

# PLANO DE ERRADICAÇÃO DE *XENOPUS LAEVIS* NAS RIBEIRAS DO CONCELHO DE OEIRAS

RELATÓRIO ANO I (2010)



## **PLANO DE ERRADICAÇÃO DE *XENOPUS LAEVIS* NAS RIBEIRAS DO CONCELHO DE Oeiras**

### **Coordenação**

Mário Silva (ICNB)

### **Responsável científico**

Rui Rebelo (CBA/FCUL)

### **Execução**

Ângela Maurício, Domingos Leitão, João Constâncio e Nicolau Ser (CMO)

Mónica Sousa e João Paulo Lopes (ICNB)

Rui Rebelo e Priscila do Vale (CBA/FCUL)

### **Trabalho laboratorial**

Priscila do Vale (CBA/FCUL)

### **Colaboração**

Élio Sucena (IGC)

### **Para efeitos bibliográficos o presente relatório deve ser citado da seguinte forma:**

Rebelo R, Vale P & Sousa M (2010) *Plano de erradicação de Xenopus laevis nas ribeiras do concelho de Oeiras*. Relatório Ano I (2010). Centro de Biologia Ambiental da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade. 33 pp.

# Índice

## INTRODUÇÃO

### MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

Amostragem

Remoção de posturas e girinos

Remoção de adultos

Tratamento resultados

Ensaio para a detecção do fungo patogénico *Batrachochytrium dendrobatidis*

### RESULTADOS

Remoção de posturas e girinos

Remoção de adultos

*Sex ratio*

Tamanho corporal

Ensaio para a detecção do fungo patogénico *Batrachochytrium dendrobatidis*

### DISCUSSÃO

Distribuição e efectivos da espécie nas duas ribeiras

Métodos de captura

*Sex ratio*

Estrutura de tamanhos

Implicações para o ano II do plano de erradicação

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### ANEXOS

Anexo 1. Registo das coordenadas rectangulares de cada um dos locais de amostragem

Anexo 2. Número de armadilhas colocadas em cada local/etapa

Anexo 3. Duração das acções de pesca eléctrica

Anexo 4. Número de indivíduos de *X. laevis* capturados por local em cada etapa

Anexo 5. Tamanho corporal dos espécimes capturados pelos diferentes métodos

Anexo 6. Valores médios e desvios-padrão (s.d.) de SUL dos exemplares de *X. laevis* capturados em 2007 e 2010 no Jardim do Marquês Pombal e no Bairro da Laje

Anexo 7A. Profundidade média (cm) dos locais amostrados na ribeira da Laje

Anexo 7B. Profundidade média (cm) dos locais amostrados na ribeira de Barcarena

## INTRODUÇÃO

No âmbito do protocolo existente entre o Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade, I.P. (ICNB), o Município de Oeiras (CMO), o Centro de Biologia Ambiental da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (CBA/FCUL) e o Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC), foi elaborado um plano que tem como objectivo o controlo/erradicação de *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), rã-de-unhas-africana, nas ribeiras da Laje e de Barcarena, e a sua despistagem em cursos de água adjacentes.

*Xenopus laevis*, vulgarmente designada de rã-de-unhas-africana, é um anfíbio da família Pipidae, endémico de África, das regiões subsarianas mais frias, onde pode ser encontrado em todos os tipos de corpos de água doce (Tinsley *et al.* 1996). Os adultos são quase inteiramente aquáticos e possuem diversas adaptações morfológicas e sensoriais a este modo de vida, sendo o período de actividade máxima nocturno (Harada *et al.* 1998). As fêmeas podem medir entre 110 a 130 mm de comprimento, e os machos são entre 10% a 30% menores do que as fêmeas (Kobel *et al.* 1996).

Durante as décadas de 1940 e 1950 estes animais foram utilizados em diagnósticos de gravidez humana, após a descoberta de que a urina de uma mulher grávida induzia a produção de ovos nas fêmeas de *X. laevis* (Tinsley & McCoid 1996, Gurdon 1996). Esta espécie começou assim a ser utilizada em todo o mundo, sendo que a distribuição actual de *X. laevis* engloba quatro das cinco regiões com clima mediterrânico do mundo - África do Sul, sudoeste da Califórnia, Chile, Portugal - e ainda o Reino Unido, outros nove estados dos Estados Unidos, França, Indonésia, México (IUCN 2006), Alemanha, Holanda, Ilha da Ascensão (Atlântico sul) (Tinsley & McCoid 1996) e Israel (Hatzofe 2006). Recentemente foi conhecida a sua presença no Brasil (RAN 2009) e na Sicília (Faraone *et al.* 2008).

Em comparação com outras espécies de anfíbios é uma espécie ecologicamente distinta: pode sobreviver por longos períodos sem água e/ou sem alimento, alimenta-se debaixo de água, detectando as presas através do olfacto e pode alimentar-se inclusive dos seus próprios girinos, filtradores de plâncton. Possui grande tolerância a variações de temperatura, uma extensa época de reprodução, uma elevada fertilidade e uma longevidade que pode ultrapassar os 20 anos (Tinsley & McCoid 1996). Todas estas características facilitam a sua utilização para pesquisas em laboratório e o seu comércio como animal de companhia, mas também facilitam a sobrevivência das populações introduzidas em novos ambientes. Acresce ainda que as populações de *Xenopus* passam geralmente despercebidas, já que são quase exclusivamente aquáticas com actividade nocturna, e produzem muito poucos sons.

Vários estudos têm demonstrado o crescimento das populações de *X. laevis* em diferentes regiões do mundo, assim como os seus impactos (Tinsley & McCoid 1996, Measey 1998, Lobos & Measey 2002). *X. laevis* depreda macroinvertebrados, pequenos peixes e anfíbios (Lafferty & Page 1997), além de causar impactos indirectos, tais como o aumento da turbidez da água e a liberação de nutrientes, ocasionados pela perturbação do sedimento, o que pode originar mudanças na dinâmica dos próprios ecossistemas aquáticos (Lobos & Measey 2002). Um outro impacto de extrema importância decorre do facto de *X. laevis* ser um vector assintomático da quitridiomiose, uma doença causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore, Pessier & Nichols, 1999), a qual é fatal para as espécies de anfíbios de todo o mundo, com algumas excepções, como o próprio *X. laevis* e outras espécies africanas, que parecem ser imunes à doença (Weldon *et al.* 2004).

Foram já realizadas algumas tentativas de erradicação de populações de *X. laevis* em vários países; porém a maioria fracassou. Há o registo de duas erradicações com sucesso: i) numa pequena população isolada que habitava um lago artificial, na Universidade da Califórnia, no qual foi aplicada uma substância tóxica (Tinsley & McCoid 1996); ii) na Carolina do Norte, onde a erradicação envolveu uma acção física - a drenagem das lagoas no Outono – em conjugação com o aproveitamento das condições ambientais - congelamento dos animais que terão migrado para terra durante o Inverno (Tinsley & McCoid 1996).

Em Portugal, a ocorrência da espécie na natureza foi pela primeira vez denunciada em Março 2006, na ribeira da Laje, por investigadores do Aquário Vasco da Gama e do Instituto Superior de Psicologia Aplicada e, em Fevereiro de 2008, na ribeira de Barcarena por uma equipa do Instituto Superior de Agronomia. De acordo com os estudos já realizados (Bernardes 2008, Amaral 2008), a população de *X. laevis* encontra-se distribuída pelas ribeiras da Laje e de Barcarena (concelho de Oeiras), incidindo na parte mais a jusante de ambas as ribeiras, a qual se localiza numa área densamente urbanizada, o que poderá dificultar a migração dos indivíduos por terra até outros ambientes aquáticos (Rebello *et al.* 2010).

Segundo Rebello *et al.* (2010) não é possível precisar a data e o local de introdução. No entanto, admite-se que possa ter sido introduzida na natureza através de fuga de animais mantidos em biotério no final da década de 1970. Existem dois laboratórios localizados na margem da ribeira da Laje e ambos mantinham, nessa época, *X. laevis* em cativeiro. No Inverno de 1979/80 a subida da ribeira da Laje provocou uma inundaçãõ da cave do laboratório localizado próximo do Jardim do Marquês de Pombal, onde os espécimes eram guardados em aquários, podendo os mesmos ter sido arrastados para a ribeira da Laje.

Relativamente à população presente na ribeira de Barcarena não existe uma explicação tão óbvia para as possíveis data e via de introdução. A área entre as duas ribeiras é, desde

a década de 1970, densamente urbanizada e com diversas rodovias e não existe até à data referência de ocorrência da espécie na ribeira temporária de Paço de Arcos, a única ribeira localizada na região entre as ribeiras de Laje e Barcarena (Rebelo *et al.* 2010).

No âmbito do plano de erradicação de *X. laevis* já referido, durante o ano de 2010 foi dado início à sua execução, sendo assim de seguida apresentados os resultados deste primeiro ano:

1. A distribuição actualmente conhecida da espécie em duas ribeiras (ribeiras da Laje e de Barcarena);
2. O sucesso das duas metodologias de captura de adultos utilizadas – armadilhagem e pesca eléctrica – quer na captura de espécimes, quer na captura de diferentes tamanhos;
3. A estrutura de tamanhos corporais e do *sex ratio* dos animais capturados em cada local e em cada ribeira;
4. A comparação entre os resultados da campanha de 2010 e os resultados de uma campanha, de menor abrangência geográfica, que decorreu em 2007;
5. Os primeiros testes para a detecção do fungo patogénico, *Batrachochytrium dendrobatidis*, nesta espécie.

São também apresentadas algumas indicações a ter em conta no segundo ano do plano de erradicação.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Área de estudo

As ribeiras da Laje e de Barcarena nascem a leste da Serra de Sintra e desaguam no estuário do Tejo, nas praias de Santo Amaro de Oeiras e Caxias, respectivamente. A ribeira da Laje percorre um total de aproximadamente 16 km, enquanto a ribeira de Barcarena percorre pouco mais de 19 km. Ambas as ribeiras integram bacias hidrográficas de áreas muito reduzidas. A distância média entre as duas ribeiras é de aproximadamente 5 km; entre elas encontra-se a bacia hidrográfica da ribeira de Porto Salvo, tendo a linha de água principal cerca de 3 km de extensão e um carácter muito temporário (figuras 1 e 2).



Figura 1 – Ribeiras da Laje e de Barcarena

Na ribeira da Laje, foram visitados todos os locais para os quais em trabalhos anteriores (Bernardes 2008, Amaral 2008) foi detectada a presença de *X. laevis*. Foram assim definidos sete pontos de amostragem com uma distância entre si de, no máximo, 1 km (figura 2), sendo de montante para jusante: Ponte de Talaíde (PT), Bairro dos Navegadores (BN), Hortas da Laje (HL), Bairro da Laje (BL), Estação Agronómica Nacional (EA), Jardim do Palácio do Marquês de Pombal (JM) e Parque Municipal de Oeiras (PM). Na ribeira de Barcarena foram também seleccionados sete pontos de amostragem, sendo de montante para jusante: Ponte de São Marcos (SM), Lugar do Bico (LB), Fábrica da Pólvora (FP), Ribeira-a-Baixo (RA), Quinta Nossa Senhora da Conceição (NS), Pedreira Italiana (PI) e Murganhal (MU).

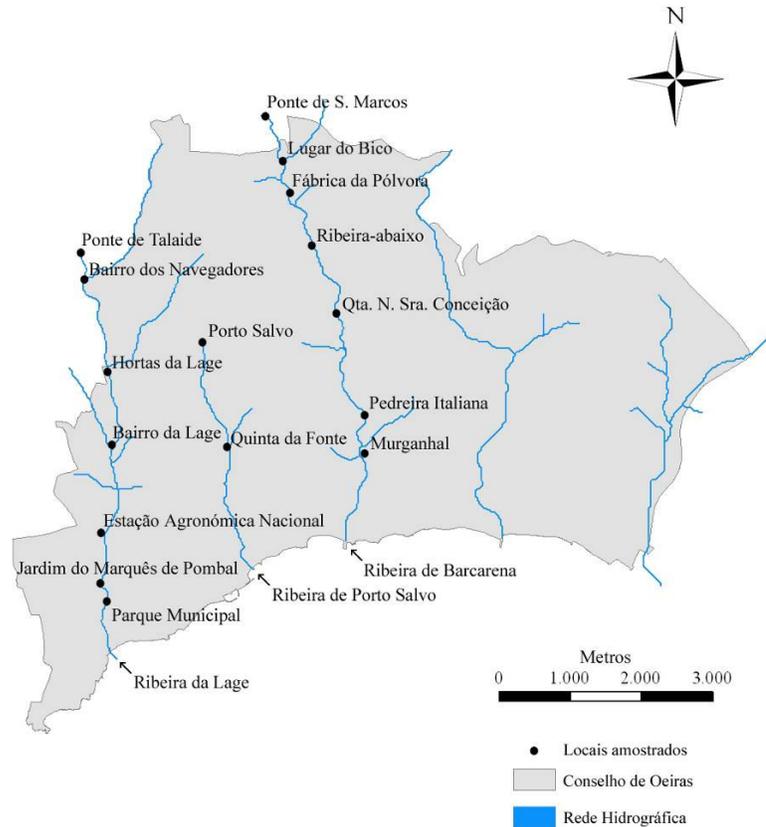


Figura 2 – Localização dos pontos de amostragem no concelho de Oeiras

Finalmente foi também feita a prospeção da ribeira de Porto Salvo; porém, na época em que foi prospectada (Maio), a mesma apenas apresentou algum caudal em dois locais (Porto Salvo e Quinta da Fonte) (figura 3).



Figura 3 - Ribeira de Porto Salvo

## Amostragem

Em 2010 o plano de erradicação envolveu três etapas, que tiveram lugar ao longo de cinco semanas de capturas, que decorreram entre os meses de Maio e Setembro, sobrepondo-se assim à época do ano em que *X. laevis* está mais activa (Abril a Setembro) (Bernardes 2008). Assim, a primeira etapa decorreu entre 17 e 28 de Maio e a segunda etapa decorreu entre 28 de Junho e 9 de Julho. A terceira etapa, com uma duração de apenas cinco dias, decorreu entre 30 de Agosto e 3 de Setembro.

As extensões de ribeira percorridas e nas quais se procedeu a capturas de *X. laevis* em cada um dos pontos de amostragem está indicada na tabela 1. As mesmas correspondem a cerca de 10% da extensão total da ribeira da Laje e a 6% da ribeira de Barcarena. O registo das coordenadas rectangulares de cada um dos locais de amostragem foi realizado através do Sistema de Posicionamento Global (GPS) eTrex da Garmin, encontrando-se as mesmas listadas no anexo 1 para a projecção Datum WGS 1984 Zone 29N. Em cada local de amostragem procedeu-se à medição da profundidade em cinco a 10 pontos.

Tabela 1. Extensão percorrida (m) nos locais amostrados

	Local	Distância (m)
Ribeira da Laje	Ponte Talaíde (PT)	50
	Bairro dos Navegadores (BN)	200
	Hortas da Laje (HL)	100
	Bairro da Laje (BL)	500
	Estação Agronómica Nacional (EA)	300
	Jardim Palácio do Marquês Pombal (JM)	350
	Parque Municipal de Oeiras (PM)	150
	<b>Total</b>	<b>1650</b>
Ribeira de Barcarena	Ponte de S. Marcos (SM)	250
	Lugar do Bico (LB)	100
	Fábrica da Pólvora (FP)	150
	Ribeira-a-Baixo (RA)	250
	Quinta N. Sra. Conceição (NS)	150
	Pedreira Italiana (PI)	100
	Murganhal (UM)	100
	<b>Total</b>	<b>1100</b>

### Remoção de posturas e girinos

As posturas de *X. laevis* foram identificadas de acordo com as suas características: ovos claros, com um diâmetro aproximado de 1,3 mm (Kobel *et al.* 1996) e revestidos por gelatina transparente, dispostos individualmente ou em pequenos grupos (figura 4).

Todas as posturas e girinos de *X. laevis* detectados foram removidos do leito para a margem, com o auxílio de camaroeiro, de modo a impedir a possibilidade de sobrevivência. Apenas alguns girinos foram levados para o laboratório para identificação dos estádios de desenvolvimento.



Figura 4 – Posturas e girinos de *X. laevis*

### Remoção de adultos

Na primeira etapa (Maio de 2010), e com vista à detecção de adultos nos vários locais amostrados, foram utilizadas armadilhas de funil iscadas com comida enlatada para gato. As armadilhas foram construídas a partir de garrafões de água de 5 litros, aos quais se cortou e inverteu o topo, encaixando-o depois na base. Cada armadilha foi atada a uma estrutura fixa na margem e imersa no corpo de água, preferencialmente junto ao fundo, em zonas com pouca corrente (pegos) e com a abertura orientada para o sentido contrário à corrente de

água (figura 5). O número de armadilhas utilizadas variou consoante as características do local, nomeadamente as dimensões dos pegos de cada ribeira (anexo 2).

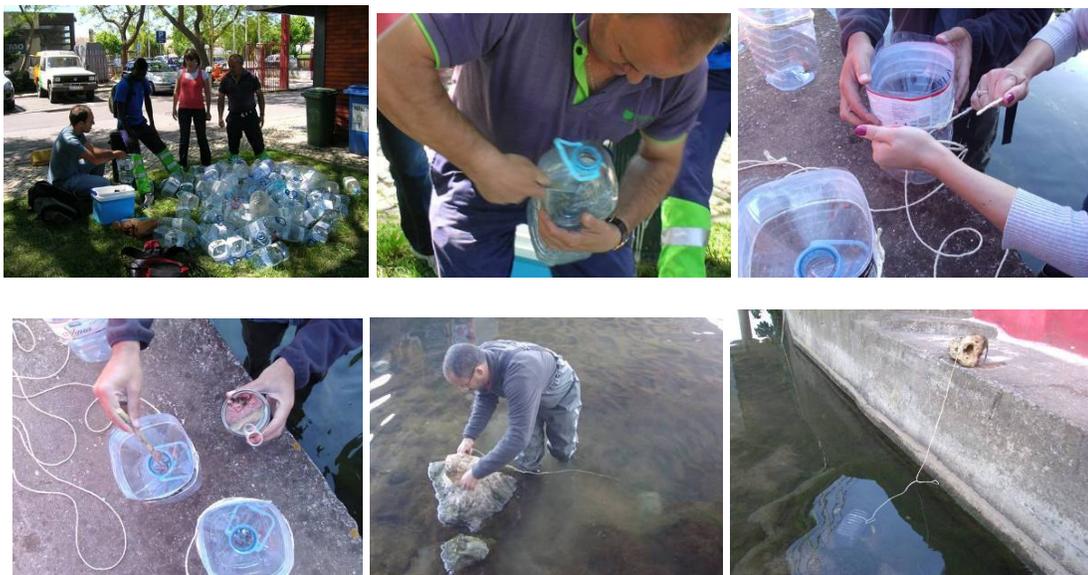


Figura 5 – Preparação e colocação das armadilhas

Na segunda etapa (terceira e quarta semanas em Junho/Julho) a captura de adultos de *X. laevis* foi complementada com a realização de pesca eléctrica, no dia 5 de Julho no Bairro dos Navegadores e no dia 7 de Julho no Jardim do Marquês de Pombal.

A terceira etapa foi realizada apenas durante uma semana no início de Setembro, somente com recurso à pesca eléctrica e apenas em alguns dos locais anteriormente visitados (aqueles onde tinham sido encontrados adultos de *X. laevis* nas duas primeiras etapas).

Para a pesca eléctrica foram utilizados dois equipamentos diferentes: um aparelho fixo GX 140 (EL62, 5,0HP), com gerador de corrente contínua a operar na margem e um aparelho de transporte dorsal SAMUS-725GN (PDC) com bateria, a operar com corrente alterna, com uma frequência de 30Hz (figura 6). A duração dos períodos de pesca variou em função da extensão e profundidade dos troços percorridos (anexo 3).



Figura 6 – Captura de *X. laevis* com recurso a equipamento de pesca eléctrica (com gerador a operar na margem e com aparelho de transporte dorsal com bateria)

Todos os indivíduos de *X. laevis* capturados foram colocados em sacos individuais devidamente identificados, transportados em geleiras e sacrificados por congelamento em arcas frigoríficas no período máximo de uma noite após a sua captura. A cada animal foi medido o comprimento entre o focinho e o uróstilo (*snout-urostyle length* - SUL) até aos 0,01 mm; posteriormente os animais foram armazenados em álcool a 75%, com vista ao seu depósito nas coleções do Museu Nacional de História Natural – Museu Bocage.

O sexo foi determinado pela existência de caracteres sexuais secundários nos machos, tais como almofadas nupciais, apresentando-se como uma coloração mais escura na zona interna dos membros anteriores (Bernardes 2008). Observou-se também que as fêmeas apresentavam extensões da cloaca, tal como descrito por Measey (2001). Os juvenis (animais pequenos e sem caracteres sexuais secundários) foram dissecados para identificação do sexo, verificando-se se havia ou não ovários e/ou ovos na cavidade abdominal (figura 7).



Figura 7 – *X. laevis*: a) adulto; b) fêmea; c) macho (coloração mais escura nos membros anteriores); d) membros posteriores com garras queratinizadas

### Tratamento de resultados

Os resultados são apresentados como média $\pm$ 1 desvio padrão. O *sex ratio* foi calculado utilizando a fórmula: número de fêmeas/machos.

Uma vez que o esforço de captura variou consoante os locais, para uma correcta representação gráfica dos resultados estes foram expressos em capturas por unidade de esforço – armadilha, no caso das capturas com armadilhas de funil e minuto, no caso das capturas realizadas com pesca eléctrica.

Apresenta-se também a comparação entre a estrutura de tamanhos e o *sex ratio* dos espécimes colhidos em 2007, em dois locais da ribeira da Laje (Bernardes 2008), com os parâmetros correspondentes nas capturas de 2010, tendo para o efeito sido utilizados apenas os resultados obtidos em locais com mais do que uma captura.

Os tamanhos corporais dos adultos foram estatisticamente comparados, com recurso a testes *t*; o *sex ratio* de diferentes grupos foi comparado com recurso a testes de qui-quadrado. Dada a diferença óbvia de tamanhos corporais entre sexos, os mesmos não foram comparados.

O sucesso da campanha de remoção de adultos na diminuição do efectivo de *X. laevis* em ambas as ribeiras foi avaliado com um teste de correlação de *Spearman* entre os números de animais capturados e o índice de ordem de cada semana de captura.

### **Ensaio para a detecção do fungo patogénico *Batrachochytrium dendrobatidis***

A detecção do fungo patogénico *Batrachochytrium dendrobatidis* em espécimes de *X. laevis* capturados na área de estudo, foi realizada nas instalações do Departamento de Biologia Vegetal da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, e contou com a colaboração da Professora Doutora Maria Filomena Caeiro. Para o efeito foram utilizados 19 indivíduos da ribeira da Laje e 10 da ribeira de Barcarena.

Para além de terem sido recolhidas amostras do epitélio da membrana interdigital e de ocasionais manchas corporais, cada espécime sofreu um esfregaço para recolha do “muco” superficial do corpo. Todas as amostras recolhidas foram guardadas a uma temperatura de -20°C. A obtenção de DNA foi efectuada a partir do tratamento das amostras adaptando um protocolo desenvolvido por Azevedo e Caeiro (não publicado) para PCR semidirecto de fungos marinhos.

No intuito de confirmar o sucesso da obtenção de DNA, foram utilizados primeiramente os *primers* universais LROR e LR5, que amplificam a região LSU do DNA ribossomal. Para a detecção de *B. dendrobatidis* utilizaram-se os pares de *primers* Bd1a e Bd2a, NS1 e Bd2a, BOB5 e BOB6. Os produtos purificados foram enviados para sequenciação na empresa Stabvida (<http://www.stabvida.net/frontpage/por/index.php>). Os resultados da sequenciação foram analisados através do software *BioEdit Sequence Alignment Editor* versão 7.0.5.3 e as sequências obtidas comparadas com sequências depositadas no *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) recorrendo à ferramenta *Nucleotide blast*.

## RESULTADOS

### Remoção de posturas e girinos

Foram observadas posturas e girinos de *X. laevis* em metade dos locais visitados, correspondendo principalmente às regiões mais a jusante da Laje e mais a montante de Barcarena (tabela 2 e figura 8; esta última referindo-se apenas a girinos). No entanto, apenas no Jardim do Marquês de Pombal (ribeira da Laje) foram encontrados girinos em estádios próximos da metamorfose (estádios 39 a 43; Gosner, 1960) (figura 9).

Tabela 2. Presença de posturas e girinos de *X. laevis* nos locais amostrados das ribeiras da Laje e de Barcarena. Os números apresentados referem-se a contagens reais ou estimadas (para efectivos superiores a 10)

Ribeira da	Local:	PT	BN	HL	BL	EA	JM	PM
	Laje	Posturas:	0	0	2	> 10	> 10	> 10
Girinos:		0	0	0	> 100	0	> 100	0
Ribeira de	Local:	SM	LB	FP	RA	NS	PI	MU
	Barcarena	Posturas:	0	0	0	1	10	1
	Girinos:	>100	> 100	0	0	0	3	0

**Ribeira da Laje** - PT - Ponte Talaíde; BN - Bairro dos Navegadores, HL - Hortas da Laje; BL - Bairro da Laje; EA - Estação Agronómica Nacional; JM - Jardim do Palácio do Marquês de Pombal; PM - Parque Municipal de Oeiras; **Ribeira de Barcarena** - SM Ponte de São Marcos; LB - Lugar do Bico; FP - Fábrica da Pólvora; RA - Ribeira-a-Baixo; NS - Quinta Nossa Senhora da Conceição; PI - Pedreira Italiana; MU - Murganhal.

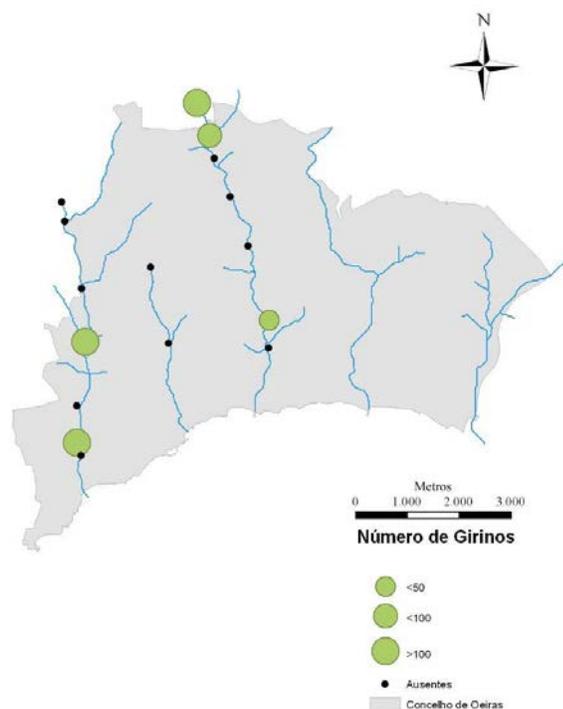


Figura 8. Abundância de girinos de *X. laevis* (número estimado de animais observados) em cada local amostrado das ribeiras da Laje e de Barcarena.



Figura 9 – Girino de *X. laevis* em estágio de desenvolvimento próximo da metamorfose (E41-Gosner, 1960).

### Remoção de adultos

No total foram capturados 102 *X. laevis*, 86 na ribeira da Laje e 16 na ribeira de Barcarena (anexo 4).

Na ribeira da Laje, foi no Jardim do Marquês de Pombal que se registou o maior número de capturas (63). Na ribeira de Barcarena o maior número de capturas foi efectuado em Ponte de S. Marcos e Ribeira-a-Baixo (cinco adultos em cada local) (tabela 3).

Tabela 3. Número de indivíduos de *X. laevis* capturados em cada local, com distinção entre sexos

Local:		PT	BN	HL	BL	EA	JM	PM
<b>Ribeira da Laje</b>	Machos:	0	8	0	8	0	42	0
	Fêmeas:	0	2	0	4	1	21	0
	Total	0	10	0	12	1	63	0
Local:		SM	LB	FP	RA	NS	PI	MU
<b>Ribeira de Barcarena</b>	Machos:	1	3	1	4	1	0	0
	Fêmeas:	4	1	0	1	0	0	0
	Total	5	4	1	5	1	0	0

**Ribeira da Laje** - PT - Ponte Talaíde; BN - Bairro dos Navegadores, HL - Hortas da Laje; BL - Bairro da Laje; EA - Estação Agronómica Nacional; JM - Jardim do Palácio do Marquês de Pombal; PM - Parque Municipal de Oeiras; **Ribeira de Barcarena** - SM Ponte de São Marcos; LB - Lugar do Bico; FP - Fábrica da Pólvora; RA - Ribeira-a-Baixo; NS - Quinta Nossa Senhora da Conceição; PI - Pedreira Italiana; MU - Murganhal.

Na tabela 4 encontra-se identificado o número de animais capturados nas ribeiras da Laje e de Barcarena através dos diferentes métodos de captura.

Tabela 4. Número de animais capturados nas ribeiras da Laje e de Barcarena por diferentes métodos de captura

Método		1ª semana (Maio)	2ª semana (Maio)	3ª semana (Julho)	4ª semana (Julho)	5ª semana (Setembro)	Total
<b>Ribeira Laje</b>	Armadilhas	10	19	14	9	-	52
	Pesca eléctrica	-	-	-	21	13	34
<b>Ribeira Barcarena</b>	Armadilhas	0	0	4	10	-	14
	Pesca eléctrica	-	-	-	0	2	2
<b>Total</b>		<b>10</b>	<b>19</b>	<b>18</b>	<b>40</b>	<b>15</b>	<b>102</b>

“-“ indica a não utilização do método de captura indicado

Os números de capturas por unidade de esforço obtidos a partir das capturas com armadilhas foram semelhantes nas duas ribeiras (figura 10), mas os obtidos a partir das capturas com pesca eléctrica foram maiores na ribeira da Laje, especialmente no Jardim do Marquês de Pombal (figura 11).

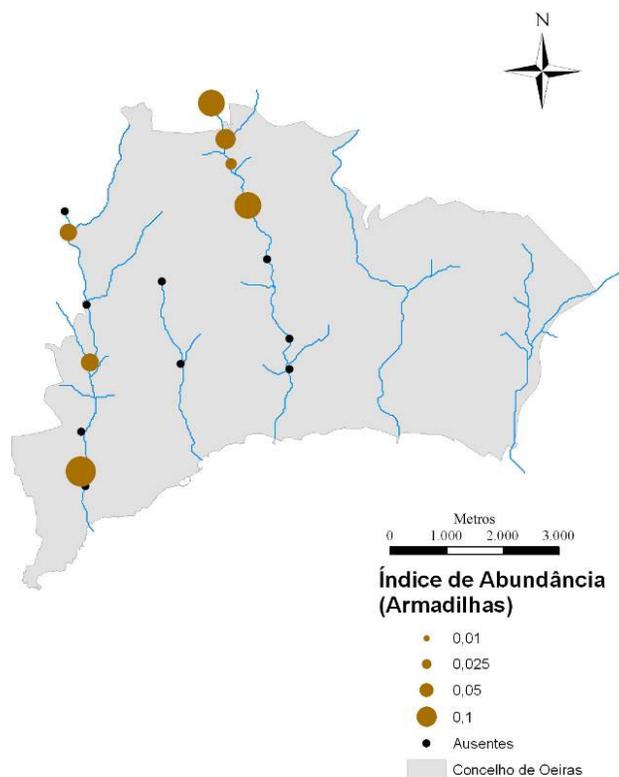


Figura 10. Números de adultos capturados por armadilha e por dia em cada local amostrado e no total das 5 sessões

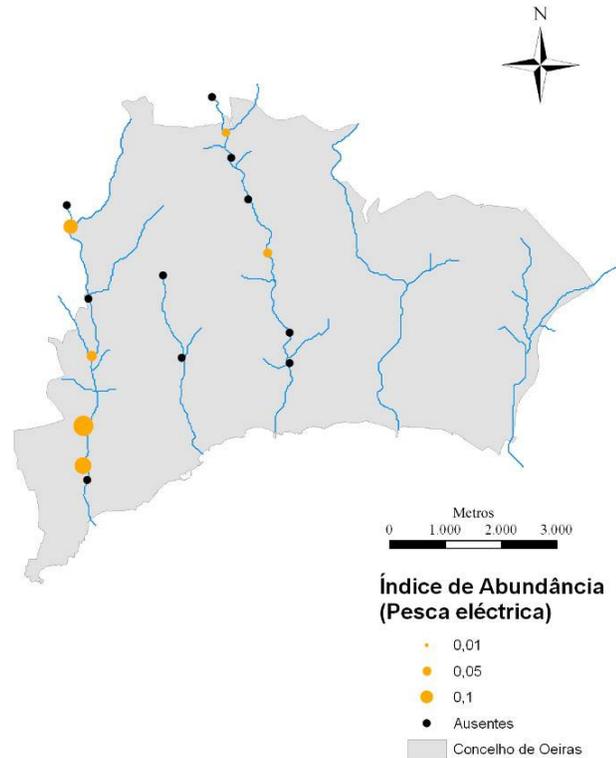


Figura 11. Números de adultos capturados por minuto de pesca eléctrica em cada local amostrado e no total das 5 sessões

### **Sex ratio**

O *sex ratio* do total da amostra não foi equilibrado, correspondendo a 0,5 fêmeas por macho. Este padrão foi essencialmente devido às capturas realizadas na ribeira da Laje, onde o *sex ratio* total foi de 0,5, com o *sex ratio* dos animais capturados com armadilhagem (0,5) superior ao dos animais capturados com pesca eléctrica (0,4). Na ribeira de Barcarena o *sex ratio* foi de 0,6. Nesta ribeira o *sex ratio* dos animais capturados com armadilhagem (0,6) foi inferior ao das capturas com pesca eléctrica (1, referindo-se no entanto apenas à captura de dois animais). De um modo geral, é reduzida a diferença do *sex ratio* das capturas com armadilhas e com pesca eléctrica (tabela 5). A figura 12 mostra o *sex ratio* do total das capturas em cada ponto amostrado. É de notar que apenas em um local (Ponte de S. Marcos), houve um desequilíbrio do *sex ratio* em favor das fêmeas.

Tabela 5. Número de indivíduos de *X. laevis* capturados nas ribeiras da Laje e de Barcarena, através de armadilhagem e pesca eléctrica, com distinção entre sexos e indicação do sex ratio.

	<b>Método</b>	<b>Fêmeas</b>	<b>Machos</b>	<b>Sex ratio</b>
<b>Laje</b>	Armadilha	18	34	0,5
	Pesca Eléctrica	10	24	0,4
	<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>58</b>	<b>0,5</b>
<b>Barcarena</b>	Armadilha	5	9	0,6
	Pesca Eléctrica	1	1	1,0
	<b>Total</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>0,6</b>
<b>Laje + Barcarena</b>	Armadilha	23	43	0,5
	Pesca Eléctrica	11	25	0,4
	<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>68</b>	<b>0,5</b>

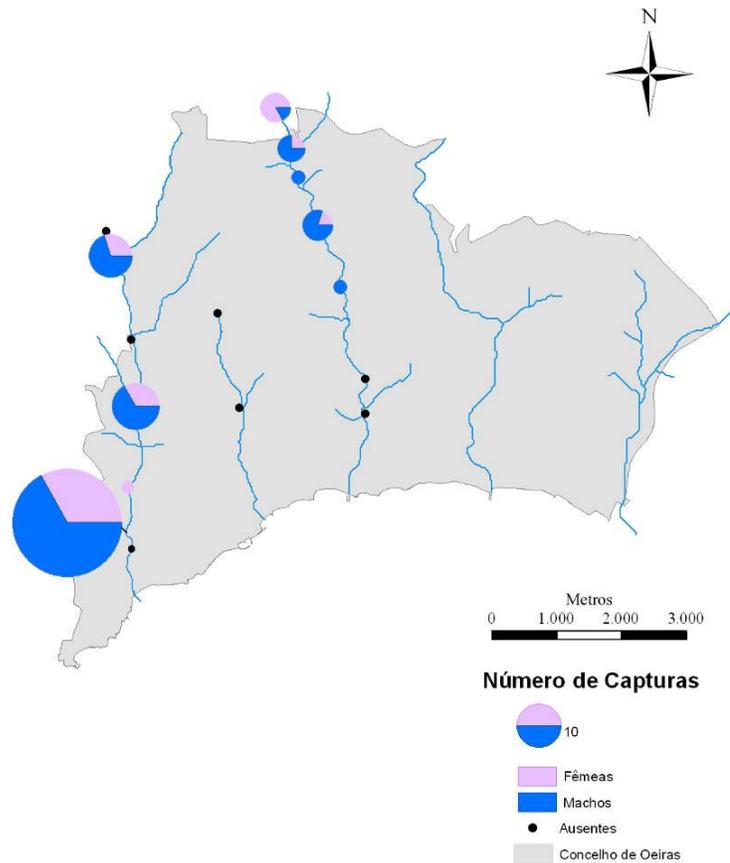


Figura 12. Sex ratio do total dos animais capturados em cada ponto de amostragem e no total das cinco sessões. O diâmetro dos círculos é proporcional ao número de capturas.

Houve diferenças no *sex ratio* das amostras colhidas na ribeira da Laje em 2007 e 2010. Assim, enquanto no Bairro da Laje o *sex ratio* foi desequilibrado, favoravelmente ao número de machos nos dois anos, no Jardim do Marquês de Pombal houve uma inversão neste índice – de um número superior de fêmeas em 2007 passou-se para um número superior de machos em 2010 (tabela 6).

Tabela 6. *Sex ratio* das amostras de *X. laevis* capturadas no Jardim do Marquês de Pombal e no Bairro da Laje, na ribeira da Laje em 2007 (Bernardes 2008) e na campanha de 2010

	Ano	Fêmeas	Machos	Sex ratio
<b>Jardim Marquês Pombal</b>	2007	21	16	1,31
	2010	21	42	0,50
<b>Bairro da Laje</b>	2007	3	18	0,17
	2010	4	8	0,50

### Tamanho corporal (SUL)

Para os cálculos de tamanho corporal que seguidamente se apresentam, não foram contabilizados três indivíduos juvenis - um macho com 56,8 mm e duas fêmeas (70,28 e 70,68 mm), nem os nove espécimes em estado de decomposição avançada. Assim, considerando apenas os animais com caracteres sexuais secundários, na ribeira da Laje o SUL<sup>1</sup> médio das fêmeas ( $94,83 \pm 9,74$  mm; n=21, variando entre 80,00 e 118,01 mm), foi maior que o dos machos ( $73,87 \pm 4,72$  mm; n=53, variando entre 64,37 e 81,00 mm). Na ribeira de Barcarena, também as fêmeas tiveram um SUL médio superior ( $93,20 \pm 1,83$  mm; n=2, variando entre 91,90 e 94,49 mm), em relação aos machos ( $70,36 \pm 3,77$  mm; n=6, com variação entre 66,56 e 76,66 mm). Estes resultados eram esperados e correspondem ao dimorfismo sexual característico desta espécie (anexo 5).

Verificou-se que os animais capturados por métodos diferentes não diferiram em tamanho corporal (machos:  $t_{57}=0,407$ ;  $p>0,05$ ; fêmeas:  $t_{21}=0,571$ ;  $p>0,05$ ), indicando não haver selectividade dos métodos de captura (figuras 13 e 14). Usando o total dos animais capturados pelos dois métodos, não houve diferenças significativas no tamanho corporal médio dos animais entre as duas ribeiras, quer para os machos ( $t_{57}=1,753$ ;  $p>0,05$ ), quer para as fêmeas ( $t_{21}=0,232$ ;  $p>0,05$ ).

<sup>1</sup> SUL - comprimento entre o focinho e o uróstilo

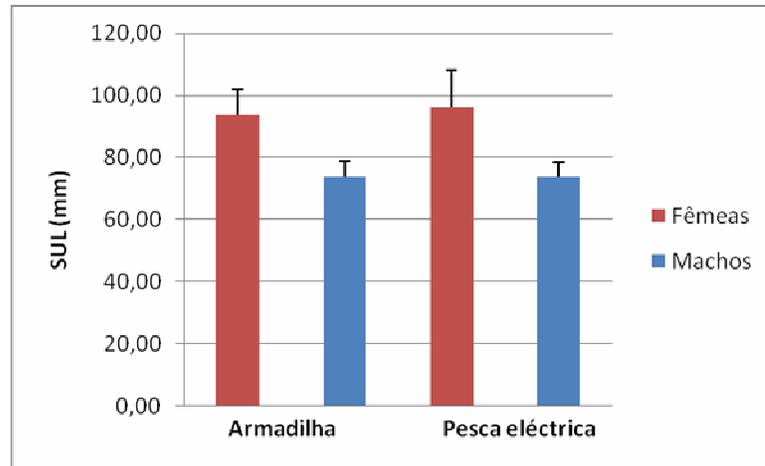


Figura 13. Tamanhos corporais (SUL, mm) dos animais capturados na ribeira da Laje, utilizando armadilhas e pesca eléctrica, com distinção entre os sexos. As barras de erro indicam o desvio-padrão.

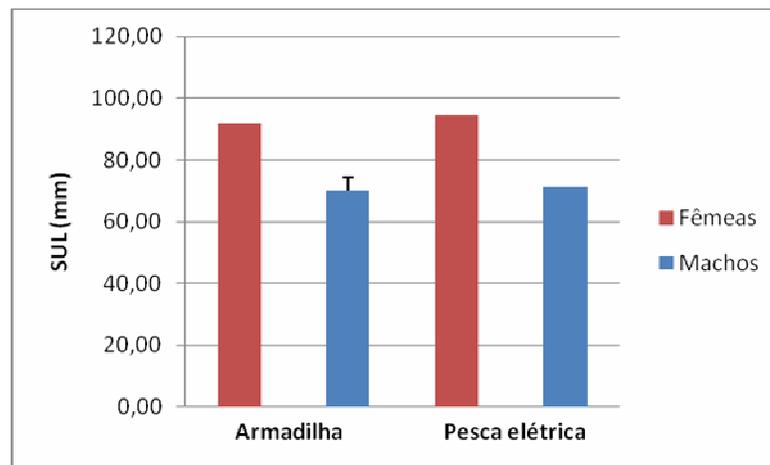


Figura 14. Tamanhos corporais (SUL, mm) do total dos animais capturados na ribeira de Barcarena, utilizando armadilhas e pesca eléctrica, com distinção entre os sexos. As barras de erro indicam o desvio-padrão.

Em comparação com os resultados obtidos em 2007, verifica-se que não houve diferenças no SUL dos machos capturados em Bairro da Laje ( $t_{21}=-0,71$ ;  $p>0,05$ ) e Jardim do Marquês de Pombal ( $t_{49}=0,44$ ;  $p>0,05$ ) entre 2007 e 2010. O mesmo aconteceu para as fêmeas em Jardim do Marquês de Pombal ( $t_{34}=0,77$ ;  $p>0,05$ ) e em BL ( $t_4=-1,08$ ;  $p>0,05$ ) (médias e desvios-padrão apresentados no anexo 6).

#### **Ensaio para a detecção do fungo patogénico *Batrachochytrium dendrobatidis***

Algumas amostras de *X. laevis* foram amplificadas em reacções de PCR com *primers* específicos para *B. dendrobatidis*. Os produtos de PCR obtidos foram sequenciados, mas não revelaram identidade com as sequências deste fungo. Os trabalhos para a detecção do fungo ainda estarão em curso durante o ano lectivo de 2010/11.

## DISCUSSÃO

### Distribuição e efectivos da espécie nas duas ribeiras

No decorrer do primeiro ano do plano de erradicação, *X. laevis* foi encontrado em várias localidades de ambas as ribeiras, incluindo locais onde ainda não tinha sido detectado previamente, nomeadamente o Bairro dos Navegadores na ribeira da Laje e todos os pontos da ribeira de Barcarena a jusante da Ponte de S. Marcos.

A espécie parece estar bem estabelecida na ribeira da Laje, com o seu maior efectivo no Jardim do Marquês de Pombal, possível local de introdução da espécie no final da década de 1970 (Rebelo *et al.* 2010). Foi neste local que se capturou o maior número de indivíduos, constituindo mais de metade das capturas. Para além disso, foi também neste local que se registaram os únicos girinos em estádios pré-metamórficos, indicadores do sucesso na produção de juvenis neste local em 2010, ao contrário do que aconteceu em 2007 (Bernardes 2008).

Relativamente à população presente na ribeira de Barcarena, a espécie revelou-se bastante rara e mais espalhada pelos diferentes locais amostrados. Essa dispersão dos indivíduos pode estar relacionada com a ausência de condições óptimas na ribeira de Barcarena, o que impossibilita a manutenção de grandes populações e/ou implica maiores deslocações dos animais ao longo da ribeira.

A partir do número total de indivíduos capturados, ainda não é possível inferir a dimensão da população de *X. laevis* nas ribeiras. Neste primeiro ano do plano de erradicação verificou-se que não houve qualquer tendência para a diminuição no número de capturas ao longo das várias sessões, o que indica que provavelmente a remoção destes animais ainda não terá tido um impacto significativo no total da população. A não diminuição das capturas ao longo das sessões de captura pode ser devida ao sucessivo início de actividade de animais que tenham permanecido escondidos durante parte da Primavera/Verão, podendo também resultar de uma grande movimentação dos animais ao longo das ribeiras, com a recolonização frequente dos locais de onde tenham sido removidos adultos. Um melhor indicador sobre o sucesso da erradicação poderá ser obtido no segundo ano, especialmente ao longo da Primavera/Verão de 2011, quando será possível a comparação das capturas entre meses correspondentes nos dois anos.

### **Métodos de captura**

Com o intuito de se conseguir capturar o maior número de animais possível foram utilizados dois métodos de captura (armadilhas e pesca eléctrica), tendo ambos os métodos revelado eficácia na remoção de animais de todos os tamanhos, tanto de machos como de fêmeas.

Em locais mais profundos, as armadilhas foram mais eficientes do que a pesca eléctrica. A relativa escassez de pegos e a baixa intensidade da corrente eléctrica (foi utilizada uma intensidade não letal para peixes de água doce) podem impossibilitar as capturas com pesca eléctrica ao longo de toda a extensão das ribeiras.

Por outro lado, os garrafões de plástico utilizados como armadilhas têm o diâmetro da entrada (gargalo) inferior à largura abdominal de algumas fêmeas, o que constituiu uma razão para a utilização de pesca eléctrica na tentativa de capturar fêmeas de maiores dimensões. Uma das hipóteses para a captura de algumas fêmeas de grandes dimensões nas armadilhas, que acabou por se verificar, pode dever-se ao facto dos animais serem atraídos pelo isco (Tinsley *et al.* 1996) e, sendo bastante maleáveis e com uma pele muito escorregadia, seja possível a passagem através de aberturas estreitas.

De referir ainda que a armadilhagem provocou a captura ocasional e acidental de outras espécies aquáticas, tendo nalguns casos conduzido à morte dos espécimes, por afogamento ou por predação. No entanto, considera-se que estas perdas – maiores no período de maior actividade das espécies aquáticas (Julho) – não constituem um impacte significativo nas respectivas populações.

### **Sex ratio**

O *sex ratio* dos espécimes capturados foi desequilibrado, com um maior número de machos. De um modo geral, uma possível explicação para este desequilíbrio poderá estar relacionada com diferenças no comportamento de cada um dos sexos, com uma maior actividade exploratória por parte dos machos (Hickman *et al.* 2001). Poderá ainda existir uma diferença na longevidade entre os dois sexos - fêmeas com menor longevidade do que os machos - e portanto um desequilíbrio natural do *sex ratio*.

Caso esta discrepância entre o número de animais de cada sexo reflecta a realidade das populações existentes, tal traduz-se numa vantagem para o seu controlo, uma vez que é mais fácil afectar o seu potencial reprodutor. Contudo, a enorme fertilidade desta espécie indica que esta vantagem não deverá ter consequências significativas. A realização prevista de estudos de esqueletocronologia permitirá avaliar qual a estrutura etária e a longevidade de cada um dos sexos nas duas ribeiras e assim compreender melhor as vantagens que eventualmente se poderão retirar nos métodos de controlo a aplicar.

Na ribeira da Laje, o maior número de machos não foi geral – em 2007 houve uma dominância de fêmeas no Jardim do Marquês de Pombal, registando-se uma inversão do sex ratio entre 2007 e 2010 neste local. O maior número de machos nos locais mais a montante (como por exemplo em Bairro da Laje) poderá estar relacionado com o facto de ser este o sexo de maior responsabilidade pela dispersão da espécie, decorrendo esta dispersão no sentido de jusante para montante. Desconhecem-se as razões para a diminuição da proporção de fêmeas em Jardim do Marquês de Pombal entre 2007 e 2010, colocando-se no entanto a hipótese dos animais de maior tamanho (em grande parte fêmeas) terem sido capturados em 2007, não tendo havido ainda tempo para a população local voltar a reequilibrar o seu sex ratio.

### **Estrutura de tamanhos**

Comparando a estrutura de tamanhos corporais entre as ribeiras, não foram encontradas diferenças significativas, quer nos machos, quer nas fêmeas. No entanto, tanto os animais de maiores dimensões como os de menores dimensões foram capturados na ribeira da Laje, o que é um indicador de uma população mais estável em termos reprodutores, representando uma estrutura mais equilibrada.

Partindo do princípio que a ocorrência de indivíduos de menores dimensões é um indicador de locais onde a reprodução ocorre com maior sucesso, então a reprodução sucederá preferencialmente em Jardim do Marquês de Pombal (jusante da ribeira). Uma vez que o tamanho dos animais aumenta para montante, este pode ser um indicador que os indivíduos mais velhos ou maiores se dispersam ou deslocam nesse sentido.

*Xenopus laevis* é uma espécie que encontra condições mais favoráveis na ribeira da Laje – mais locais com corrente fraca, maior profundidade (anexos 7A e 7B) e melhor qualidade de água - do que na ribeira de Barcarena.

### **Implicações para o ano II do plano de erradicação**

Os resultados do primeiro ano do plano de erradicação indicam que a espécie aparenta manter efectivos relativamente reduzidos, especialmente na ribeira de Barcarena. A excepção acontece nos pegos no Jardim do Marquês de Pombal (ribeira da Laje), possível local de introdução da espécie e onde vários indicadores apontam para uma população com sucesso reprodutor ao longo de vários anos. Finalmente, comparativamente aos resultados dos trabalhos efectuados em 2007, verifica-se uma expansão da espécie na ribeira da Laje para

montante e uma alteração no *sex ratio* dos animais capturados no Jardim do Marquês de Pombal, correspondente a uma diminuição do número de fêmeas.

Com os resultados obtidos até à data não é ainda possível estimar o tamanho da população em qualquer uma das ribeiras, sendo necessário dar continuidade ao esforço de remoção de indivíduos. Será também importante estender as acções de remoção à totalidade da extensão das duas ribeiras, preferencialmente com recurso a pesca eléctrica em todos os pegos e com a remoção de girinos sempre que estes sejam encontrados. A remoção de posturas é efectiva se realizada cedo (Abril), mas é pouco praticável, dada a distribuição dos ovos em pequenos grupos por várias locais das ribeiras e a possibilidade de confusão com posturas da espécie nativa *Rana* (= *Pelophylax*) *perezi*, especialmente a partir de Maio. Finalmente, é muito importante continuar a prospecção da ribeira de Barcarena para montante da Ponte de S. Marcos, e até mesmo alargar as prospecções à ribeira de Jamor, de modo a detectar possíveis locais para os quais ainda não tenha sido documentada a ocorrência da espécie.

É também de assinalar que a aparente ausência de *X. laevis* nas regiões mais a jusante da ribeira de Barcarena, assim como o *sex ratio* desequilibrado, com maior número de fêmeas na Ponte de S. Marcos (local visitado mais a montante na ribeira de Barcarena), apontam para a possibilidade de colonização terrestre da ribeira de Barcarena a partir da ribeira da Laje, nomeadamente a partir do pequeno afluente que se junta à ribeira da Laje na região do Bairro dos Navegadores e que passa pela zona recentemente edificada onde se encontra o Tagus Park.

Outras possíveis vias de introdução na ribeira de Barcarena são: o arrastamento ao longo da costa em período de preia-mar, a libertação incorrecta na natureza de espécimes comercializados em lojas de animais de companhia ou translocados da ribeira da Laje. Trata-se de hipóteses que apenas estudos pormenorizados de genética, planificados para o ano lectivo de 2011/12, poderão esclarecer, identificando a origem, comum ou não, das duas populações.

Demonstrada a capacidade da espécie em se expandir, potenciando assim os seus impactes sobre as espécies autóctones, urge a necessidade da continuação dos esforços para a sua erradicação. Apesar da reduzida qualidade da água e da artificialidade das ribeiras, os troços de água prospectados sustentam algumas comunidades biológicas de espécies autóctones que importa preservar: *Cobitis paludica* (verdemã-comum), *Iberochondrostoma lusitanicum* (boga-portuguesa), *Rana perezi* (rã-verde); *Mauremys leprosa* (cágado-mediterrânico), *Natrix maura* (cobra-de-água-viperina), *Elaphe scalaris* (cobra-de-escada) e *Coluber hippocrepis* (Cobra-de-ferradura). Acresce ainda que, tendo em conta a biologia da espécie e o facto de esta se distribuir já pelo menos por duas ribeiras diferentes, é elevado o risco de uma dispersão para outros cursos de água.

Considera-se que este primeiro ano foi fundamental para uma caracterização inicial da situação e permitiu ainda a aferição da metodologia do plano de erradicação de *X. laevis* a ter em conta nos anos subsequentes. De uma forma geral, a gestão de espécies invasoras é muito difícil, dispendiosa e requer um compromisso a longo prazo, com implicações económicas e sociais. No entanto, dadas as características da presente invasão, conjuntamente com o empenho demonstrado pelas diferentes entidades envolvidas, são de esperar resultados muito positivos no controlo do aumento e possibilidade de dispersão de *X. laevis*, contributos estes que indiciam alguma margem de sucesso no processo de erradicação desta espécie. De referir ainda que, em qualquer plano de erradicação de populações de uma espécie invasora é fundamental que se desenvolva um programa de monitorização, após a acção de erradicação, de modo a poder avaliar o sucesso do plano (Ramsey *et al.* 2009).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral M (2008) *Avaliação da população de uma nova espécie exótica em Portugal: Xenopus laevis (Amphibia: Pipidae)*. Tese de Mestrado, Universidade de Évora. 77pp.
- Bernardes M (2008) *Avaliação da população de uma nova espécie exótica em Portugal – Xenopus laevis (Daudin 1802): Biologia populacional e Fenologia*. Tese de Mestrado, Universidade de Lisboa, Departamento de Biologia Animal da Faculdade de Ciências.
- Faraone FP, Lillo F, Giancalone G, LoValvo M (2008) The large invasive population of *Xenopus laevis* in Sicily, Italy. *Amphibia-Reptilia* 29: 405–412.
- Gosner KL (1960) A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Gurdon JB (1996) Introductory comments: *Xenopus* as a laboratory animal. Pp 3-5. In Tinsley RC & Kobel HR (Eds) *The Biology of Xenopus*. Oxford: Clarendon Press.
- Harada Y, Goto M, Ebihara S, Fujisawa H, Kegasawa K & Oishi T (1998) Circadian locomotor activity rhythms in the african clawed frog, *Xenopus laevis*: the role of the eye and the hypothalamus. *Biological Rhythm Research* 29(1): 30-48.
- Hatzofe O (2006) *Invasive Species in Israel*. Israel Nature & Parks Authority internal report.
- Hickman, C. P., Roberts, L. S. & Larson, A. (2001). *Zoology: integrated principles*, 11<sup>th</sup> edition. Pp: 824-25. New York: McGraw-Hill.
- IUCN, International Union for Conservation of Nature (2006). *Conservation International, and Nature Serve, 2006\_ Global Amphibian Assessment*. <[www.globalamphibians.org](http://www.globalamphibians.org)>. Acedido a 19/05/2009.
- Kobel HR, Loumont C & Tinsley RC (1996) The extant species. Pp 9-33. In Tinsley RC & Kobel, HR (Eds.) *The Biology of Xenopus*. Oxford: Clarendon Press.
- Lafferty KD & Page CJ (1997) Predation on the endangered tidewater goby, *Eucyclogobius newberryi*, by the introduced African clawed frog, *Xenopus laevis*, with notes on the frog's parasites. *Copeia* 1997 (3): 589-592.
- Lobos G & Measey GJ (2002) Invasive Populations of *Xenopus laevis* (Daudin) in Chile. *Herpetological Journal* 12: 163-168.
- Measey GJ (1998) Diet of feral *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, U.K. *J. Zool. (Lond.)* 246: 287-298.
- Measey GJ (2001) Growth and ageing of feral *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, U.K. *J. Zool. (Lond.)* 254: 547-555.
- RAN, Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios (2009) *Espécies exóticas invasoras – O caso dos anfíbios*. IBAMA. <[http://www.icmbio.gov.br/ran/index.php?id\\_menu=143&id\\_arq=3](http://www.icmbio.gov.br/ran/index.php?id_menu=143&id_arq=3)>. Acedido a 23/07/2009.

- Rebelo R, Amaral P, Bernardes M, Oliveira J, Pinheiro P & Leitão D (2010) *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), a new exotic amphibian in Portugal. *Biological Invasions* 12: 3383–3387.
- Tinsley RC & McCoid MJ (1996) Feral populations of *Xenopus* outside Africa. Pp 81-94. In Tinsley RC. & Kobel HR (Eds.) *The Biology of Xenopus*. Oxford: Clarendon Press.
- Tinsley RC, Loumont C & Kobel HR (1996) Geographical distribution and ecology. Pp 35-59. In Tinsley RC & Kobel HR (Eds) *The Biology of Xenopus*. Oxford: Clarendon Press.
- Weldon C, du Preez LH, Hyatt AD, Muller R, & Speare R (2004). Origin of the Amphibian Chytrid Fungus. *Emerging Infectious Diseases* 10 (12): 2100-2105.

## ANEXOS

### ANEXO 1. Registo das coordenadas rectangulares de cada um dos locais de amostragem

WGS 1984 Zone 29N		
	Coord_XX	Coord_YY
<b>Ribeira da Laje</b>		
Ponte Talaíde	472243	4287316
Bairro Navegadores	472303	4286941
Hortas da Laje	472643	4285649
Bairro da Laje	472709	4284624
Estação Agronómica Nacional	472573	4283378
Jardim Marquês Pombal	472569	4282673
Parque Municipal	472656	4282415
<b>Ribeira de Barcarena</b>		
Ponte de S. Marcos	474815	4289263
Lugar do Bico	475072	4288632
Fábrica da Pólvora	475177	4288188
Ribeira-a-Baixo	475486	4287448
Qta. N. Sra. Conceição	475840	4286495
Pedreira Italiana-Lavadouro	476245	4285073
Murganhal	476253	4284536
<b>Ribeira de Porto Salvo</b>		
Rib.Porto Salvo (montante)	473970	4286073
Rib.Porto Salvo (jusante)	474320	4284608

### ANEXO 2. Número de armadilhas colocadas em cada local/etapa

	Maio 2010	Julho 2010
<b>Ribeira da Laje</b>		
Ponte de Talaíde	1	5
Bairro dos Navegadores	3	10
Hortas da Laje	3	5
Bairro da Laje	8	20
Estação Agronómica Nacional	8	20
Jardim Marquês Pombal	13	20
Parque Municipal	5	10
<b>Ribeira de Barcarena</b>		
Ponte de S.Marcos	0	10
Lugar do Bico	0	10
Fábrica da Pólvora	0	10
Ribeira-a-Baixo	0	10
Qta.N.Sra Conceição	0	10
Pedreira Italiana	1	10
Murganhal	0	10

**ANEXO 3. Duração das acções de pesca eléctrica**

		05-Jul	06-Jul	07-Jul	30-Ago	31-Ago	01-Set	02-Set	03-Set	
<b>Ribeira da Laje</b>	Ponte de Talaíde	-	-	-	-	-	-	-	17'	<b>17'</b>
	Bairro Navegadores	-	-	15'	-	25'	-	-	-	<b>40'</b>
	Bairro da Laje	-	-	-	-	-	32'	-	-	<b>32'</b>
	Est. Agronómica Nac.	-	-	-	-	-	-	-	36'	<b>36'</b>
	Jardim Marquês Pombal	70'	-	-	8'	-	48'	-	23'	<b>149'</b>
<b>Ribeira de Barcarena</b>	Ponte de S.Marcos	-	-	-	-	-	-	2'	-	<b>2'</b>
	Lugar do Bico	-	7'	-	-	25'	-	-	-	<b>32'</b>
	Ribeira-a-Baixo	-	-	-	-	-	-	30'	-	<b>29'</b>
	Qta.N.Sra Conceição	-	-	-	-	-	-	20'	-	<b>20'</b>
	Pedreira Italiana	-	-	-	-	-	-	19'	-	<b>19'</b>

**ANEXO 4. Número de indivíduos de *Xenopus laevis* capturados por local em cada etapa**

	Maio 2010	Julho 2010	Setembro 2010	Total
<b>Ribeira da Laje</b>				
Ponte Talaíde	0	0	0	0
Bairro Navegadores	2	5	3	10
Hortas da Laje	0	0	-	0
Bairro da Laje	3	7	2	12
Est. Agronomica Nac.	0	0	1	1
Jardim Marquês Pombal	24	32	7	63
Parque Municipal	0	0	-	0
<b>Ribeira de Barcarena</b>				
Ponte S. Marcos	0	5	0	5
Lugar do Bico	0	3	1	4
Fábrica Pólvora	0	1	-	1
Ribeira-a-Baixo	0	5	0	5
Qta. N. Sra. Conceição	0	0	1	1
Pedreira Italiana	0	0	0	0
Murganhal	0	0	-	0
	<b>29</b>	<b>58</b>	<b>15</b>	<b>102</b>

**ANEXO 5. Tamanho corporal dos espécimes capturados pelos diferentes métodos**

Data	Local	Sexo	SUL	Método	Observação
19-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	89,58	Armadilhagem	
19-05-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Macho	80,00	Armadilhagem	
19-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	73,66	Armadilhagem	
20-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	64,37	Armadilhagem	
21-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	87,29	Armadilhagem	
21-05-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Macho	74,08	Armadilhagem	
21-05-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Macho	75,96	Armadilhagem	
21-05-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Macho	76,72	Armadilhagem	
21-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	80,50	Armadilhagem	
21-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	73,00	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	89,94	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	102,59	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	98,28	Camaroeiro	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	74,28	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	81,00	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	78,78	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	73,86	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	65,70	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	66,15	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	77,56	Armadilhagem	
24-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	73,43	Armadilhagem	
25-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	64,37	Armadilhagem	
26-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	68,52	Armadilhagem	
28-05-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Macho	72,40	Armadilhagem	
28-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	75,38	Armadilhagem	
28-05-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	66,80	Armadilhagem	
01-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	?	Armadilhagem	
01-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	?	Armadilhagem	
01-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	?	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Fêmea	82,05	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Fêmea	97,23	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Fêmea	95,85	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Fêmea	70,68	Armadilhagem	Juvenil
30-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	110,61	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	77,50	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	75,26	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	78,56	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	71,28	Armadilhagem	
30-06-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	71,51	Armadilhagem	
01-07-2010	Rib. Barcarena - Lugar do Bico	Macho	76,66	Armadilhagem	
01-07-2010	Rib. Barcarena - Rib.-a-Baixo	Fêmea	91,90	Armadilhagem	
01-07-2010	Rib. Barcarena - Rib.-a-Baixo	Macho	71,50	Armadilhagem	
01-07-2010	Rib. Barcarena - Rib.-a-Baixo	Macho	66,56	Armadilhagem	
02-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	90,61	Armadilhagem	
02-07-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Macho	75,81	Armadilhagem	
02-07-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Macho	78,25	Armadilhagem	
02-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	71,15	Armadilhagem	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea		Armadilhagem	Putrefacto
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	85,25	Armadilhagem	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	88,04	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	80,00	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	91,54	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	97,48	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	100,08	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	94,32	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	85,30	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Macho		Armadilhagem	Putrefacto
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	76,82	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	68,50	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	72,70	Pesca eléctrica c/ gerador	

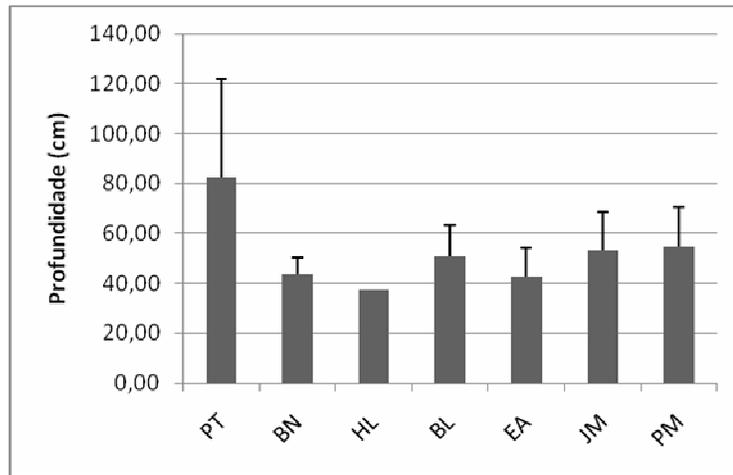
**ANEXO 5 (CONT.).** Tamanho corporal dos espécimes capturados pelos diferentes métodos

Data	Local	Sexo	SUL	Método	Observação
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	68,50	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	72,27	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	68,41	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	78,88	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	79,36	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	72,37	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	68,50	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	80,50	Pesca eléctrica c/ gerador	
05-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	70,50	Pesca eléctrica c/ gerador	
06-07-2010	Rib. Barcarena - Ponte S. Marcos	Fêmea	?	Armadilhagem	
06-07-2010	Rib. Barcarena - Ponte S. Marcos	Fêmea	?	Armadilhagem	
06-07-2010	Rib. Barcarena - Ponte S. Marcos	Fêmea	?	Armadilhagem	
06-07-2010	Rib. Barcarena - Fábrica Pólvora	Macho	?	Armadilhagem	
06-07-2010	Rib. Barcarena - Lugar do Bico	Macho	69,60	Armadilhagem	
06-07-2010	Rib. Barcarena - Lugar do Bico	Macho	66,58	Armadilhagem	
06-07-2010	Rib. Barcarena - Ponte S. Marcos	Macho	?	Armadilhagem	
06-07-2010	Rib. Barcarena - Rib.-a-Baixo	Macho		Armadilhagem	Putrefacto
06-07-2010	Rib. Barcarena - Rib.-a-Baixo	Macho		Armadilhagem	Putrefacto
07-07-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Fêmea	96,91	Armadilhagem	
07-07-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Macho	56,80	Armadilhagem	Juvenil
07-07-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Macho	79,31	Pesca eléctrica portátil	
07-07-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Macho	66,54	Pesca eléctrica portátil	
08-07-2010	Rib. Barcarena - Ponte S. Marcos	Fêmea		Armadilhagem	Putrefacto
09-07-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Fêmea		Armadilhagem	Putrefacto
09-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea		Armadilhagem	Putrefacto
09-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea		Armadilhagem	Putrefacto
09-07-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	78,86	Armadilhagem	
30-08-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	78,87	Pesca eléctrica c/ gerador	
30-08-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	77,75	Pesca eléctrica c/ gerador	
30-08-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	77,74	Pesca eléctrica c/ gerador	
30-08-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	77,09	Pesca eléctrica c/ gerador	
31-08-2010	Rib. Barcarena - Lugar do Bico	Fêmea	94,49	Pesca eléctrica portátil	
31-08-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Macho	69,40	Pesca eléctrica portátil	
31-08-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Macho	70,39	Pesca eléctrica portátil	
31-08-2010	Rib. Laje - B. Navegadores	Macho		Pesca eléctrica portátil	Putrefacto
01-09-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	110,43	Pesca eléctrica portátil	
01-09-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Fêmea	70,28	Pesca eléctrica portátil	Juvenil
01-09-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Macho	70,30	Pesca eléctrica portátil	
01-09-2010	Rib. Laje - Bairro da Laje	Macho	80,32	Pesca eléctrica portátil	
01-09-2010	Rib. Laje - Jardim Marquês	Macho	75,30	Pesca eléctrica portátil	
02-09-2010	Rib. Barcarena - Qta.N.S.Conceição	Macho	71,28	Pesca eléctrica portátil	
03-09-2010	Rib. Laje - Estação Agronómica	Fêmea	118,01	Pesca eléctrica portátil	

**ANEXO 6.** Valores médios e desvios-padrão (s.d.) de SUL dos exemplares de *Xenopus laevis* capturados em 2007 e 2010 no Jardim do Marquês de Pombal e no Bairro da Laje (ribeira da Laje)

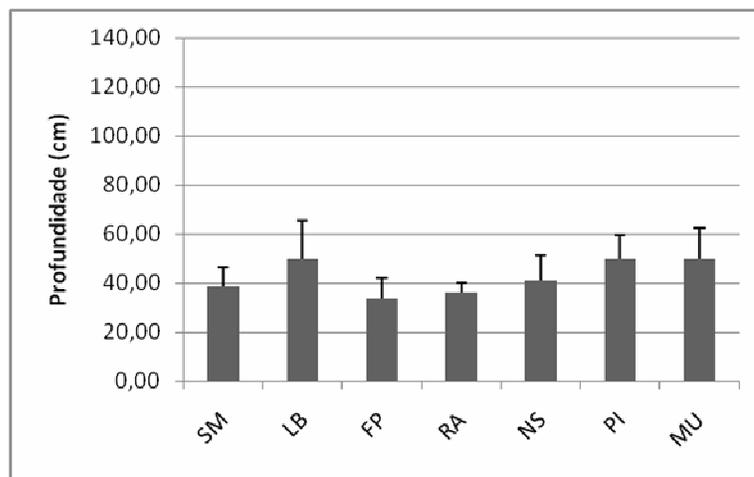
		2007	2010
		Jardim do Marquês Pombal	Fêmeas 94.9±8.6
	Machos	72.5±3.6	73.1±4.38
Bairro da Laje	Fêmeas	97.3±2.1	87.9±14.9
	Machos	75.2±4.3	76.6±2.8

**ANEXO 7A.** Profundidade média (cm) dos locais amostrados na ribeira da Laje. As barras de erro indicam o desvio-padrão.



Os locais estão ordenados de montante para jusante: PT - Ponte Talaíde; BN - Bairro dos Navegadores, HL - Hortas da Laje; BL - Bairro da Laje; EA - Estação Agronómica Nacional; JM - Jardim do Palácio do Marquês de Pombal; PM - Parque Municipal de Oeiras.

**ANEXO 7B.** Profundidade média (cm) dos locais amostrados na ribeira de Barcarena. As barras de erro indicam o desvio-padrão



Os locais estão ordenados de montante para jusante: SM - Ponte de São Marcos; LB - Lugar do Bico; FP - Fábrica da Pólvora; RA - Ribeira-a-Baixo; NS - Quinta Nossa Senhora da Conceição; PI - Pedreira Italiana; MU - Murganhal.