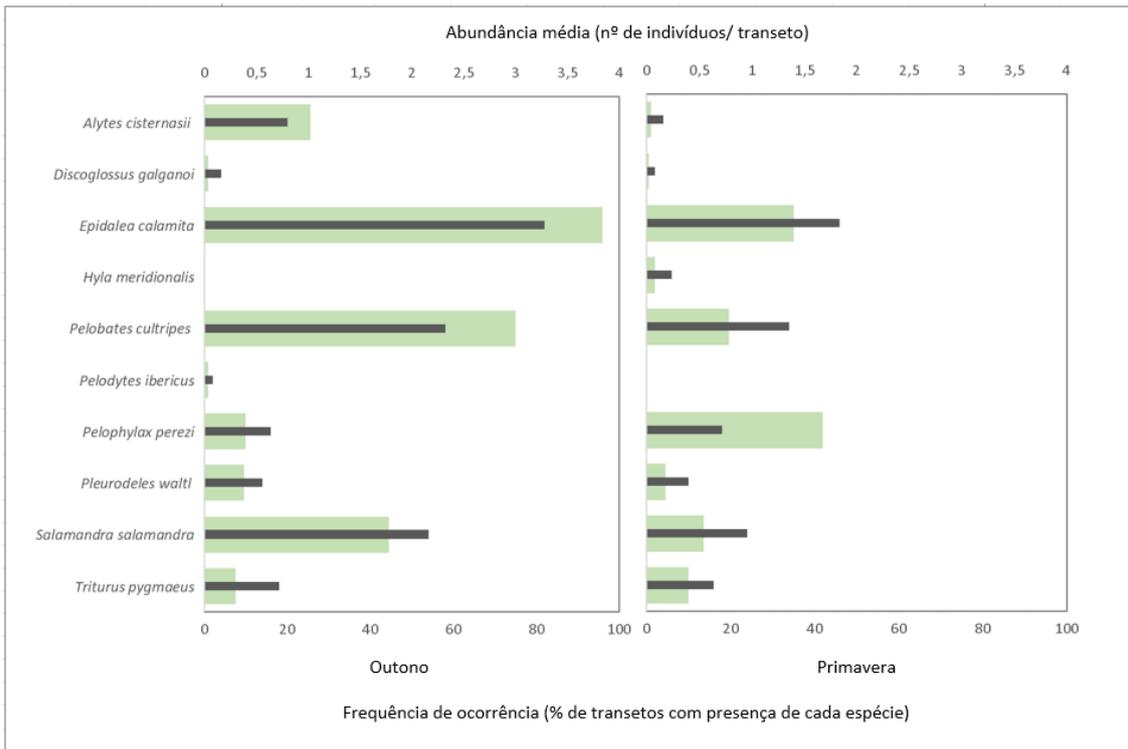


Figura 6-Abundância média (nº) das espécies de anfíbios (■) e respetiva frequência de ocorrência (%) (■) nos transetos amostrados no outono e primavera.

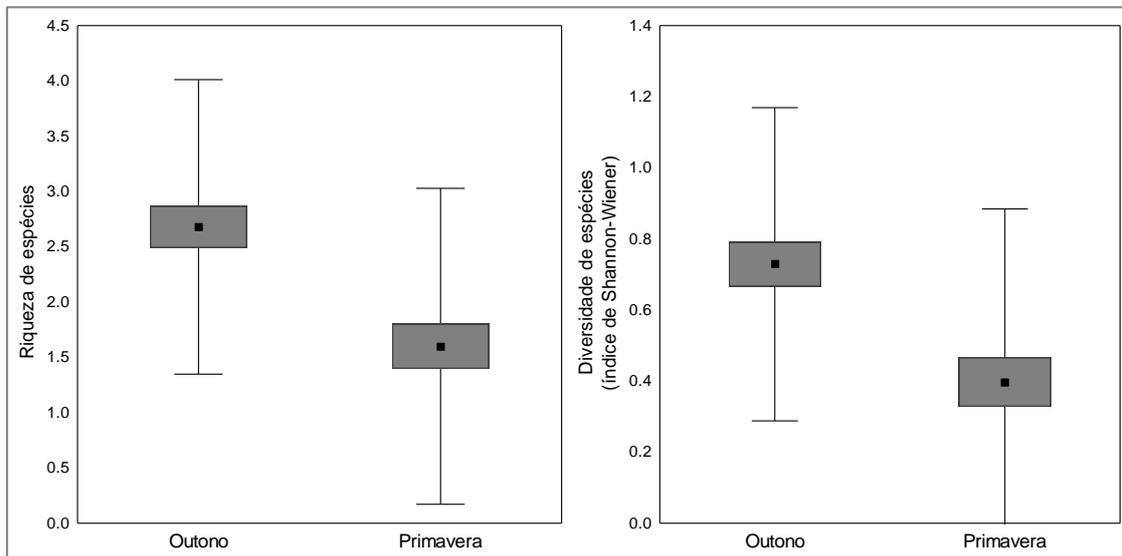


Figura 7-Boxplot da riqueza e diversidade de espécies de anfíbios (■ média; □ erro padrão; I desvio padrão) nos transetos amostrados no outono e primavera.

### 3.3. HNRs e anfíbios

A população de anfíbios é significativamente diferente entre transetos com e sem HNRs: em 11% dos transetos com HNR não foram registadas ocorrências de espécies, enquanto nos transetos sem HNRs o valor de ausências foi significativamente superior ( $P < 0.01$ ), sendo de 29%.

As espécies *P. perezii*, *S. salamandra* e *T. pygmaeus* apresentaram valores de abundância e frequência significativamente mais baixos em transetos sem HNRs e as espécies *H. meridionalis*, *P. ibericus* e *P. waltl* não foram observadas em transetos sem HNRs (Fig.8).

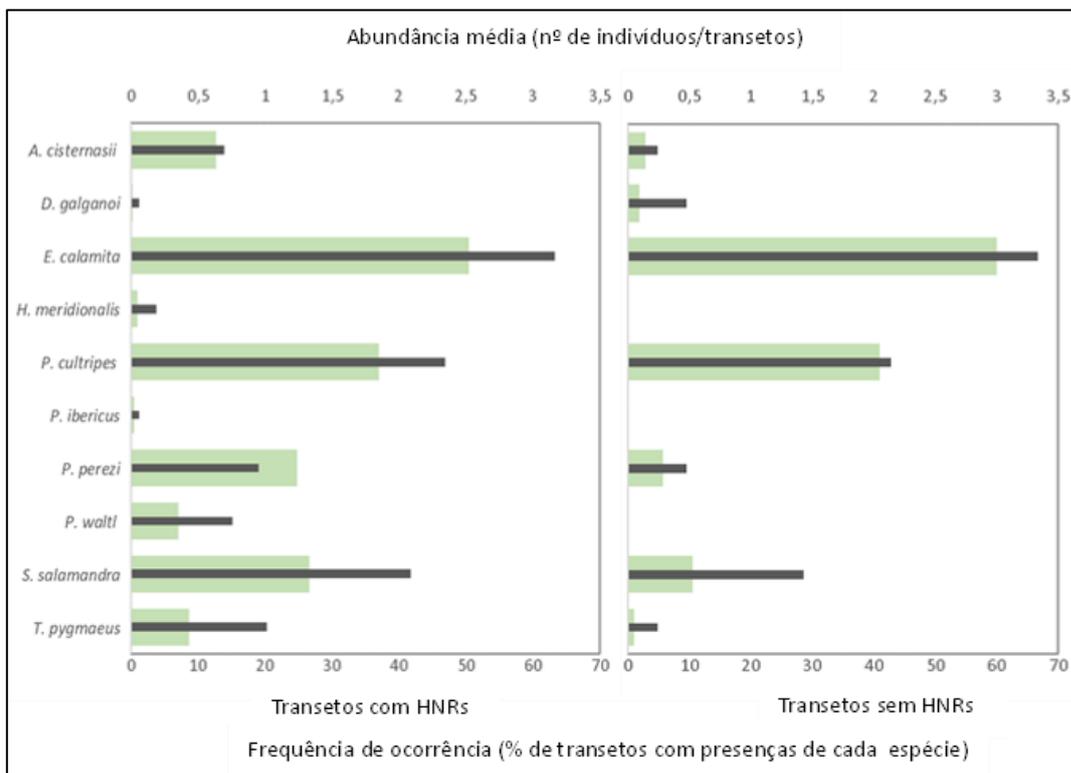


Figura 8-Abundância média (nº) das espécies de anfíbios (■) e respetiva frequência de ocorrência (%) (■) nos transetos amostrados com e sem habitats naturais remanescentes (HNR).

Na presença de HNRs, a abundância, riqueza e diversidade de espécies foram tendencialmente mais elevadas, embora sem significância estatística (Fig. 9).

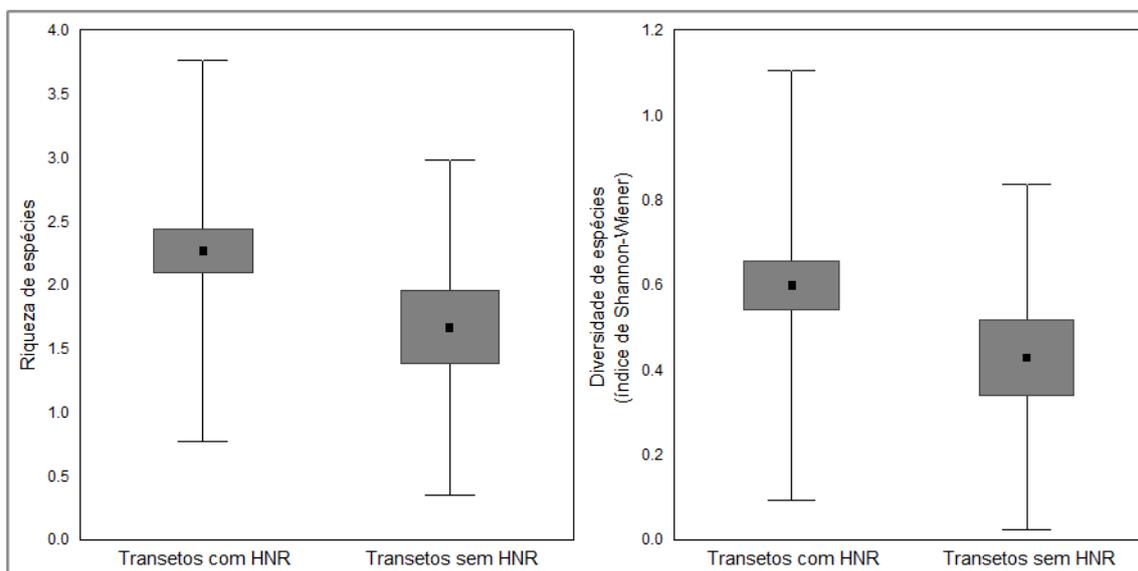


Figura 9-Boxplot da riqueza e diversidade de espécies de anfíbios (▪ média; □ erro padrão; I desvio padrão) nos transetos amostrados com e sem habitas naturais remanescentes (HNRs).

Os resultados da análise de redundância (RDA) com base nas variáveis de caracterização dos HNRs mostraram uma boa percentagem de explicação e segregação das espécies de anfíbios ao longo dos dois primeiros eixos, sendo possível estabelecer uma boa relação entre espécies e as variáveis (Fig.10). As espécies *D. galganoi* (Dg), *H. meridionalis* (Hm) e *P. ibericus* (Pi) não são discriminadas nos eixos da RDA, uma vez que registaram ocorrências muito reduzidas.

Na RDA com base nos HNR foi possível evidenciar quatro grupos de espécies:

- i) *E. calamita* (Ec) aparece destacada, não se associando a nenhuma variável específica dos HNR, mas antes a maiores distâncias médias em relação aos HNR (DIST);

- ii) *T. pygmaeus* (Tp) e *P. perezii* (Pp) associam-se a um maior número de charcos (NCH) e à respectiva área original (AOCH);
- iii) *S. salamandra* (Ss), *P. cultripis* (Pc), *A. cisternasii* (Ac) associam-se ao número de manchas de galerias ripícolas (NGR) e área média dessas manchas dentro do buffer (AMBGR);
- iv) *P. waltl* (Pw) parece estar isolado e que se associa a charcos e galerias.

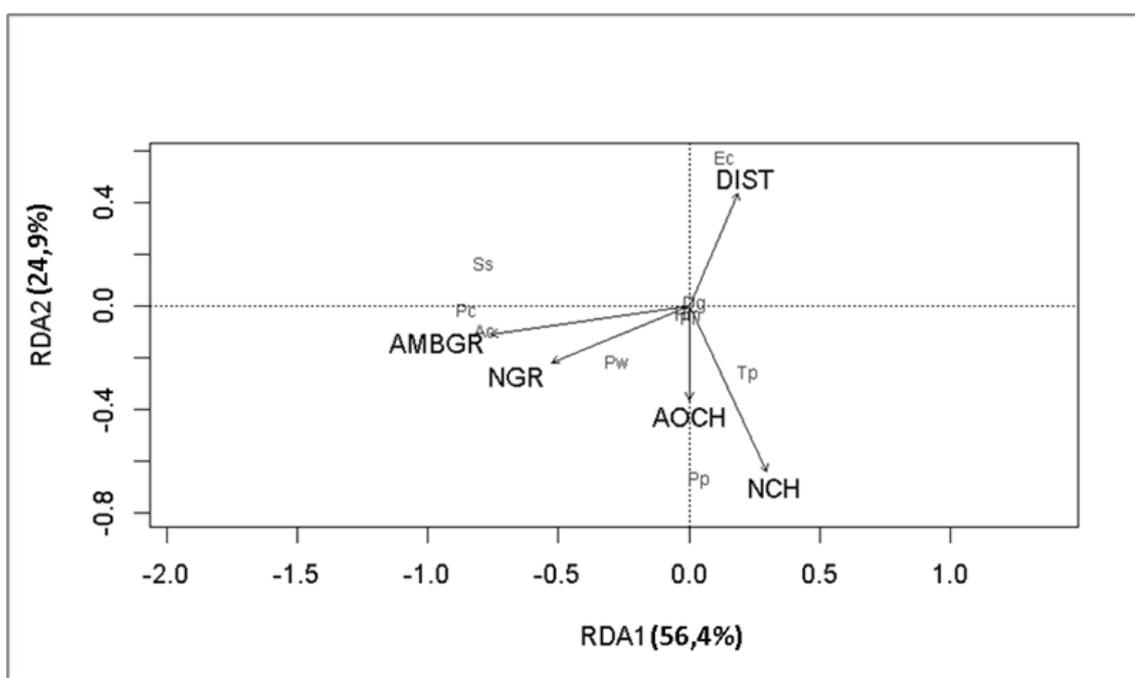


Figura 10-Diagrama de ordenação (biplot) da Análise de Redundância das espécies de anfíbios, com base nas variáveis de HNRs. Abreviaturas das espécies de anfíbios: Ac-*Alytes cisternasii*; Dg-*Discoglossus galganoi*; Ec-*Epidalea calamita*; Hm-*Hyla meridionalis*; Pi-*Pelodytes ibericus*; Pc-*Pelobates cultripis*; Pp-*Pelophylax perezii*; Pw-*Pleurodeles waltl*; Ss-*Salamandra salamandra*; Tp-*triturus pygmaeus* e das variáveis: DIST- distância média dos transetos aos HNRs; AMBGR- área média de galerias ripícolas dentro do buffer; NGR-número de manchas de galerias ripícolas; AOCH-Área original dos charcos; NCH-número de manchas de charcos no buffer.

A RDA elaborada com base nos micro-habitats (Fig.11) obteve melhores resultados na percentagem de explicação e relação entre as espécies e as variáveis. Esta análise também evidenciou vários grupos de espécies em função do micro-habitat, a saber:

- i) *E. calamita* (Ec) associou-se mais a estradões e trilhos (ET);
- ii) *P. cultripipes* (Pc) e a *S. salamandra* (Ss) parecem estar mais associados ao conjunto de vegetação (VE) e solo (SO);
- iii) *A. cisternasii* (Ac) e *P. waltl* (Pw) aparentam estar mais associadas ao solo (SO);
- iv) *T. pygmaeus* (Tp) muito associada a rochas (RO) (fig.12);
- v) *P. perezii* (Pp) mais associada à água (AG) (fig.13).

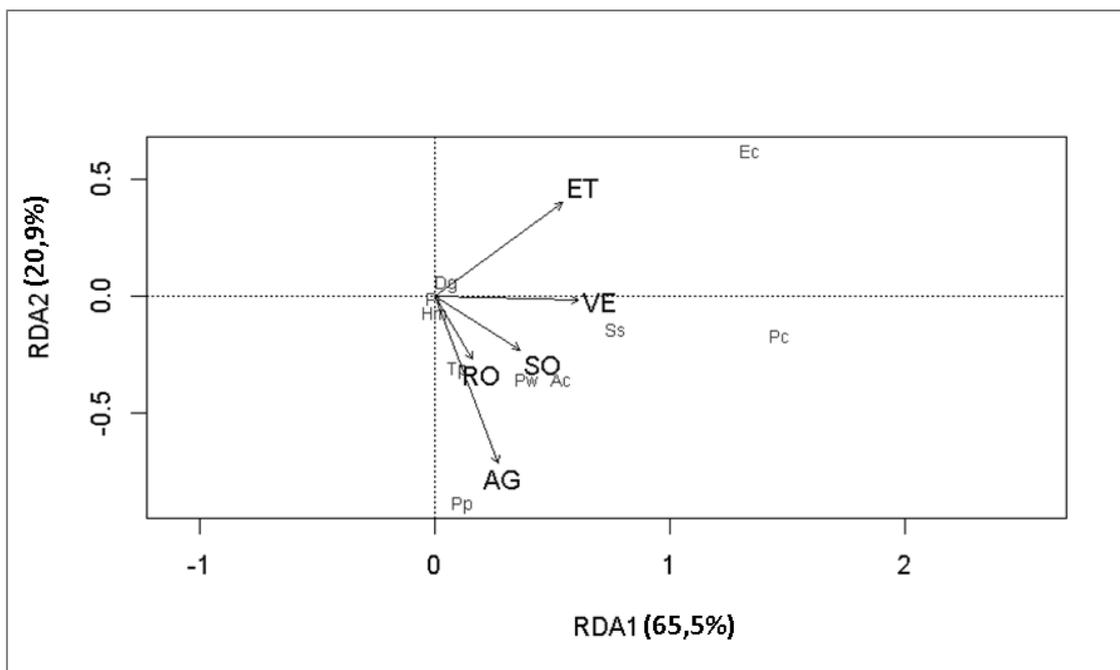


Figura 11-Diagrama de ordenação (biplot) da Análise de Redundância das espécies de anfíbios, com base nas variáveis de micro-habitat. Abreviaturas das espécies de anfíbios: Ac-*Alytes cisternasii*; Dg-*Discoglossus galganoi*, Ec-*Epidalea calamita*; Hm-*Hyla meridionalis*; Pi-*Pelodytes ibericus*; Pc-*Pelobates cultripipes*; Pp-*Pelophylax perezii*; Pw-*Pleurodeles waltl*; Ss-*Salamandra salamandra*; Tp-*triturus pygmaeus* e das variáveis: ET- estradão e trilhos; VE-vegetação; SO-solo; RO-rochas; AG-dentro de água.



Figura 12-Exemplo de um individuo de *T. pygmaeus* numa rocha.

A RDA com base nas variáveis ambientais (humidade, chuva no dia anterior, chuva no momento e temperatura) mostrou uma boa discriminação das espécies de anfíbios, mas sobretudo determinada pelo efeito da época, distinguindo a espécie *P. perezi*, que se associou mais à primavera, das restantes, que se associaram mais ao outono (ver fig. 6). De facto, as temperaturas variaram entre 12°C e 19°C durante as noites de amostragem.



Figura 13- Individuo de *P.perezi* dentro de um charco.

Os resultados da partição da variância (Fig. 14) mostraram diferenças na importância relativa de cada conjunto de variáveis (HNRs, micro-habitats e fatores ambientais) para explicar a composição e abundância da população de anfíbios, sendo que mais de 50% dos resultados obtidos são explicados por estas variáveis. A variável que melhor explica os resultados obtidos é o micro-habitat (23,7%), seguido da presença de HNRs e estas duas em conjunto explicam a maioria da variabilidade dos dados. Enquanto, os fatores ambientais têm uma influência residual.

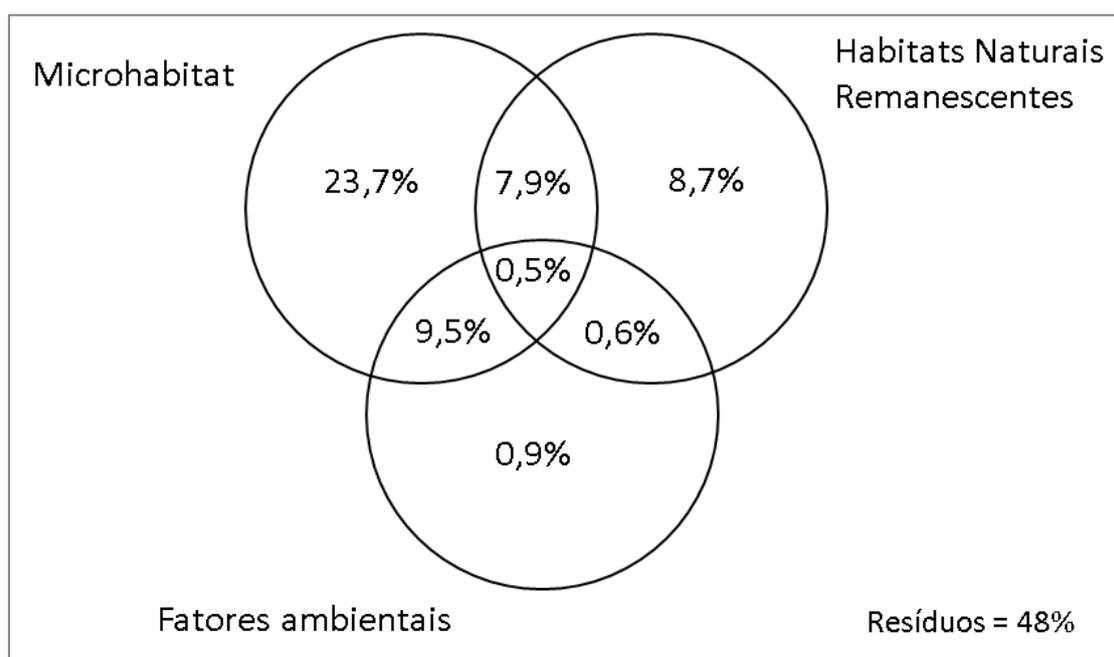


Figura 14-Diagrama de Venn com os resultados da partição da variância da comunidade de anfíbios (composição e abundância), explicada pelas variáveis de micro-habitat e dos habitats naturais remanescentes, e pelos fatores ambientais.

## 4. Discussão

### 4.1. Entorno ambiental

Os dados ambientais recolhidos e a dispersão dos dias de amostragem em diferentes meses ao longo do ano evidenciaram o ano de amostragens atipicamente seco. Ainda assim, foi possível identificar 796 indivíduos pertencentes a 10 espécies de anfíbios, o que mostra uma boa diversidade e riqueza de espécies na área de estudo.

As espécies mais comuns amostradas na área de estudo foram *E. calamita*, *P. cultripes*, *S. salamandra* e a *P. perezi*. Todas estas mais generalistas segundo Alberó *et al.* (2021), atendendo à sua distribuição (europeia e mediterrânica) e à relativa variedade de biótipos em que se habitam. Daí serem mais observadas, pois também vão estar mais presentes em locais locais.

No que diz respeito aos HNRs detetados em campo, a área de estudo mostra também uma elevada diversidade destes elementos (n=267), ocupando cerca de 8400m<sup>2</sup> de área dentro dos buffers considerados.

Os dados mostraram que houve uma menor ausência de anfíbios em transetos com HNRs, e diferenças significativas na abundância e frequência de algumas espécies em transetos com e sem HNRs. No entanto, os valores de riqueza e diversidade não foram significativamente diferentes. Por exemplo, *P. perezi*, *S. salamandra* e *T. pygmaeus* apresentaram valores de abundância e frequência significativamente mais baixos em transetos sem HNRs e as espécies *H. meridionalis*, *P. ibericus* e *P. waltl* só foram observadas em transetos com HNRs.

Embora os bosquetes e os afloramentos rochosos, juntamente com os charcos, tenham sido os HNRs mais abundantes na área de estudo, e as galerias ripícolas tenham apresentado abundâncias significativamente inferiores, os HNRs que se mostraram expectavelmente mais significativos para a presença dos anfíbios foram os HNRs aquáticos (charcos e galerias ripícolas - nº e área destes elementos). O que comprova, uma vez mais, a importância destes elementos na paisagem para os anfíbios (Beja & Alcazar, 2003; García-Muñoz

*et al.* 2016; Vitt & Caldwell, 2013). Estes HNRs mostraram-se principalmente relevantes para os caudados observados (*S. salamandra*, *P. waltl*, e *T. pygmaeus*), e para os anuros *P. perezi*, *P. cultripes* e *A. Cisternasii*. Sendo o mais esperado para as espécies caudata, pois geralmente as salamandras e os sapos dispersam-se em distância diferentes, com os sapos a fazerem distâncias maiores que as salamandras (Rittenhouse & Semlitsch, 2007).

Ainda que a presença de HNRs aquáticos tenham sido significativa para a presença de várias espécies de anfíbios, as análises de partição de variância mostraram que estas variáveis explicaram apenas 8.7% dos resultados obtidos. A composição e abundância de anfíbios na área de estudo foram principalmente explicados com variáveis relacionadas com o micro-habitat. Os estradões e trilhos foram os micro-habitats dominantes. Isto talvez, porque os anfíbios são mais facilmente identificados nestes elementos e/ou, porque os próprios animais escolhem estas zonas abertas para se deslocarem mais facilmente (observação pessoal) ou para caçarem (Heard *et al.* 2008; Valdez *et al.* 2016). A vegetação foi o segundo micro-habitat dominante. Albero *et al.* (2021) encontrou uma correlação positiva entre a vegetação natural e todas as espécies de anfíbios ibéricos presentes no seu trabalho. E, tal como esperado o elemento água também foi um dos micro-habitats mais dominantes, sendo o terceiro com mais presença de anfíbios detetados. O que faz sentido, devido à peculiar fisiologia dos anfíbios, designadamente condicionada por uma pele permeável, época de reprodução e fase larvar aquáticas.

Por último, verificou-se que as variáveis ambientais tiveram uma contribuição explicativa residual, o que era esperado, uma vez que os transetos foram feitos em noites de temperatura e humidade o mais semelhante possível, embora as amostragens tenham sido alargadas ao longo do ano, devido ao ano de amostragens seco. Ainda assim, houve diferenças significativas na abundância, riqueza e diversidade entre épocas de amostragem, com maiores valores no outono para a maioria das espécies identificadas. Isto pode ser explicado, devido à diferença das épocas de reprodução e hidroperíodo. A *Hyla meridionalis* e a *P. perezi* são espécies que apenas se reproduzem na primavera e foram apenas ou maioritariamente observadas nesta época (Beja & Alcazar, 2003; Cancela da Fonseca *et al.* 2008; Sillero, 2014), assim como preferem

charcos mais profundos e/ou permanentes. Enquanto que por exemplo as espécies *P. ibericus*, *A. cisternasii* e *P. cultripes* são espécies com a reprodução especificamente de outono, mas que podem reproduzir mais uma vez na primavera (Beja & Alcazar, 2003; Cancela da Fonseca *et al.* 2008; Márquez, 2017).

## 4.2. Presença de anfíbios

Os resultados obtidos variaram por cada espécie. O sapo-corredor (*E. calamita*) foi a espécie mais observada, sendo expectável, pois este apresenta uma distribuição generalista por quase toda a Europa Ocidental ocorrendo assim em grande variedade de biótipos (Loureiro, 2010). Os sapos conseguem percorrer relativamente grandes distâncias longe de massas de água (Rittenhouse & Semlitsch, 2007), o que pode justificar ter sido a espécie mais influenciada pela variável distância (DIST), principalmente, porque esta espécie prefere colocar as posturas em poças mais efémeras (Gómez-Mestre, 2014). A maioria dos indivíduos foram observados em estradões e trilhos (ET), possivelmente por serem mais facilmente identificados nestes, no entanto este é também, um anuro que se enterra, preferindo assim os solos arenosos usando os buracos que escava para se refugiar (Fig. 15), sendo que os adultos preferem estas áreas mais abertas e com pouca vegetação (Gómez-Mestre, 2014).



Figura 15-Exemplo de um sapo-corredor (*E. calamita*) num buraco na terra durante o trabalho de campo.

Tal como o sapo corredor, o sapo- de- unhas-negras (*P. cultripes*) também prefere substratos arenosos ou pouco compactados (Recuero, 2014), justificando assim, a influência da variável solo (SO) na sua presença. Este é um dos anfíbios mais ameaçados de Portugal (IUCN, 2022), mas foi o segundo anfíbio mais observado na área de estudo, talvez por ter a capacidade de se adaptar a vários tipos de habitats, tanto em zonas abertas como em zonas de bosques (Recuero, 2014). Os resultados também evidenciaram a influência da variável área de galeria ripícola (AMBGR) na sua presença. Contrariamente ao esperado, as galerias ripícolas tiveram mais influência que os charcos nesta espécie (Sousa, 2015). O que poderá explicar-se pelo facto de ser uma espécie que se reproduz preferencialmente, apenas no outono e haver poças de água na ribeira ao contrário do que aconteceu nos charcos temporários que estavam na sua maioria, secos.

A salamandra - de - pintas - amarelas (*S. salamandra*) é uma salamandra terrestre que se reproduz maioritariamente em ribeiras com galerias ripícolas (Schmidt *et al.* 2005; Velo-Antón & Buckley, 2015), tal como foi observado neste trabalho e ao encontro das suas áreas de reprodução. Esta salamandra precisa de ambientes terrestres húmidos e com mais vegetação (VE) não tendo preferência por algum tipo de comunidade vegetal em específico (Velo-Antón & Buckley, 2015). Mas, Couto *et al.* (2016) encontrou uma correlação positiva entre o mesmo tipo de vegetação no seu trabalho e a presença destas salamandras, não sendo por isso um resultado inesperado.

A rã-verde (*P. perezii*) é a mais comum da Península Ibérica, assim como o anfíbio mais tolerante à poluição/ contaminação das massas de água (Feio & Ferreira, 2019). Apresenta uma grande abundância como foi demonstrado neste estudo, pois consegue colonizar qualquer tipo de massa de água, tanto permanente, como temporária (Beja & Alcazar, 2003; Cancela da Fonseca *et al.* 2008). Apesar de estar presente em muitos ambientes terrestres raramente se afasta das massas de água (Feio & Ferreira, 2019), daí a ser altamente influenciada pelas variáveis relacionadas com água - número de charcos (NCH), área de charcos (AOCH) e presença de água (AG).

O sapo parteiro ibérico (*A. cisternasii*) é um anfíbio mais especialista endémico do sul da península ibérica reproduzindo-se maioritariamente em

ribeiras temporárias (Ribeiro & Rebelo, 2011). A sua observação ocorreu apenas durante a sua época de reprodução, durante o outono coincidindo com as primeiras chuvas (Márquez, 2017), devido ao seu reduzido tamanho e consequentemente difícil deteção. Desta forma, a sua ocorrência ficou muito dependente de galerias ripícolas (AMBGR), tal como era esperado.

O tritão marmoreado pigmeu (*T. pygmaeus*) foi encontrado apenas em rochas e em troncos de árvores durante a sua dispersão (fig. 16). Este resultado era esperado pois, Romero & Real (2008) descobriram que as rochas fazem parte do seu refúgio durante a estivação destes tritões. Enquanto que Moya & Busack (2014) descobriram tritões refugiados em árvores ocas durante o inverno. Segundo Garnham *et al.* (2015) e Valdez *et al.* (2016) os montes de pedras e os gabiões fornecem melhor proteção contra a dessecação, predadores e o estresse térmico.



Figura 16- Exemplo de dois indivíduos de *T. pygmaeus* num cepo.

A salamandra de costelas salientes (*P.waltl*) tem uma preferência por massas de água relativamente grandes, profundas e com pouca corrente (Salvador, 2015), o que pode justificar a sua associação com a variável número de galerias ripícolas (NGR) e a área de charcos (AOCH). Curiosamente, foi observada a predação deste caudata aos ovos de anuros durante este trabalho numa galeria ripícola, mostrando a sua natureza predatória (fig.17).



Figura 17- Indivíduo de *P. waltl* com ovos de anuros na boca.

Em relação às espécie menos detetadas, de acordo com Beja & Alcazar (2003), a rela - meridional (*H. meridionalis*) ocorre mais frequentemente em charcos temporários com hidroperíodos mais longos e está mais dependente de vegetação que usa para refugiar (Sillero, 2014). Esta espécie, apenas foi vista na primavera num charco com estas condições. Todavia, dado que a rela é verde, tal como a vegetação que a rodeia, essa camuflagem na vegetação pode ter dificultado a deteção da sua presença.

O sapinho – de - verrugas - verdes (*P. ibericus*) é das primeiras espécies a reproduzirem-se na Península Ibérica e por esta razão prefere charcos com um hidroperíodo pequeno (Beja & Alcazar, 2003; Cancela da Fonseca *et al.* 2008). Sousa (2015) refere ainda, que esta espécie prefere charcos temporários mediterrânicos e coincidentemente, foi também, o observado durante este trabalho.

A rã – de – focinho - pontiagudo (*D. galganoi*) é considerada uma espécie mais generalista (Albero *et al.* 2021; Martínez-Solano, 2014) no sentido do habitat que utiliza para a reprodução, usando até massas de água mais efémeras (Martínez-Solano, 2014). No entanto neste trabalho, este comportamento foi meramente observado em juvenis e o único adulto observado estava num charco ainda seco.

Apesar da notória importância dos charcos (temporários e permanentes) para os anfíbios, neste trabalho verificou-se uma maior tendência dos animais para as galerias ripícolas. Podendo ser explicado pelas espécies generalistas ou porque as espécies ibéricas tentam colocar posturas em quantas

massas de água quantas conseguirem de modo a terem sucesso na reprodução (Gómez-Rodríguez *et al.* 2012).

Dado que as amostragens apenas foram realizadas em dias de chuva ou com muita humidade, não foi possível fazer uma amostragem contínua por ter sido um ano extremamente seco (Instituto Português do Mar e da Atmosfera, 2022a, 2023b). Também, por esta razão não foi um bom ano de amostragens e, como tal, os resultados devem ser interpretados com cuidado. Num bom ano de chuvas, os resultados poderiam ser algo diferentes: estes mostraram uma grande dependência de massas de água presentes (charcos e ribeiras) - sendo anfíbios é um resultado esperado, pois num ano seco a sua dependência por estas áreas foi salientada. No entanto, se este trabalho fosse repetido num bom ano de chuvas, com muita humidade disponível além da água disponível nos charcos e ribeiras, os resultados talvez pudessem mostrar melhor a importância das manchas de vegetação terrestres circundantes, como matos e bosquetes, na dispersão destes animais. A abundância, riqueza e diversidade de espécies foram tendencialmente mais elevadas na presença de HNRs, embora sem significância estatística, talvez com mais humidade e água das chuvas os resultados se tornassem significativos.

Embora a partição de variância tenha explicado mais de 50% dos resultados obtidos, 48% não foram explicados por estas variáveis (resíduos). Seria interessante perceber se num bom ano de chuva a explicação das variáveis pela análise de partição de variância seria diferente ou que outras variáveis poderão estar a influenciar a comunidades de anfíbios presente e considerar a inclusão de outras variáveis não consideradas neste trabalho.

### **4.3. Medidas de conservação**

É importante referir o impacto das alterações globais num trabalho realizado no Alentejo Central, uma das regiões previsíveis de ser das mais afetadas pelas alterações climáticas, aliada às alterações de uso de solo tornando-se assim numa das regiões mais propícias à desertificação (Roxo, 2023). De acordo com esta autora, desertificação significa “uma perda de

fertilidade dos solos, por má utilização a que se associam condições climatéricas desfavoráveis para a sua recuperação natural". As alterações do uso de solo do Alentejo são na sua maioria tendentes à intensificação dos cultivos como por exemplo olivais e vinhas, paisagem típicas desta regiões. Sendo que os anfíbios são animais dependentes de água, é crucial conservar e restaurar os charcos e ribeiras temporárias que existem e até criar charcos artificiais com os devidos cuidados e características para que os beneficiários não sejam apenas as espécies generalistas. É também importante criar e manter uma boa gestão da água.

Neste trabalho ficou comprovada a importância de diferentes características de habitats para espécies diferentes, tais como o hidroperíodo, época de reprodução, e micro-habitats necessários durante as épocas de inatividade entre muitas outras. É importante reconhecer estas diferenças de habitat para cada espécie de modo a haver o máximo de informações possíveis para tomar as melhores decisões no caso de ser preciso fazer ações de conservação de espécies ou restauração de habitats.

Inclusive, os HNRs estudados neste trabalho, estão todos ameaçados de alguma forma, seja por causa das alterações climáticas, ex. charcos temporários e as ribeiras das galerias ripícolas que têm secado cada vez mais cedo ou, através da agricultura intensiva ex. manchas de matos, bosquetes e pequenos afloramentos rochosos que são retirados para os bovinos terem mais área de pasto causando perda de biodiversidade (Hunter *et al.* 2017).

Para restaurar ou criar habitats como ações de conservação para os anfíbios é necessário continuar a pesquisar e investigar quais os micro-habitats que as espécies ibéricas usam e quando os usam, de modo que os gestores consigam tomar melhores decisões e criar programas de conservação com sucesso ( Valdez *et al.* 2016). É necessário evitar uma contínua degradação de habitats e, para tal é fundamental educar o público.

## 5. Considerações finais

O objetivo principal deste trabalho foi mostrar a importância de diferentes HNRs na comunidade de anfíbios em Montado. Este foi apenas parcialmente demonstrado, revelando, uma vez mais, a importância de massas de água (charcos e ribeiras) para a presença destes animais. Ficando apenas, por comprovar a importância de manchas de vegetação terrestres como matos e bosquetes, como demonstrado por outros autores (Cline & Hunter, 2013; Couto *et al.* 2016; Guerry & Hunter, 2002; Heard *et al.* 2008; Rittenhouse *et al.* 2008). O micro-habitat, como a presença de trilhos e estradões, vegetação herbácea e a presença de água, foram as variáveis mais relevantes na comunidade de anfíbios neste trabalho, o que significa que estes animais estarão a responder a uma escala mais pequena. A presença de pequenos elementos na paisagem podem ser suficientes para que estes animais se possam deslocar, alimentar-se e refugiar-se desde que existam massas de água por perto, como charcos e ribeiras, para a reprodução. Por fim, salienta-se resultados diferentes para espécies diferentes em que há espécies mais dependentes das massas de água (ex: caudatas) e outras menos dependentes de água e mais generalistas como é o caso do sapo-corredor.

## 6. Referências bibliográficas

- Aguiar, C., Portela-Pereira, E., Aguiar, F., & Pinto-Cruz, C. (2021). Vegetação aquática, anfíbia e higrófila dulçaquícola de Portugal continental: uma introdução. In *A vegetação de Portugal* (Vol. 4, pp. 201–210).
- Aguiar, F. (2004). *Vegetação ripícola em sistemas fluviais mediterrânicos. Influência dos ecossistemas envolventes*. [Doctoral dissertation]. Instituto Superior de Agronomia.
- Albero, L., Martínez-Solano, Í., Arias, A., Lizana, M., Bécares, E., Beltrán, J. F., Abellán, P., & Litvaitis, J. (2021). Amphibian metacommunity responses to agricultural intensification in a Mediterranean landscape. <https://doi.org/10.3390/land10090924>
- ALFA. (2004). Tipos de habitat naturais e semi-naturais do anexo I da Directiva 92/43/CEE (Portugal continental): Fichas de caracterização ecológica e de gestão para o plano sectorial da Rede Natura 2000. <https://www.icnf.pt/biodiversidade/natura2000/habitats> Accessed on 22/02/23
- Anastácio, P. (2022, January). Lagostim-vermelho-da-luisiana: Este invasor já anda por Portugal há mais de 40 anos. Wilder. <https://www.wilder.pt/naturalistas/lagostim-vermelho-da-luisiana-este-invasor-ja-anda-por-portugal-ha-mais-de-40-anos/> Accessed on 22/02/23
- Anderson, M. J. (2001). A new method for no-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26, 32–46.
- Beja, P., & Alcazar, R. (2003). Conservation of Mediterranean temporary ponds under agricultural intensification: An evaluation using amphibians. *Biological Conservation*, 114(3), 317–326. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(03\)00051-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00051-X)
- Borcard, D., Legendre, P., & Drapeau, P. (1992). Partialling out the spatial component of ecological variation. *Ecology*, 73, 1045–1055.
- Caballero-Díaz, C., Sánchez-Montes, G., Butler, H. M., Vredenburg, V. T., & Martínez-Solano, Í. (2020). The Role of Artificial Breeding Sites in Amphibian conservation: A case Study in Rural Areas in central Spain. *Herpetological Conservation and Biology*, 15(1), 87–104.
- Calhoun, A. J. K., Mushet, D. M., Bell, K. P., Boix, D., Fitzsimons, J. A., & Isselin-Nondedeu, F. (2017). Temporary wetlands: challenges and solutions to conserving a “disappearing” ecosystem. *Biological Conservation*, 211, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.11.024>
- Cancela da Fonseca, L., Cristo, M., Machado, M., Sala, J., Reis, J., Alcazar, R., & Beja, P. (2008). Mediterranean temporary ponds in Southern Portugal: key faunal groups as management tools? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(3), 304–320.

- Capelo, J., & Vila-Viçosa, C. (2021). Vegetação do Alentejo. In *A vegetação de Portugal* (Vol. 4, pp. 123–133).
- Chozas, S., Tapia, S., Palmeirim, J., Alegria, C., & Correia, O. (2022). Small rocky outcrops: Natural features to promote biodiversity in oak wood-pastures. *Applied Vegetation Science*, 25(1). <https://doi.org/10.1111/AVSC.12634>
- Cline, B. B., & Hunter, M. L. (2013). Different open-canopy vegetation types affect matrix permeability for a dispersing forest amphibian. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12197>
- Collins, J. P., & Storfer, A. (2003). Global amphibian declines: sorting the hypotheses. <http://www.blackwellpublishing.com/journals/ddi>
- Corn, P. S., & Bury, R. B. (1990). *Sampling Procedures for Pacific Northwest Vertebrates Sampling Methods for Terrestrial Amphibians and Reptiles*.
- Couper, P. J., & Hoskin, C. J. (2008). Litho-refugia: the importance of rock landscapes for the long-term persistence of Australian rainforest fauna. *Australian Zoologist*, 34(4), 554–560.
- Couto, A. P., Ferreira, E., Torres, R. T., & Fonseca, C. (2016). Local and Landscape Drivers of Pond-Breeding Amphibian Diversity at the Northern Edge of the Mediterranean. *Herpetologica*, 73(1), 0–000.
- Cruz, M. J., Rebelo, R., Crespo Cruz, E. G., Rebelo, M. J., & Crespo, R. (2006). Effects of an introduced crayfish, *Procambarus clarkii*, on the distribution of south-western Iberian amphibians in their breeding habitats. *Ecography*, 29(3), 329–338. <https://doi.org/10.1111/j.2006.0906-7590.04333.x>
- da Silva Alves, J. M., Espírito Santo, M. D., Costa, J. C., Capelo Gonçalves, J. H., & Fernandes Lousã, M. (2009). Habitats naturais e seminaturais de Portugal Continental: tipos de habitats mais significativos e agrupamentos vegetais característicos.
- Feio, M. J., & Ferreira, V. (Eds.). (2019). *Rios de Portugal: comunidades, processos e alterações*. Imprensa da Universidade de Coimbra.
- Ferrand, N., Ferrand de Almeida, P., Gonçalves, H., Sequeira, F., Teixeira, J., & Ferrand de Almeida, F. (2001). *Guia de Anfíbios e Répteis de Portugal*. FAPAS e Câmara municipal do Porto.
- Ferreira, M., & Beja, P. (2013). Mediterranean amphibians and the loss of temporary ponds: Are there alternative breeding habitats? *Biological Conservation*, 165, 179–186. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2013.05.029>
- Fitzsimons, J. A., & Michael, D. R. (2017). Rocky outcrops: A hard road in the conservation of critical habitats. *Biological Conservation*, 211, 36–44. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2016.11.019>
- García-Muñoz, E., Gilbert, J. D., Parra, G., & Guerrero, F. (2016). Amphibian diversity as an implement for Mediterranean wetlands conservation. *Journal for Nature Conservation*, 33, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2016.08.002>

- Garnham, J. I., Stockwell, M. P., Pollard, C. J., Pickett, E. J., Bower, D. S., Clulow, J., & Mahony, M. J. (2015). Winter microhabitat selection of a threatened pond amphibian in constructed urban wetlands. *Austral Ecology*, 40(7), 816–826. <https://doi.org/10.1111/aec.12256>
- Gingras, B., Paszkowski, C., Scrimgeour, G., & Kendall, S. (1999). Comparison of sampling techniques to monitor stream amphibian communities in forested regions of Alberta.
- Godinho, S., Santos, A. P., & Sá-Sousa, P. (2011). Montado management effects on the abundance and conservation of reptiles in Alentejo, Southern Portugal. *Agroforestry Systems*, 82(2), 197–207. <https://doi.org/10.1007/S10457-010-9346-3>
- Gómez-Mestre, I. (2014). Sapo corredor-Epidalea calamita. En: Enciclopedia Virtual de Los Vertebrados Españoles. Salvador, A, Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Gómez-Rodríguez, C., Bustamante, J., Díaz-Paniagua, C., & Guisan, A. (2012). Integrating detection probabilities in species distribution models of amphibians breeding in Mediterranean temporary ponds *Diversity and Distributions*. *Diversity and Distributions*, 18, 260–272. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2011.00837.x>
- Grillas, P., Gauthier, P., Yavercovski, N., & Perennou, C. (2004). Les mares temporaires Méditerranéennes.
- Guerry, A. D., & Hunter, M. L. (2002). Amphibian Distributions in a Landscape of Forests and Agriculture: an Examination of Landscape Composition and Configuration. *Conservation Biology*, 16(3), 745–754.
- Gutiérrez-Rodríguez, J., Gonçalves, J., Civantos, E., Maia-Carvalho, B., Caballero-Díaz, C., Gonçalves, H., & Martínez-Solano, Í. (2022). The role of habitat features in patterns of population connectivity of two Mediterranean amphibians in arid landscapes of central Iberia. *Landscape Ecology*, 3. <https://doi.org/10.1007/s10980-022-01548-z>
- Heard, G., Robertson, P., & Scroggie, M. (2008). Microhabitat preferences of the endangered Growling Grass Frog *Litoria raniformis* in southern Victoria. *Australian Zoologist*, 34(3), 414–425.
- Hunter, M., Acuña, V., Bauer, D. M., Bell, K., Calhoun, A., Felipe-Lucia, M., Fitzsimons, J., González, E., Kinnison, M., Lindenmayer, D., Lundquist, C. J., Medellin, R. A., Nelson, E. J., & Poschlod, P. (2017). Conserving small natural features with large ecological roles: A synthetic overview. *Biological Conservation*, 211, 88–95. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2016.12.020>
- Instituto Português do Mar e da Atmosfera. (2022a). Boletim sazonal outono 2022. <https://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2022&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2022> Accessed on 22/09/23

- Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I. P. (2023b). Boletim sazonal primavera 2023.  
<https://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1> Accessed on 22/09/23
- IUCN. (2022). *Pelobates cultripes* (errata version published in 2022). The IUCN Red List of Threatened Species 2022: e.T58052A215385409.  
<https://www.iucnredlist.org/> Accessed on 22/04/23
- Jongman, R. H., ter Braak, C. J. F., & van Tongeren, O. F. R. (1987). *Data analysis in community and landscape ecology*. Pudoc.
- Kondolf, G. M., Kattelman, R., Embury, M., & C. Erman, D. (1996). Status of riparian habitat. Sierra Nevada Ecosystem Project: Final report to Congress, vol II, Assessments and scientific basis for management options.
- Lindgren, J. (2017). *Small Remnant Habitats: Important structures in fragmented landscapes [Doctoral dissertation]*. Stockholm University.
- Loureiro, A. (Ed.). (2010). *Atlas de anfíbios e répteis de Portugal*. Esfera do Caos.
- Márquez, R. (2017). Sapo partero ibérico - *Alytes cisternasii*. En: *Enciclopedia Virtual de Los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. . <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Márquez, R. (ed. ). (2004). *Guía sonora de las ranas y sapos de España y Portugal* .
- Martínez-Solano, I. (2014). Sapillo pintojo ibérico - *Discoglossus galaganoi*. En: *Enciclopedia Virtual de Los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. . <http://www.vertebradosibericos.org/> Accessed on 22/09/23
- Mazerolle, M. J. (2001). Amphibian activity, movement patterns, and body size in fragmented peat bogs. *Journal of Herpetology*, 35(1), 13–20.  
<https://doi.org/10.2307/1566017>
- Mesquita, S., Capelo, J., & Aguiar, C. (2021). *Bioclimatologia*. In *A Vegetação de Portugal* (Vol. 4, pp. 15–20). Imprensa Nacional.
- Moya, M., & Busack, S. D. (2014). Winter habitat for *Triturus pygmaeus*. *Boletín de La Asociación Herpetológica Española*, 25(1), 3–4.
- Muñoz-Rojas, J., Pinto-Correia, T., Thorsoe, M. H., & Noe, E. (2019). The Portuguese Montado: A complex system under tension between different land use management paradigms. In *Silvicultures - Management and Conservation* (pp. 1–20). IN-TECHOpen. [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com)
- Oksuz, D. P., Aguiar, C. A. S., Tápia, S., Llop, E., Lopes, P., Serrano, A. R. M., Leal, A. I., Branquinho, C., Correia, O., Rainho, A., Correia, R. A., & Palmeirim, J. M. (2020). Increasing biodiversity in wood-pastures by protecting small shrubby patches. *Forest Ecology and Management*, 464.  
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118041>

- Pereira, P., Godinho, C., Roque, I., & Rabaça, J. E. (2015). O montado e as aves: boas práticas para uma gestão sustentável. LabOr-Laboratório de Ornitologia/ ICAAM, Universidade de Évora. <https://www.researchgate.net/publication/277403490>
- Pinto-Correia, T., Ribeiro, N., & Potes, J. (2013). Livro Verde dos Montados (ICAAM -Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Ed.). Universidade de Évora.
- Pinto-Cruz, C., & Silva, V. (2021). Vegetação de charcos temporários. In A vegetação de Portugal (Vol. 4, pp. 217–224).
- Poschlod, P., & Braun-Reichert, R. (2017). Small natural features with large ecological roles in ancient agricultural landscapes of Central Europe - history, value, status, and conservation. *Biological Conservation*, 211, 60–68. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2016.12.016>
- Price, M. (2013). High Nature Value Farming in Europe: 35 European Countries—Experiences and Perspectives. <https://doi.org/10.1659/Mrd.Mm126>, 33(4), 480–481. <https://doi.org/10.1659/MRD.MM126>
- Ramsar. (1971). The Ramsar Convention on Wetlands of International Importance especially as Waterfowl Habitat.
- Recuero, E. (2014). Pelobates cultripes. En: enciclopedia Virtual de los vertebrados Espanoles. Salvador, A., Martínez Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>. Accessed on 25/09/23
- Reques, R. (2014). Sapillo moteado ibérico - Pelodytes ibericus. En Enciclopedia Virtual de Los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/> Accessed on 15/05/23
- Ribeiro, J., & Rebelo, R. (2011). Survival of Alytes cisternasii tadpoles in stream pools: A capture-recapture study using photo-identification. *Amphibia Reptilia*, 32(3), 365–374. <https://doi.org/10.1163/017353711X584186>
- Rittenhouse, T. A. G., Harper, E. B., Rehard, L. R., & Semlitsch, R. D. (2008). The role of microhabitats in the desiccation and survival of anurans in recently harvested oak-hickory forest. *Copeia*, 4, 807–814. <https://doi.org/10.1643/CH-07-176>
- Rittenhouse, T. A. G., & Semlitsch, R. D. (2007). Distribution of amphibians in terrestrial habitat surrounding wetlands. *Wetlands*, 27(1), 153–161.
- Romero, D., & Real, R. (2008). Emplazamiento de juveniles de Triturus pygmaeus (Wolterstorff, 1905) durante la época estival, en una charca temporal de Cádiz. *Boletín de La Asociación Herpetológica Española*, 19, 18–19.
- Roxo, M. J. (2023). Desertificação em Portugal . Fundação Francisco Manuel dos Santos.

- Roznik, E. A., & Johnson, S. A. (2009). Canopy closure and emigration by juvenile Gopher frogs. *Journal of Wildlife Management*, 73(2), 260–268. <https://doi.org/10.2193/2007-493>
- Salvador, A. (2015). Gallipato - *Pleurodeles waltl*. En: Enciclopedia Virtual de Los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/> Accessed on 28/09/23
- Schmidt, B. R., Feldmann, R., & Schaub, M. (2005). Demographic processes underlying population growth and decline in *Salamandra salamandra*. *Conservation Biology*, 19(4), 1149–1156. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00164.x>
- Sillero, N. (2014). Ranita meridional - *Hyla meridionalis*. En: Enciclopedia Virtual de Los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo de Ciencias Naturales, Madrid. . <http://www.vertebradosibericos.org/> Accessed on 28/09/23
- Simon, E., Braun, M., & Tóthmérész, B. (2011). Frogs and toads as biological indicators in environmental assessment. In *Frogs: Biology, ecology and uses* (pp. 141-150.). <https://www.researchgate.net/publication/286071010>
- Simonson, W. D., Allen, H. D., Parham, E., de Basto e Santos, E., & Hotham, P. (2018). Modelling biodiversity trends in the montado (wood pasture) landscapes of the Alentejo, Portugal. *Landscape Ecology*, 33(5), 811–827. <https://doi.org/10.1007/s10980-018-0627-y>
- Sousa, J. (2021). Anfíbios do Algarve: fauna e flora do Algarve (L. G. Sousa, Ed.; 2a ed.). Almargem - Associação de Defesa do Património Cultural e Ambiental do Algarve.
- Sousa, L. (2015). Conservação de charcos temporários mediterrânicos sob manejo agrícola: uma avaliação usando anfíbios [Master's Thesis]. Universidade de Évora.
- Valdez, J., Klop-Toker, K., Stockwell, M. P., Clulow, S., Clulow, J., & Mahony, M. J. (2016). Microhabitat selection varies by sex and age class in the endangered green and golden bell frog *Litoria aurea*. *Australian Zoologist*, 38(2), 223–234. <https://doi.org/10.7882/AZ.2016.031>
- Valdez, J. W., Klop-Toker, K., Stockwell, M. P., Fardell, L., Clulow, S., Clulow, J., & Mahony, M. J. (2017). Differences in microhabitat selection patterns between a remnant and constructed landscape following management intervention. *Wildlife Research*, 44(3), 248–258. <https://doi.org/10.1071/WR16172>
- Velo-Antón, G., & Buckley, D. (2015). Salamandra común-*Salamandra salamandra* . En: Enciclopedia Virtual de Los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Martínez-Solano, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/> Accessed on 20/09/23

- Vitt, L. J., & Caldwell, J. P. (2013). *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic press.
- Wake, D. B., & Koo, M. S. (2018). Amphibians. *Current Biology*, 28(21), R1237–R1241. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2018.09.028>
- Walston, L. J., & Mullin, S. J. (2008). Variation in amount of surrounding forest habitat influences the initial orientation of juvenile amphibians emigrating from breeding ponds. *Canadian Journal of Zoology*, 86(2), 141–146. <https://doi.org/10.1139/Z07-117>
- Youngquist, M. B., & Boone, M. D. (2014). Movement of amphibians through agricultural landscapes: The role of habitat on edge permeability. *Biological Conservation*, 175, 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.04.028>