

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

RELATÓRIO ANO II (2011)



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

### **Coordenação**

Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade, I.P.

### **Responsável científico**

Rui Rebelo (CBA/FCUL)

### **Execução**

Ângela Maurício, Domingos Leitão, Fernando Dores e Nicolau Ser (CMO)

Mónica Sousa (ICNB)

Rui Rebelo e Bruno Carreira (CBA/FCUL)

### **Colaboração**

Élio Sucena (IGC)

### **O presente relatório deve ser citado da seguinte forma:**

Rebelo R, Carreira B & Sousa M (2011) *Plano de controlo de Xenopus laevis nas ribeiras do concelho de Oeiras*. Relatório Ano II (2011). Centro de Biologia Ambiental da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade. 33 pp.

# Índice

<b>INTRODUÇÃO</b>	4
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	
Plano de trabalho	5
Área de intervenção	6
Calendarização	8
Metodologias de captura	9
Outros trabalhos em curso	12
Tratamento dos resultados	13
<b>RESULTADOS</b>	
Distribuição	14
Locais com reprodução confirmada	15
Remoção de adultos	18
<i>Sex ratio</i>	21
Estrutura de tamanho corporal (SUL)	21
Estimativas do sucesso da campanha	
i) Diminuição da abundância	22
ii) Alteração da estrutura de tamanhos	24
iii) Estimativa da proporção da população removida	24
<b>DISCUSSÃO</b>	
Distribuição e efetivos da espécie	25
<i>Sex ratio</i>	26
Estrutura de tamanhos	26
Indicadores do sucesso do primeiro ano do plano de controlo	27
Implicações para a prossecução do plano de controlo	27
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	29
<b>ANEXOS</b>	
Anexo I. Registo das coordenadas retangulares de cada um dos locais de amostragem	31
Anexo II. Número de armadilhas colocadas por local em cada etapa	32
Anexo III. Duração das ações de pesca elétrica	32
Anexo IV. Número de indivíduos de <i>X. laevis</i> capturados por local em cada etapa	33

## 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 objetivo 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, que pode ser encontrado em todos os tipos de corpos de água doce (Tinsley *et al.* 1996a). Os adultos são quase inteiramente aquáticos e possuem diversas adaptações morfológicas e sensoriais a este modo de vida, sendo o período de atividade máxima noturno (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).

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 indiretos, tais como o aumento da turbidez da água e a libertação de nutrientes, ocasionados pela perturbação do sedimento, o que pode originar mudanças na dinâmica dos próprios ecossistemas aquáticos (Lobos & Measey 2002).

Em Portugal, a ocorrência da espécie na natureza foi pela primeira vez detetada 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, Rebelo *et al.* 2010, Rebelo, Vale e Sousa 2010), a população de *X. laevis* encontra-se distribuída pelas ribeiras da Laje e de Barcarena, sobretudo na parte mais a jusante de ambas as ribeiras, quase totalmente localizada no concelho de Oeiras, numa área densamente urbanizada.

Foram já realizadas algumas tentativas de erradicação de populações de *X. laevis* em vários países; porém a maioria fracassou. Há, no entanto, 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 1996b); ii) na Carolina do Norte, onde a erradicação envolveu uma ação 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 1996b).

Não é fácil avaliar o sucesso de ações de erradicação, uma vez que, à medida que a abundância da espécie a erradicar diminui, torna-se cada vez mais difícil detetar os indivíduos sobreviventes. No entanto, a primeira indicação de algum sucesso passa pela diminuição da abundância da espécie a erradicar, assim como pela alteração da sua estrutura populacional (que é desviada para os estádios de desenvolvimento de maior dificuldade de captura).

No âmbito do presente plano de controlo de *X. laevis*, foi dada continuidade à sua execução durante o ano de 2011, sendo assim de seguida apresentados os resultados deste segundo ano:

1. A distribuição atualmente conhecida da espécie;
2. O *sex ratio* e a estrutura de tamanho corporal dos animais capturados;
3. A comparação entre os resultados das campanhas de 2010 e 2011;
4. A primeira estimativa do sucesso no controlo da espécie, com vista à sua erradicação.

São também apresentadas algumas indicações a ter em conta para a prossecução do plano de controlo.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Plano de trabalho**

Em 2010, no primeiro ano do plano de controlo, a espécie foi encontrada apenas em alguns troços das ribeiras da Laje e de Barcarena. A distribuição destes troços ao longo da ribeira foi o resultado de uma estratégia de amostragem que teve como objetivo obter a maior cobertura possível de todas as ribeiras, na impossibilidade de percorrer toda a sua extensão. No presente ano, e com vista a colmatar essa falha, foram levadas a cabo dois tipos de ações:

- 1) Prospecção de praticamente toda a extensão das ribeiras da Laje e de Barcarena, incluindo todas as áreas entre os pontos de amostragem onde a presença da espécie foi identificada em 2010, e algumas amostragens pontuais em ribeiras adjacentes, onde a espécie ainda não tinha sido encontrada (rio Jamor e ribeiras de Porto Salvo e Outurela). Para esta prospecção recorreu-se à pesca elétrica para a captura de adultos, e procedeu-se também à amostragem visual de posturas e de girinos. O registo das coordenadas retangulares de cada um dos locais visitados foi realizado através do Sistema de Posicionamento Global (GPS) eTrex da *Garmin*, encontrando-se as mesmas listadas no anexo I para a projeção Datum WGS 1984 Zone 29N.
- 2) Remoção intensiva de adultos nos locais onde a espécie foi encontrada em 2010 (e em mais um local na ribeira de Barcarena, identificado apenas em 2011 – Ponte de

Barcarena). Esta ação foi semelhante à campanha de 2010, tendo os espécimes sido capturados quer por pesca elétrica, quer com armadilhas.

Alguns dos locais de remoção intensiva selecionados em 2010 (Hortas da Laje, Fábrica da Pólvora e Murganhal) não foram amostrados em todas ou em algumas das campanhas efetuadas este ano, por possuírem condições pouco propícias à utilização dos métodos de captura previstos – caudal de água muito reduzido – ou devido à difícil aproximação à própria ribeira. São também locais onde nunca foram encontrados indivíduos de *X. laevis* (Hortas da laje e Murganhal) ou onde apenas foram encontrados alguns indivíduos isolados (Rebelo, Vale e Sousa 2010).

### **Área de intervenção**

A área de estudo compreende as bacias das ribeiras da Laje, Barcarena, Porto Salvo, Outurela e do rio Jamor (figura 1). Praticamente toda a área de estudo está incluída no concelho de Oeiras.

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, respetivamente. 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. Mais para Leste, o curso principal do Rio Jamor encontra-se a pouco mais de 2 km de distância da ribeira de Barcarena.

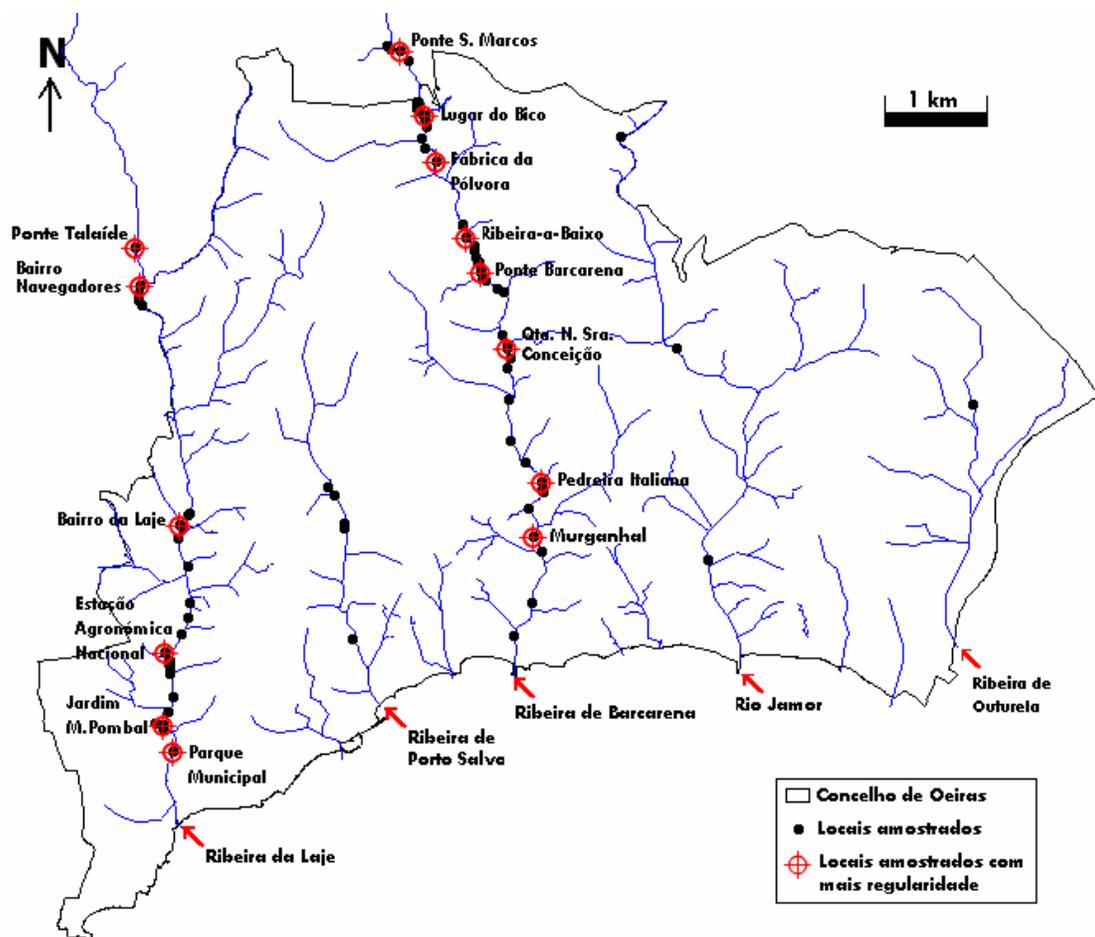


Figura 1 – Área de intervenção do plano. Estão representados os cinco cursos de água amostrados, estando também indicados todos os locais de captura e aqueles onde a remoção de adultos foi mais intensiva (ver Metodologias, abaixo).

Para além da amostragem nos cursos de água, por indicação do Doutor Élio Sucena (Instituto Gulbenkian de Ciência), foi efetuada a despistagem de *X. laevis* no tanque<sup>1</sup> que alimenta a Cascata dos Poetas – fonte situada no Jardim do Marquês de Pombal.

O tanque estava totalmente abastecido com água da chuva (cerca de 100m<sup>3</sup>), encontrando-se a válvula de segurança - que permite a drenagem pela Cascata dos Poetas - fechada. O circuito normal da água do tanque implica uma descida através de sucessivos “patamares” do monumento até um pequeno reservatório que se encontra no final da cascata, seguindo subterraneamente até à margem direita da ribeira da Laje (entre o acesso de entrada na ribeira e as instalações do Instituto Gulbenkian de Ciência), onde desagua (figuras 2 e 3).

<sup>1</sup> Medidas do tanque da Cascata dos Poetas: 9,50m x 7,60m (profundidade = 1,30m). Em relação à ribeira da Laje o monumento dista cerca de 60m e o tanque que o alimenta encontra-se a 7m de altura.

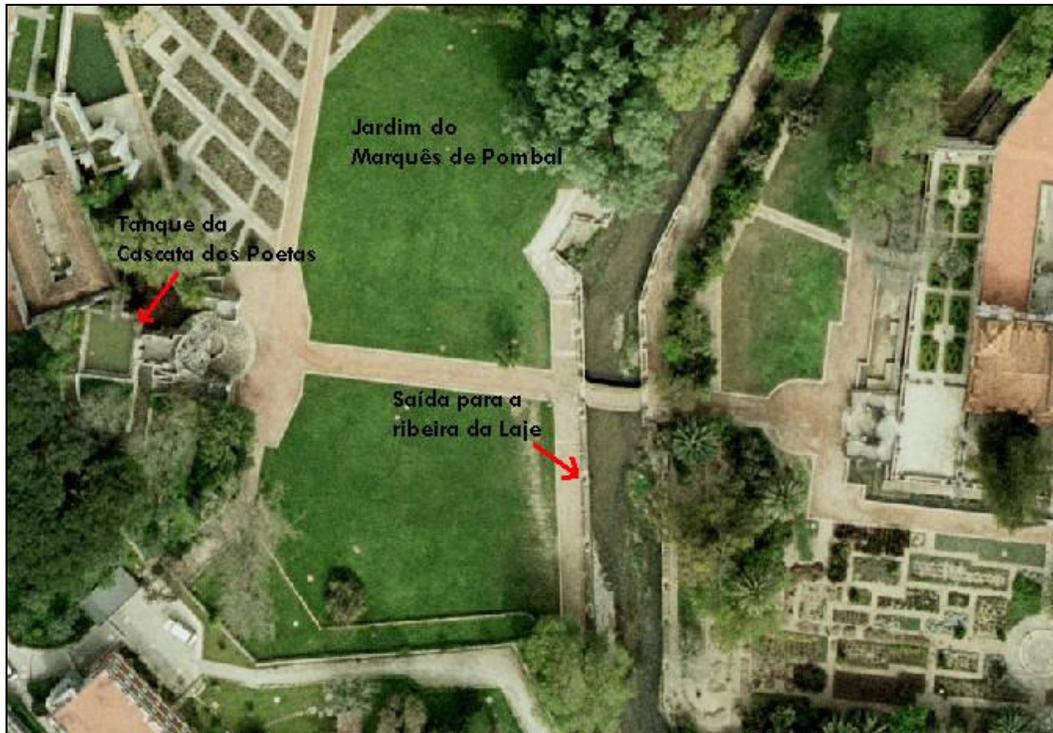


Figura 2 – Localização do Tanque da Cascata dos Poetas (Jardim Marquês Pombal, ribeira da Laje).



Figura 3 – Tanque que alimenta a cascata; Cascata dos Poetas; local na ribeira da Laje onde desemboca a água proveniente da fonte.

### Calendarização

À semelhança do ano anterior, em 2011, o plano de controlo envolveu três etapas, num total de cinco semanas de capturas. Estas decorreram nos meses de junho, julho e agosto, sobrepondo-se assim à época do ano em que *X. laevis* está mais ativa (abril a setembro) (Bernardes 2008). A primeira etapa decorreu entre 14 e 24 de junho, a segunda etapa entre 18 e 29 de julho e a terceira, com uma duração de cinco dias, decorreu entre 22 e 26 de agosto. Em todas as etapas foram realizadas quer ações de prospeção, quer de remoção.

## Metodologias de captura

Para a captura de adultos recorreu-se a duas metodologias distintas:

- 1) Armadilhagem: captura com armadilhas de funil iscadas com comida enlatada para gato. As armadilhas foram construídas a partir de garrações 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 jusante (figura 4). O número de armadilhas utilizadas variou (até um máximo de 21 armadilhas por local) consoante as características do sítio, nomeadamente as dimensões dos pegos de cada ribeira (anexo II).



Figura 4 – Preparação e colocação das armadilhas.

- 2) Pesca elétrica: foi utilizado um aparelho de transporte dorsal (SAMUS-725MP) com bateria, a operar com corrente alterna, com uma frequência de 30Hz (figura 5). A duração dos períodos de pesca variou em função da extensão e profundidade dos troços percorridos (anexo III).



Figura 5 – Equipamento de pesca elétrica (aparelho de transporte dorsal com bateria).

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



Figura 6 – Postura e girinos de *X. laevis*.

Todos os indivíduos capturados foram colocados em sacos individuais devidamente identificados (figura 7), 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 0,01mm. Posteriormente os animais foram armazenados em álcool a 75%, com vista ao seu depósito nas coleções do Museu Nacional de História Natural e da Ciência – Museu Bocage.



Figura 7 - Individualização dos espécimes capturados.

O sexo dos espécimes foi determinado pela verificação das almofadas nupciais, apresentando-se como uma coloração mais escura na zona interna dos membros anteriores, e que identificam os machos (Bernardes 2008) (figura 8). Uma vez que os machos são o sexo mais pequeno (Rebello Vale e Sousa 2010), todos os animais com um SUL inferior ao do SUL do macho mais pequeno foram classificados como juvenis e todos os animais sem almofadas nupciais e SUL superior ao do macho mais pequeno foram classificados como fêmeas. Esta abordagem foi testada em 2010 com bons resultados (Rebello Vale e Sousa 2010).



Figura 8 – *X. laevis*: a) adulto; b) macho (à esquerda, coloração mais escura nos membros anteriores) e fêmea (à direita, sem essa coloração).

### Outros trabalhos em curso

Durante 2011 foram iniciados os seguintes trabalhos:

- i) confirmação genética da identidade da espécie, uma vez que na última década foram descobertas várias espécies crípticas (apenas reconhecíveis geneticamente) até agora classificadas como "*Xenopus laevis*" (Kobel *et al.* 1996). Aos espécimes capturados com vida foi retirado um dedo de uma pata dianteira para análise genética (figura 9);
- ii) estimativa da idade dos animais até agora capturados por análise esqueletocronológica (tal como em Measey 2001).



Figura 9 – Manuseamento para colheita de material genético.

Devido ao desfasamento entre a época de atividade dos animais (coincidente com a campanha de campo) e o ano letivo, as análises genéticas e esqueletocronológicas encontram-se atualmente em curso, prevendo-se a obtenção de resultados em 2012.

### Tratamento dos resultados

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

Uma vez que o esforço de captura variou consoante os locais, os resultados foram expressos em capturas por unidade de esforço – por armadilha/dia  $\times 100$ , no caso das capturas com armadilhas de funil e por 100 minutos, no caso das capturas realizadas com pesca elétrica.

Os tamanhos corporais médios de cada um dos sexos foram comparados entre as duas ribeiras com recurso ao teste t.

Como indicadores do sucesso do plano de controlo, foram calculadas:

- a variação de abundância relativa entre 2010 e 2011 nos locais onde foi efetuada a remoção intensiva de adultos em ambos os anos. Esta variação foi calculada sobre os valores de capturas por unidade de esforço e separadamente para cada método de remoção. Seria de esperar uma diminuição das capturas, tanto maior quanto maior o número de capturas realizadas em 2010.

- a variação na estrutura de tamanhos dos animais capturados nos mesmos locais em ambos os anos. Uma vez que (no caso das capturas com recurso à pesca elétrica) os animais maiores são previsivelmente capturados mais facilmente, foi testada a diminuição do tamanho corporal das capturas entre os dois anos. Dada a diferença óbvia de tamanhos corporais entre sexos, os mesmos não foram comparados.

A partir da taxa de diminuição das capturas entre os dois anos, foi também possível obter uma primeira estimativa do número de animais ( $N_i$ ) presente em cada local de remoção intensiva no início do primeiro ano da campanha (ou seja, em 2010). Para cada local foram obtidas duas estimativas, correspondendo aos dois métodos de captura (armadilhagem e pesca elétrica). Considerando  $n_1$  o número de animais removido no primeiro ano e  $n_2$  o removido no segundo ano, utilizou-se o método de Moran-Zippin (Krebs, 2009) que permite obter uma estimativa para  $N_i$ :

$$N_i = n_1^2 / (n_1 - n_2),$$

assim como um valor de erro-padrão para esta estimativa:

$$\text{Erro-padrão (s.e.)} = [ (n_1)(n_2) \sqrt{(n_1 + n_2)} ] / (n_1 - n_2)^2 ,$$

sendo o efetivo inicial em cada local estimado com um intervalo de confiança de 95% como  $N_i \pm 1.96(\text{s.e.})$ . Para alguns locais/métodos não foi possível obter esta estimativa, pois o método depende da diminuição de capturas entre os dois anos, o que nem sempre sucedeu (ver

resultados). No entanto, para os locais onde o Ni pode ser estimado, este valor pode ser comparado com o número de animais realmente removidos no total dos dois anos. O cálculo da proporção de animais removidos em relação ao número inicial estimado produz assim uma primeira estimativa da eficácia da ação de controlo nos locais com mais capturas. Para esta estimativa considerou-se que o recrutamento de adultos para cada população local terá sido reduzido entre os dois anos. Esta consideração resulta do registo de ausência de recrutamento ou de valores de recrutamento muito baixos no estudo preliminar de 2007 (Bernardes 2008) e no primeiro ano do plano de controlo (Rebelo, Vale e Sousa 2010).

## **RESULTADOS**

### ***Distribuição***

As extensões de ribeira percorridas e as localizações onde foi identificada a presença de *X. laevis* estão ilustradas na figura 8. Dada a extensão dos trabalhos de prospeção em 2011 e a intensidade do trabalho desenvolvido (ver anexos II e III), a distribuição da espécie apresentada na figura 10 deverá ser muito aproximada da real. Em relação à distribuição conhecida em 2010, não houve alterações importantes na ribeira da Laje, onde a captura mais a montante aconteceu a cerca de 20 metros da captura mais a montante realizada em 2010, sem alterações a jusante. Já na ribeira de Barcarena, a prospeção da quase totalidade da ribeira levou à descoberta de vários locais onde a espécie ocorre, aumentando a área de distribuição conhecida em cerca de 1,5 km para jusante. No entanto, para montante não foi documentada nenhuma expansão. Também não houve qualquer registo nas ribeiras de Porto Salvo, Outurela e rio Jamor.

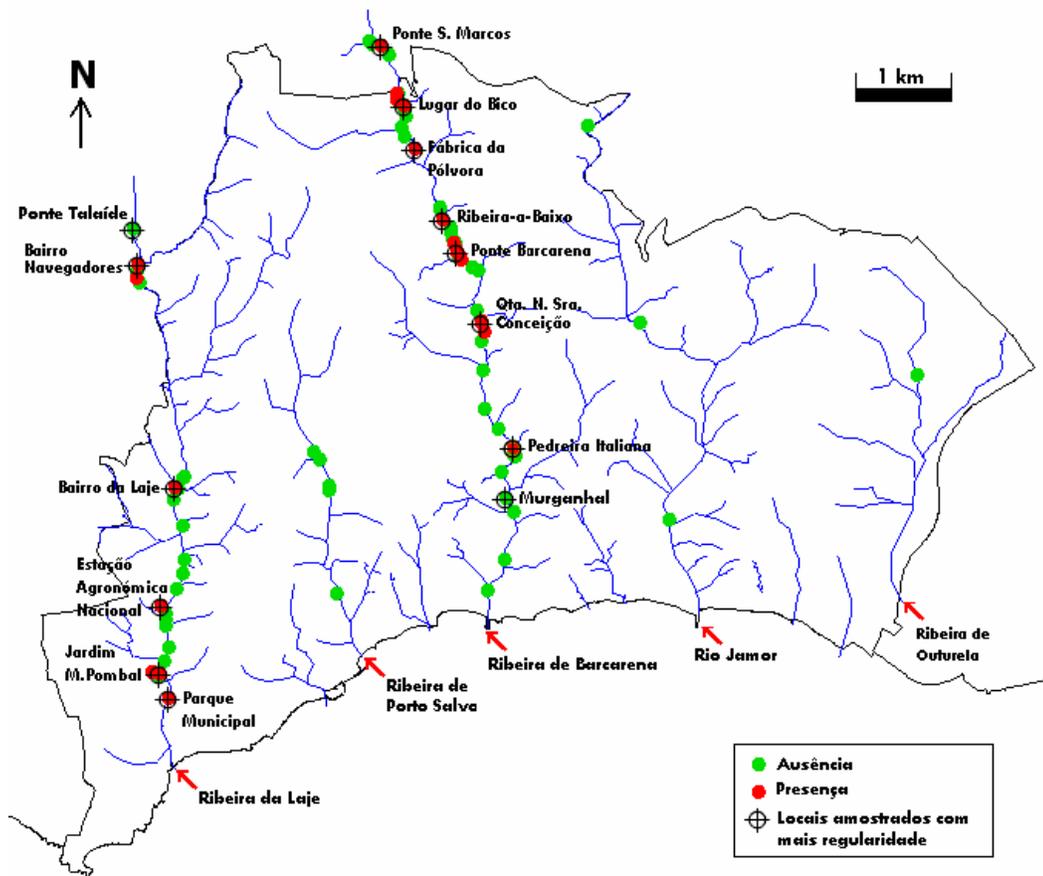


Figura 10 – Resultados da campanha de 2011. Estão também indicados todos os locais amostrados e aqueles onde a remoção de adultos foi mais intensiva.

### ***Locais com reprodução confirmada***

Em 2011 nunca foram observadas posturas de *X. laevis* e apenas foram observados girinos desta espécie em quatro locais: na ribeira da Laje, em Bairro dos Navegadores e no tanque da Cascata dos Poetas e na ribeira de Barcarena, em Lugar do Bico e Ribeira-a-baixo (figura 11).

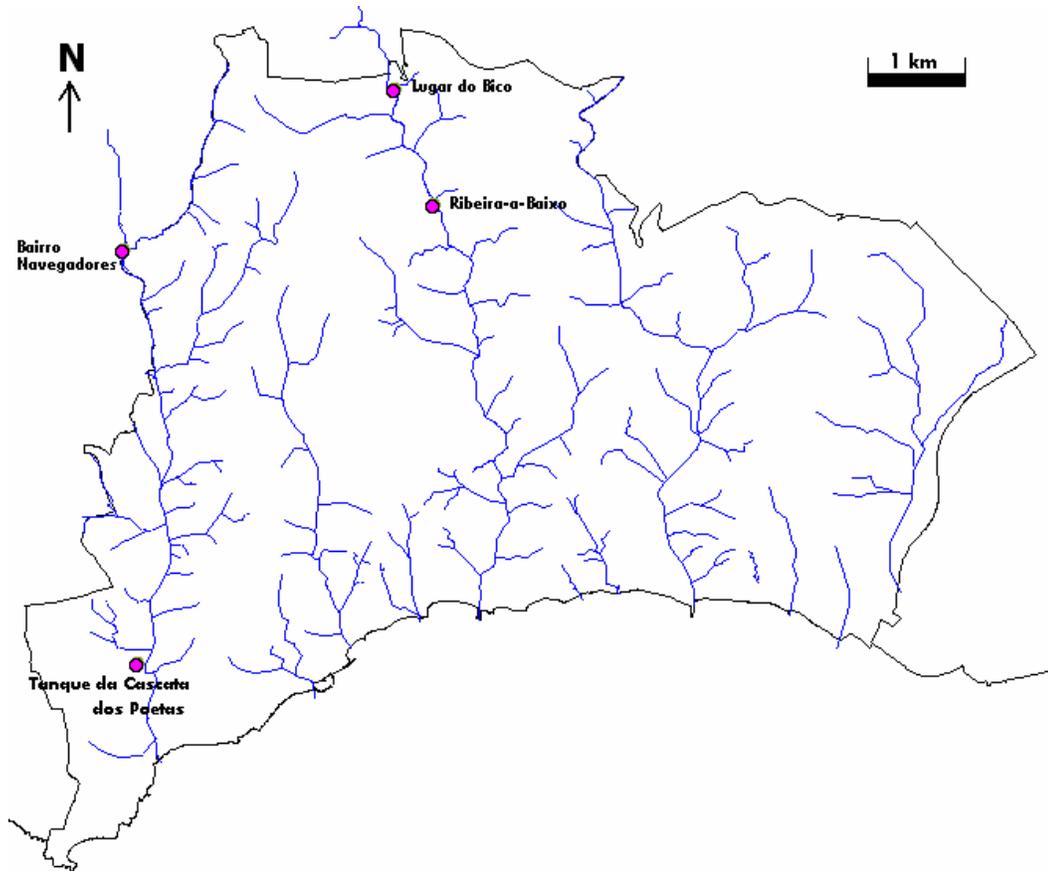


Figura 11. Presença de girinos de *X. laevis* nas ribeiras da Laje e de Barcarena.

Apenas no tanque da Cascata dos Poetas e em Lugar do Bico (ribeira de Barcarena) foram encontrados girinos em estádios perto da metamorfose (estádios 39 a 43; Gosner, 1960) (figura 12).



Figura 12 – Girino de *X. laevis* em estágio de desenvolvimento próximo da metamorfose (E42- Gosner, 1960), capturado no tanque da Cascata dos Poetas.

Dadas as excelentes condições apresentadas para o desenvolvimento larvar de *X. laevis* (ausência de predadores ou de alterações bruscas das condições abióticas) o tanque da Cascata dos Poetas, foi o local onde se verificou a existência de um número mais elevado (centenas) de girinos em diferentes estádios de desenvolvimento, incluindo recém metamorfoseados (figura 13). Após abertura da válvula do tanque, com o nível de água mais baixo, foi possível a captura com camaroeiro de cerca de 400 girinos e 40 recém metamorfoseados. Não foi observado nenhum adulto de *X. laevis*, nem mesmo após a utilização de pesca elétrica. A maioria dos animais capturados foi transportada para laboratório, mas parte dos girinos foi removida para a margem, impossibilitando deste modo a sua sobrevivência.

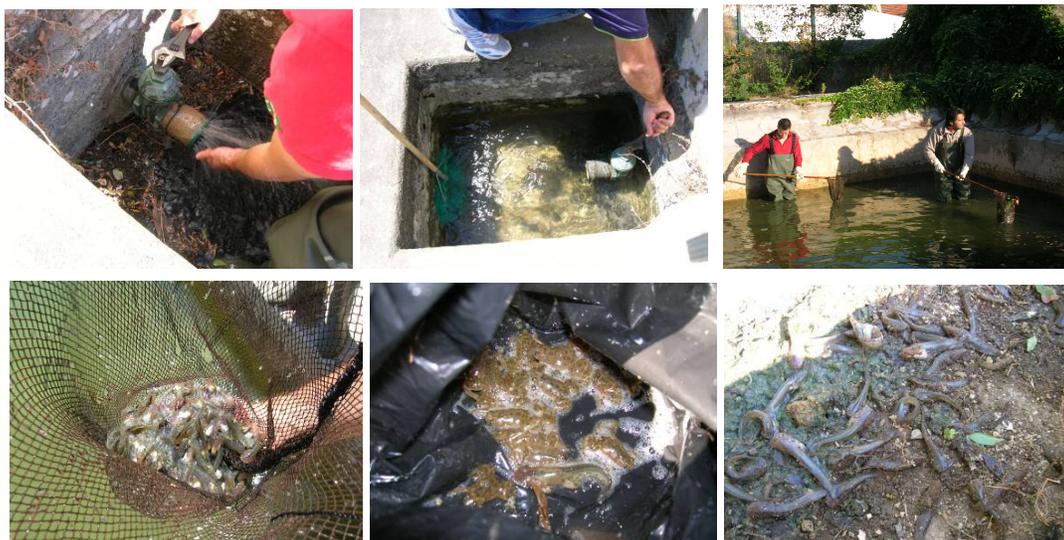


Figura 13 – Captura de girinos e recém metamorfoseados do tanque da Cascata dos Poetas.

Não tendo sido possível efetuar o escoamento da água do tanque até ao final da campanha procedeu-se ao encerramento da válvula de drenagem, impedindo desta forma a dispersão para a ribeira da Laje. A água que ainda permanecia no tanque (cerca de 30 cm de profundidade) terá sido totalmente evaporada durante os meses de setembro e outubro, provocando a morte dos espécimes que ainda ali se encontrassem.

Apenas em Lugar do Bico (ribeira de Barcarena) foram observados girinos de *X. laevis* nos dois anos do plano de controlo. Em relação a 2010, o número de locais com evidências de reprodução diminuiu em ambas as ribeiras. Na ribeira da Laje foram observados pela primeira vez girinos em Bairro dos Navegadores, mas já não foi vista nenhuma postura ou girino em Bairro da Laje, Estação Agronómica e, mesmo, em Jardim do Marquês de Pombal (o tanque da Cascata dos Poetas não é considerado, uma vez que não se encontra em contacto direto com a ribeira).

Na ribeira de Barcarena não foram observados girinos em Ponte de Talaíde, nem para jusante de Ribeira-a-Baixo, onde no ano anterior tinham sido detetados.

Tal como para as posturas e girinos, os indivíduos juvenis – uma evidência do sucesso reprodutor da espécie nos últimos anos – foram capturados em apenas quatro locais: na ribeira da Laje no tanque da Cascata dos Poetas e na própria ribeira em Jardim do Marquês de Pombal; e na ribeira de Barcarena em Ribeira-a-Baixo e Ponte de Barcarena. As capturas de indivíduos juvenis foram sempre reduzidas, tendo o número máximo (quatro indivíduos) sido registado em Ponte de Barcarena, onde não foi realizada nenhuma ação de remoção em 2010.

### **Remoção de adultos**

Ao longo da campanha de 2011 foram capturados 139 animais pós-metamorfosados (adultos e juvenis) de *X. laevis*, assim como mais de 500 girinos. Considerando apenas os pós-metamorfosados, foram capturados 57 animais na ribeira da Laje e 82 na ribeira de Barcarena (anexo IV).

Na ribeira da Laje, foi no Jardim do Marquês de Pombal que se continuou a registar o maior número de capturas (n=28) (tabela 1). Na ribeira de Barcarena o maior número de capturas (n=22) foi efetuado em Ponte de Barcarena (tabela 1), local esse amostrado este ano pela primeira vez.

Tabela 1. Número de pós-metamórficos de *X. laevis* capturados em cada local de remoção em 2011 (ver o anexo IV para as capturas por etapa).

<b>Ribeira da</b>	<b>PT</b>	<b>BN</b>	<b>BL</b>	<b>EA</b>	<b>JM</b>	<b>PM</b>		<b>Entre pontos</b>
<b>Laje</b>	0	13	13	2	28	1		0
<b>Ribeira de</b>	<b>SM</b>	<b>LB</b>	<b>FP</b>	<b>RA</b>	<b>PB</b>	<b>NS</b>	<b>PI</b>	
<b>Barcarena</b>	3	12	2	18	22	20	1	4

**Ribeira da Laje** - PT - Ponte Talaíde; BN - Bairro dos Navegadores, 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; PB – Ponte de Barcarena; NS - Quinta Nossa Senhora da Conceição; PI - Pedreira Italiana.

Considerando que o esforço de captura foi diferente em cada local, as tabelas 2 e 3 e as figuras 14 e 15 permitem uma comparação da abundância da espécie nos vários locais de remoção intensiva, separadamente para cada método de captura.

Tabela 2 - Capturas por unidade de esforço, considerando os animais capturados por armadilhagem (n° de animais/100 armadilhas/dia).

Ribeira da	PT	BN	BL	EA	JM	PM		
Laje	0	3,06	1,19	0	4,21	0,53		
Ribeira de	SM	LB	FP	RA	PB	NS	PI	
Barcarena	1,43	5,02	4	5,73	0	3,80	-	

**Ribeira da Laje** - PT - Ponte Talaíde; BN - Bairro dos Navegadores, 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; PB – Ponte de Barcarena; NS - Quinta Nossa Senhora da Conceição; PI - Pedreira Italiana.

Tabela 3 - Capturas por unidade de esforço, considerando os animais capturados por pesca elétrica (n° de animais/100 minutos de pesca).

Ribeira da	PT	BN	BL	EA	JM	PM		
Laje	0	2,62	7,48	4,88	10,78	0		
Ribeira de	SM	LB	FP	RA	PB	NS	PI	
Barcarena	0	1,47	0	7,69	24,95	11,67	-	

**Ribeira da Laje** - PT - Ponte Talaíde; BN - Bairro dos Navegadores, 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; PB – Ponte de Barcarena; NS - Quinta Nossa Senhora da Conceição; PI - Pedreira Italiana.

Apesar de algumas discordâncias entre os resultados obtidos pelos dois métodos (por exemplo, em Fábrica da Pólvora não é exequível a realização de pesca elétrica em grande parte do troço, enquanto que em Ponte de Barcarena é a armadilhagem que tem pouco sucesso), verifica-se que as abundâncias por unidade de esforço foram quase sempre superiores na ribeira de Barcarena. As figuras 14 e 15 mostram os principais núcleos da espécie. Estes estão relativamente afastados entre si na ribeira da Laje – Bairro dos Navegadores, Bairro da Laje e Jardim do Marquês de Pombal. Na ribeira de Barcarena, há um núcleo importante em Lugar do Bico e três núcleos mais afastados, mas próximos entre si (facilitando a migração de animais): Ribeira-a-Baixo, Ponte de Barcarena e Quinta de N. Sr.<sup>a</sup> da Conceição.

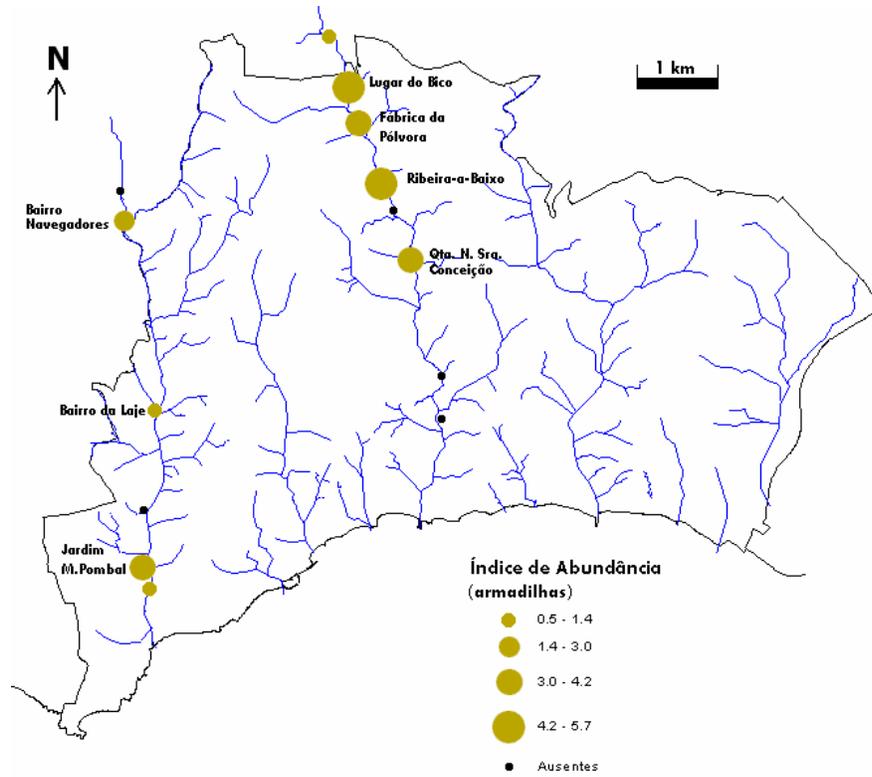


Figura 14. Número de adultos capturados/100 armadilhas/dia em cada local amostrado.

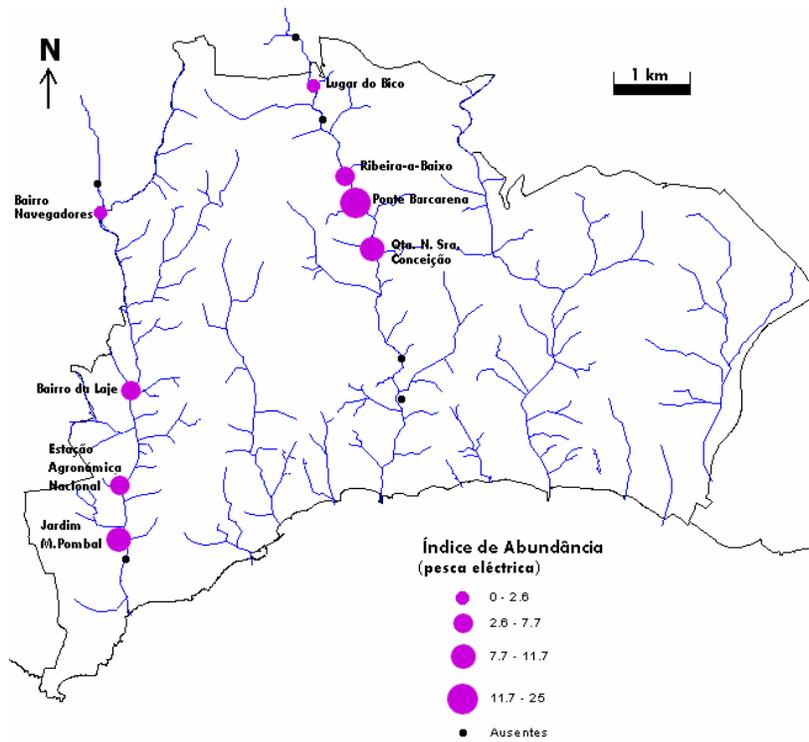


Figura 15. Número de adultos capturados/100 minutos de pesca eléctrica em cada local amostrado.

### **Sex ratio**

Este descritor variou bastante entre os vários locais de remoção, com a ribeira da Laje a apresentar uma maior abundância relativa de machos em todos os locais, assim como em quase toda a ribeira de Barcarena (figura 16). No entanto, é de notar que em dois locais da ribeira de Barcarena (Ribeira-a-Baixo e Ponte de Barcarena), houve um desequilíbrio do *sex ratio* em favor das fêmeas.

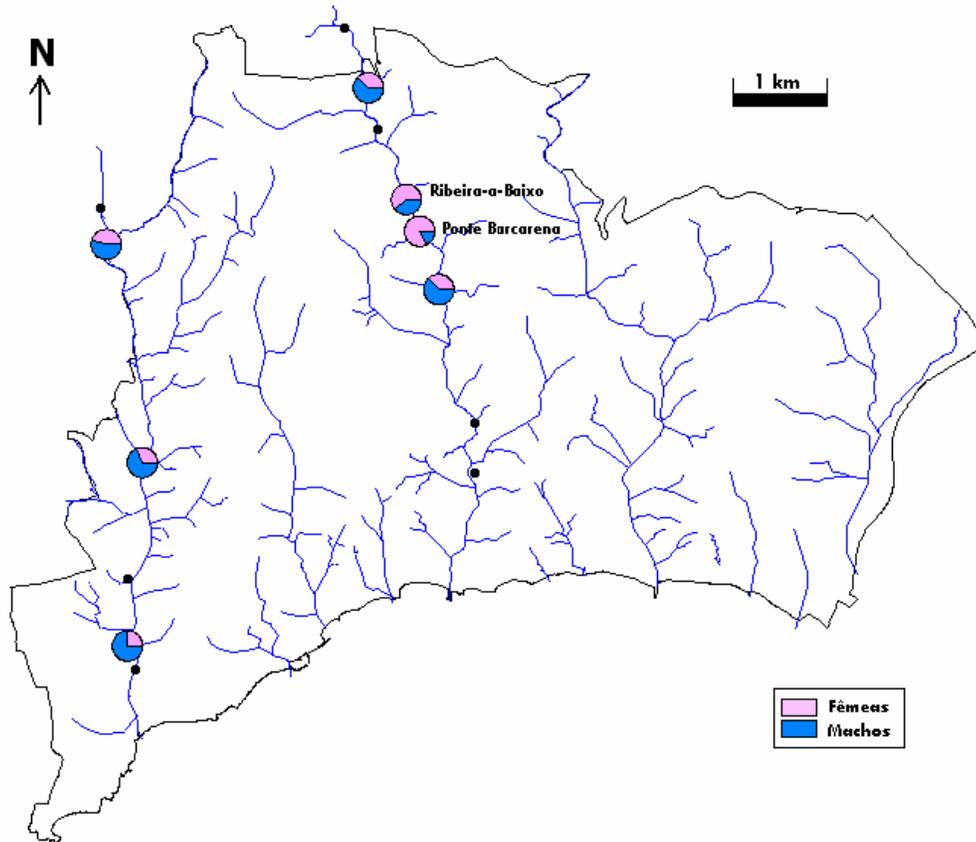


Figura 16. *Sex ratio* da amostra constituída pelo total dos animais capturados em cada ponto de amostragem. Apenas foram considerados os locais com 5 ou mais capturas.

### **Estrutura de tamanho corporal (SUL)**

Considerando apenas os animais adultos, na ribeira da Laje o SUL<sup>2</sup> médio das fêmeas foi de  $89,62 \pm 9,91$  mm e o dos machos de  $68,60 \pm 6,46$  mm. Na ribeira de Barcarena, também as fêmeas tiveram um SUL médio superior ( $70,17 \pm 15,39$  mm), em relação aos machos ( $63,61 \pm 6,23$  mm), resultados esperados e correspondentes ao dimorfismo sexual característico desta espécie. As figuras 17 e 18 mostram a distribuição de tamanhos corporais dos adultos capturados em 2011 em cada uma das ribeiras. Houve diferenças significativas no tamanho corporal médio dos

<sup>2</sup> SUL - comprimento entre o focinho e o uróstilo

animais entre as duas ribeiras, quer para os machos ( $t_{57}=3,28$ ;  $p<0,01$ ), quer para as fêmeas ( $t_{60}=5,15$ ;  $p<0,001$ ); em ambos os casos os animais de dimensão maior foram encontrados na ribeira da Laje.

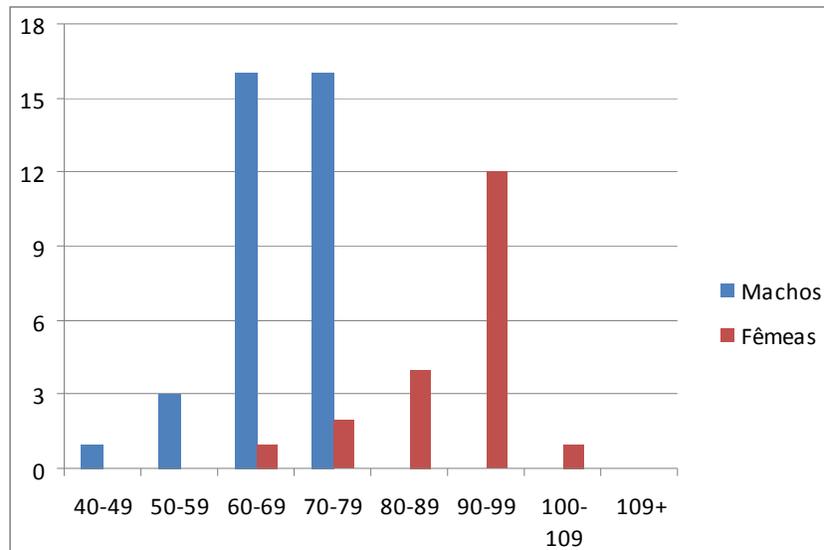


Figura 17. Distribuição do tamanho corporal (SUL, mm) dos animais capturados na ribeira da Laje, com distinção entre os sexos.

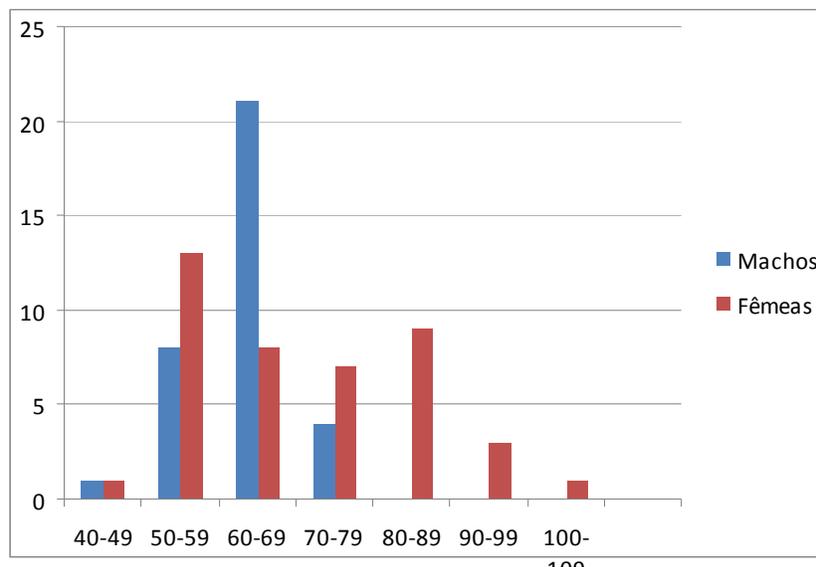


Figura 18. Tamanho corporal (SUL, mm) dos animais capturados na ribeira de Barcarena, com distinção entre os sexos.

**Estimativas do sucesso da campanha:**

**i) Diminuição da abundância**

As figuras 19 e 20 mostram a relação entre a abundância relativa da espécie em cada um dos pontos amostrados nas duas ribeiras em 2010 e a sua variação em 2011. Para a ribeira da

Laje, verifica-se que os locais com mais capturas em 2010 foram aqueles em que se verificou uma maior diminuição no número de capturas em 2011, para ambos os métodos de captura (figura 19). Por exemplo, no local onde se registou uma maior diminuição (Jardim do Marquês de Pombal), em 2011 foram apanhados 28 adultos, contra 63 em 2010. No entanto, este padrão não se verificou na ribeira de Barcarena, onde não houve relação, positiva ou negativa, entre o número de capturas em 2010 e a sua variação em 2011 (figura 20).

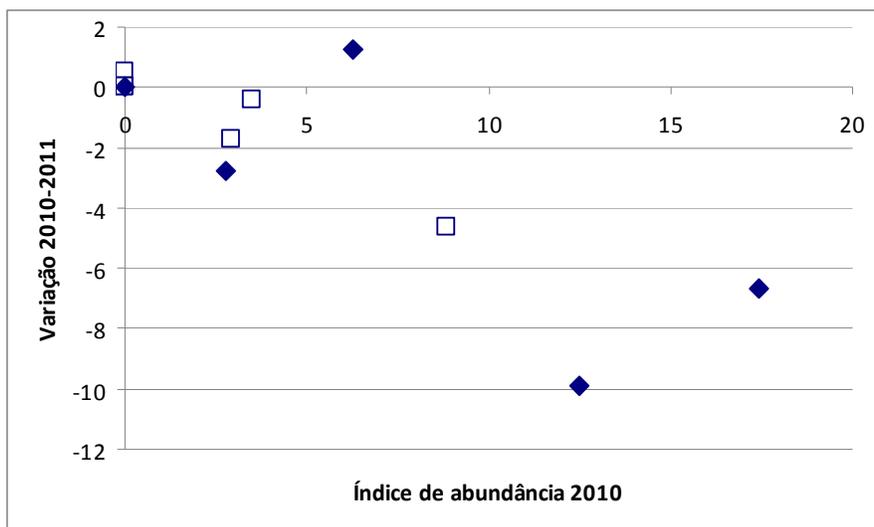


Figura 19. Variação nos índices de abundância entre os dois anos de controlo em função dos índices de abundância em 2010, para a ribeira da Laje. Os quadrados vazios referem-se às estimativas baseadas na armadilhagem e os losangos a cheio às estimativas baseadas na pesca elétrica.

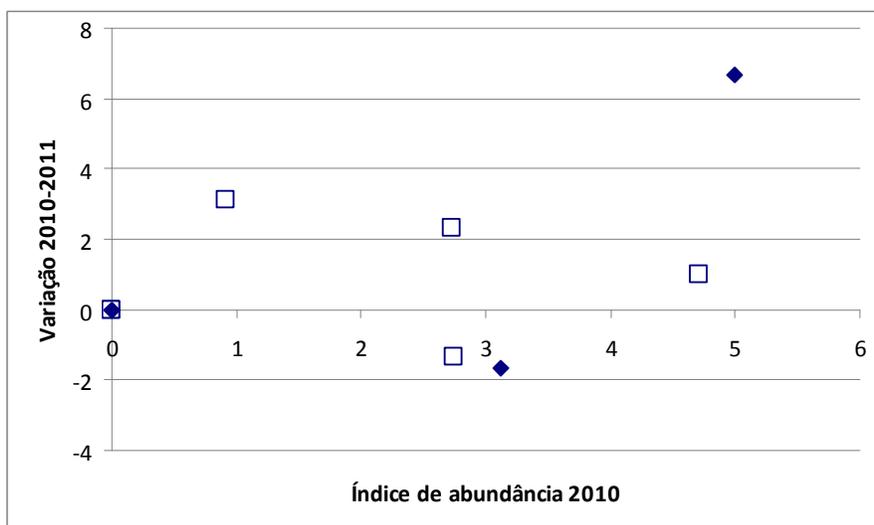


Figura 20. Variação nos índices de abundância entre os dois anos de controlo em função dos índices de abundância em 2010, para a ribeira de Barcarena. Os quadrados vazios referem-se às estimativas baseadas na armadilhagem e os losangos a cheio às estimativas baseadas na pesca elétrica.

### ii) Alteração da estrutura de tamanhos

Em comparação com os resultados de 2010, houve uma diminuição do tamanho corporal dos machos capturados na ribeira da Laje ( $t_{88}=4,01$ ;  $p<0,001$ ). O mesmo não aconteceu para as fêmeas ( $t_{41}=0,93$ ;  $p>0,05$ ) capturadas nesta ribeira.

Dada a reduzida amostra de fêmeas capturadas na ribeira de Barcarena em 2010, não foi possível comparar o tamanho das fêmeas entre os dois anos. No entanto, para os machos foi possível concluir que os capturados em 2011 foram significativamente mais pequenos que os capturados em 2010 ( $t_{38}=2,56$ ;  $p<0,05$ ).

### iii) Estimativa da proporção da população removida

As tabelas 4 e 5 indicam a estimativa do número inicial ( $N_i \pm$  intervalo de confiança) de indivíduos presentes nos locais onde foram capturados cinco ou mais indivíduos em 2010. As tabelas indicam também o número de animais já capturados em cada local no total dos dois anos do programa e a estimativa da eficácia de remoção. As estimativas foram calculadas para cada método de remoção em separado. As primeiras estimativas da eficácia de remoção de adultos são relativamente elevadas (próximas ou superiores a 50%) e semelhantes entre locais e ribeiras, sendo possível que já tenham sido removidos um pouco mais de metade dos pós-metamórficos existentes em pelo menos cinco locais.

Tabela 4. Estimativa do número de *X. laevis* presente no início do plano de controlo em três locais na ribeira da Laje, em 2010 ( $N_i \pm$  intervalo de confiança – ver métodos). Número de animais capturados (com cada método) nos dois anos do plano em cada local e estimativa da eficácia do plano de controlo (proporção representada pelo número de animais removidos em relação ao efetivo inicial estimado). Para alguns dos binómios local/metodologia não foi possível estimar  $N_i$ .

<b>RIB. LAJE - ARMADILHAS</b>	$N_i$	Capturas 2010 +2011	Eficácia
Bairro da Laje	17,65 $\pm$ 13,50	15	48-100%
Jardim Marquês de Pombal	61,07 $\pm$ 40,01	52	46-100%

<b>RIB. LAJE – PESCA ELÉTRICA</b>	$N_i$	Capturas 2010+2011	Eficácia
Bairro dos Navegadores	6,32 $\pm$ 0,35	10	~100%
Jardim Marquês de Pombal	96,43 $\pm$ 4,25	39	39-42%

Tabela 5. Estimativa do número de *X. laevis* presente em Ponte de S. Marcos (ribeira de Barcarena) no início do plano de controlo, em 2010 ( $N_i \pm$  intervalo de confiança – ver métodos). A estimativa foi possível apenas para os animais capturados com armadilhas. Número de animais capturados nos dois anos da campanha e estimativa da eficácia do plano de controlo (proporção representada pelo número de animais removidos em relação ao efetivo inicial estimado). Para os restantes binómios local/metodologia não foi possível estimar  $N_i$ .

<b>RIB. BARCARENA - ARMADILHAS</b>	$N_i$	Capturas 2010+2011	Eficácia
Ponte S. Marcos	$7,3 \pm 3,3$	8	76-100%

## DISCUSSÃO

### *Distribuição e efetivos da espécie*

Dos cinco cursos de água prospetados, a espécie apenas foi detetada nas ribeiras da Laje e de Barcarena.

Nestas duas ribeiras, o maior efetivo de *X. laevis* continua a estar concentrado no Jardim do Marquês de Pombal (ribeira da Laje), possível local de introdução da espécie no final da década de 1970 (Rebello *et al.*, 2010). No entanto, em 2011 foi descoberto um núcleo importante localizado em Ponte de Barcarena (ribeira de Barcarena), uma zona não prospetada em 2010.

A adoção de uma nova metodologia durante o segundo ano do plano de controlo - prospeção de todo o troço principal, das ribeiras da Laje e de Barcarena, localizado no município de Oeiras - levou à descoberta de novos núcleos da espécie, em especial na ribeira de Barcarena, onde houve um menor esforço de amostragem em 2010. Na ribeira da Laje a espécie só foi encontrada em mais dois locais até agora não prospetados, situados, no entanto, bastante perto de núcleos conhecidos (a montante e a jusante do Bairro dos Navegadores). A continuação da não deteção nas outras ribeiras do concelho, assim como a ausência de expansão para montante nas ribeiras onde ocorre permitem-nos, pela primeira vez, presumir que a distribuição da espécie no concelho de Oeiras estará razoavelmente delimitada. *X. laevis* cingir-se-á a uma extensão de cerca de 5 km na ribeira da Laje, entre o Bairro dos Navegadores e o Parque Municipal, e de cerca de 5,5 km na ribeira de Barcarena, entre S. Marcos e a Pedreira Italiana.

A estrutura das subpopulações da espécie é diferente em cada uma das ribeiras. Assim, enquanto na ribeira da Laje *X. laevis* aparece em núcleos isolados entre si, mas nos quais os animais atingem abundâncias relativamente elevadas, na ribeira de Barcarena a espécie encontra-se muito mais dispersa e apenas foram encontrados núcleos importantes associados a pegos profundos em dois locais (Lugar do Bico e Ribeira-a-Baixo). A maior dispersão dos indivíduos na ribeira de Barcarena pode estar precisamente relacionada com a falta de pegos

profundos e de águas mais calmas nesta ribeira onde os animais se possam concentrar, tal como acontece na ribeira da Laje.

Tal como verificado em 2007 (Amaral 2008; Bernardes 2008) e em 2010, a potencialidade para a reprodução de *X. laevis* nestas ribeiras parece ser relativamente reduzida. Há poucos locais com águas suficientemente calmas que mantenham os girinos durante todo o período larvar, e a sua ausência nos pegos com mais peixe levam a suspeitar que estes possam ser aí facilmente predados. *X. laevis* está assim dependente de pequenos pegos isolados, que se formam em zonas marginais após a descida do nível das ribeiras, para a sobrevivência dos girinos até à metamorfose. Infelizmente, a sua elevada fecundidade e o tipo de alimentação dos girinos (por filtração) garante a produção de muitos juvenis nos locais onde estes persistam. Assim, é importante a deteção atempada destes tipos de locais no início da estação de reprodução (abril/maio), com vista à sua alteração (por exemplo por drenagem ou colmatação) antes da produção de metamorfoseados.

#### **Sex ratio**

Tal como noutros anos, o *sex ratio* dos espécimes capturados foi desequilibrado a favor dos machos. No entanto, este padrão não foi verificado em dois locais próximos entre si na ribeira de Barcarena (Ribeira-a-Baixo e Ponte de Barcarena). A maior abundância de fêmeas indica a estabilidade de condições propícias à espécie nos últimos anos, e pode dever-se em parte à não deteção destas subpopulações em anos anteriores (dado o seu maior tamanho, as fêmeas são mais facilmente capturáveis apenas com pesca elétrica).

#### **Estrutura de tamanhos**

A maior diferença nos resultados da campanha de 2011 em relação aos de 2010 consistiu na captura de muitos mais animais na ribeira de Barcarena. Esta amostra maior permitiu a comparação da estrutura de tamanhos corporais entre as duas ribeiras, revelando que os adultos de ambos os sexos são mais pequenos na ribeira de Barcarena do que na ribeira da Laje. Partindo do princípio que a ocorrência de indivíduos de menores dimensões é um indicador de locais onde a reprodução ocorre com maior sucesso, então esta terá decorrido com maior frequência na ribeira de Barcarena. Por outro lado, os menores tamanhos observados na ribeira de Barcarena podem resultar de condições menos favoráveis para o crescimento do que na ribeira da Laje (por exemplo, pegos menos profundos e mais temporários, menor qualidade da água ou abundância de alimento). Os trabalhos de esqueletocronologia em curso permitirão avaliar qual a estrutura etária e a longevidade de cada um dos sexos nas duas ribeiras.

### **Indicadores do sucesso do primeiro ano do plano de controlo:**

Com as limitações inerentes a comparações que envolvem apenas dois anos de remoção de animais, há no entanto algumas pistas que apontam para um sucesso moderado do plano de controlo:

- Entre 2010 e 2011 o número de locais em que as capturas por unidade de esforço diminuíram foi muito maior do que aqueles em que aumentaram. Na ribeira da Laje essa diminuição foi proporcional à intensidade da remoção em 2010, indicando que não houve recuperação das subpopulações (por imigração de indivíduos ou recrutamento de juvenis) entre os dois anos;

- Em ambas as ribeiras o tamanho médio dos animais capturados foi menor em 2011 do que em 2010. Essa diferença deveu-se à captura de mais animais de tamanho reduzido, mas também à diminuição dos tamanhos máximos capturados, indicando que a campanha de 2010 pode ter removido eficazmente os animais maiores. Estes são mais conspícuos e por isso mais fáceis de capturar – pelo menos com a pesca elétrica – e são maioritariamente fêmeas. A remoção diferencial de fêmeas (especialmente as maiores, mais férteis) ajuda ao controlo da reprodução desta espécie;

- O primeiro cálculo do efetivo populacional presente no início de 2010 em vários locais produziu estimativas de várias dezenas de indivíduos nas subpopulações principais, indicando também que os dois primeiros anos de campanha poderão ter já removido perto de metade dos efetivos iniciais (e possivelmente ainda mais) em vários locais. A remoção completa de uma subpopulação pode já até ter decorrido em grande parte da ribeira da Laje, no seu troço localizado na Estação Agronómica, um dos locais com mais indivíduos em 2007 (Bernardes 2008 e Amaral 2008). A estimativa do efetivo inicial nos locais onde a espécie é mais frequente permitiu também estimar o efetivo da espécie na ribeira da Laje em pouco mais de uma centena de adultos (estimativa do número mínimo, sujeita a melhoramentos à medida que se capturarem mais indivíduos nos próximos anos). No entanto, estes indicadores de sucesso referem-se principalmente à ribeira da Laje, não sendo tão animadores para a ribeira de Barcarena. A maior extensão de área ocupada e os menores efetivos em muitos dos locais apontam para uma distribuição mais dispersa, que diminui a eficácia das ações de remoção intensiva em regiões delimitadas. Também não foi possível estimar o efetivo inicial da espécie em muitos dos locais desta ribeira, porque na realidade 2011 foi o primeiro ano em que esta ribeira foi amostrada com a mesma intensidade do que a ribeira da Laje.

### **Implicações para a prossecução do plano de controlo**

Após os dois primeiros anos do plano de controlo, a distribuição de *X. laevis* nas ribeiras da Laje e de Barcarena já é razoavelmente conhecida. No próximo ano a prospeção deverá assim

ser direcionada para as pequenas ribeiras situadas a Oeste da ribeira da Laje, ainda não prospectadas devido ao seu pequeno caudal e à reduzida extensão não regularizada e coberta. O risco de migração entre ribeiras permanece (embora seja de supor que, dado tratar-se de uma área muito humanizada, não será muito elevado), pelo que continua justificar-se a realização de ações de prospeção nas ribeiras não invadidas, assim como nas regiões mais a montante das ribeiras da Laje e de Barcarena.

Os resultados dos dois primeiros anos do plano indicam que a espécie aparenta manter efetivos relativamente reduzidos, considerando que se trata de um anfíbio que realiza posturas de vários milhares de ovos e que pode atingir densidades muito elevadas em alguns dos locais onde foi introduzido (Lobos & Measey 2002). As maiores densidades foram registadas em zonas relativamente profundas e com corrente reduzida, e foi precisamente nesses locais com maiores abundâncias que as ações de controlo tiveram mais sucesso, tendo havido uma diminuição significativa dos efetivos. Assim, estas ações deverão manter-se no próximo ano.

Em 2011, foi notória a diminuição do número de locais onde foram observados girinos. Por outro lado, foi também neste ano que foi registado o local com maior quantidade de girinos e de animais recém-metamorfoseados - o tanque da Cascata dos Poetas, localizado a cerca de 60 metros da ribeira da Laje. De referir que não está excluída a introdução intencional pelo homem, uma vez que o tanque continha também um espécime de *Carassius auratus* (pimpão) e o portão que permite o acesso ao tanque se encontrava aberto. Assim, no próximo ano deverão ser prospectados, sempre que possível, os tanques e reservatórios localizados na vizinhança das duas ribeiras. Sempre que possível, deverão ser colmatados os pequenos charcos que se formam nas margens da ribeira ao longo da primavera, uma vez que estes são os locais preferenciais para o crescimento e sobrevivência dos girinos.

Na ribeira de Barcarena os indicadores de sucesso do primeiro ano do plano de controlo são menos robustos que na ribeira da Laje e a dispersão dos animais por grandes extensões da ribeira, onde a armadilhagem não é prática, dificulta a sua captura. Por outro lado, os animais desta ribeira são mais pequenos, e o número de locais onde foram encontrados girinos ao longo dos dois anos é menor do que na ribeira da Laje. Estes resultados podem indicar a falta de condições para a reprodução e para o crescimento de adultos na ribeira de Barcarena, o que dificulta a recuperação da espécie após eventos catastróficos, como uma cheia ou uma ação de remoção de adultos. Assim, deve ser continuada nesta ribeira a combinação de metodologias de remoção adotada em 2010, assim como na ribeira da Laje.

A comprovada ausência de *X. laevis* nas regiões mais a jusante da ribeira de Barcarena e a maior abundância da espécie na região que engloba a Ponte de Barcarena e a Ribeira-a-Baixo, sugerem que, a ter havido colonização natural da ribeira de Barcarena a partir da Laje, esta terá envolvido uma travessia terrestre, provavelmente a partir da região em que a ribeira da

Laje deixa de estar regularizada, entre o Bairro da Laje e o Bairro dos Navegadores. As análises genéticas em curso poderão auxiliar na confirmação de uma origem única ou múltipla das subpopulações presentes nas duas ribeiras.

Demonstrada a capacidade da espécie em se expandir, potenciando assim os seus impactos 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 prosperados 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). 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 não constituem um impacto significativo nas respetivas populações.

## 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.
- Gosner KL (1960) A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- 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.
- 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.
- Krebs, C.J. 2009. Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance. 6th ed. [Benjamin Cummings, San Francisco](#). 655 pp.
- 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.
- 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.
- 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.
- Tinsley RC, Loumont C & Kobel HR (1996) **(a)** Geographical distribution and ecology. Pp 35-59. *In* Tinsley RC & Kobel HR (Eds) *The Biology of Xenopus*. Oxford: Clarendon Press.
- Tinsley RC & McCoid MJ (1996) **(b)** Feral populations of *Xenopus* outside Africa. Pp 81-94. *In* Tinsley RC. & Kobel HR (Eds.) *The Biology of Xenopus*. Oxford: Clarendon Press.

## ANEXOS

**ANEXO I.** Registo das coordenadas retangulares de cada um dos locais de amostragem (projeção Datum WGS 1984 Zone 29N)

	WGS 1984 Zone 29N	
	Latitude	Longitude
<b>Ribeira da Laje</b>		
Ponte Talaide	472243,0005	4287315,9993
Bairro Navegadores	472303,0005	4286940,9993
Bairro da Laje	472709,0004	4284623,9994
Estação Agron. Nacional	472573,0004	4283377,9993
Jardim Marquês Pombal	472569,0004	4282672,9993
Parque Municipal	472656,0004	4282414,9994
<b>Ribeira de Barcarena</b>		
Ponte S. Marcos	474815,0005	4289262,9994
Lugar do Bico	475072,0004	4288631,9993
Fabrica da Pólvora	475177,0005	4288187,9993
Ribeira-a-Baixo	475486,0005	4287447,9993
Ponte Barcarena	475629,7568	4287112,2557
Qta. N. Sra. Conceição	475840,0004	4286494,9994
Pedreira Italiana	476245,0004	4285072,9993
Murganhal	476253,0004	4284535,9993
<b>Ribeira de Porto Salvo</b>		
Rotunda Oliveiras	474143,9961	4285005,7745
Restaurante Canejo	474224,8860	4284927,8390
Serviços Técnicos CMO	474321,0705	4284648,2555
Serviços Técnicos CMO_b	474320,0004	4284607,9993
Tapada do Mocho	474407,2861	4283519,8159
<b>Rio Jamor</b>		
Queluz Baixo	476988,2099	4288444,4332
Quinta Gandarela	477557,4029	4286378,8153
Parque Urbano Jamor	477879,6365	4284336,3209
<b>Ribeira de Outurela</b>		
Outurela	480456,4192	4285871,5368

**ANEXO II. Número de armadilhas colocadas por local em cada etapa**

	<b>Junho 2011</b>	<b>Julho 2011</b>	<b>Agosto 2011</b>	<b>Total</b>
<b>Ribeira da Laje</b>				
Ponte Talaíde	5	5	0	10
Bairro Navegadores	10	15	4	29
Bairro da Laje	21	20	3	44
Estação Agron. Nacional	20	5	0	25
Jardim Marquês Pombal	20	20	3	43
Parque Municipal	10	10	0	20
<b>Ribeira de Barcarena</b>				
Ponte S. Marcos	10	10	0	20
Lugar do Bico	10	10	3	23
Fábrica Pólvora	5	0	0	5
Ribeira-a-Baixo	10	17	3	30
Ponte Barcarena	0	0	3	3
Qta. N. Sra. Conceição	10	8	2	20
Pedreira Italiana	10	10	0	20
Murganhal	5	0	0	5
	<b>146</b>	<b>124</b>	<b>21</b>	<b>297</b>

**ANEXO III. Duração das ações de pesca elétrica (em minutos)**

		<b>Junho</b>	<b>Julho</b>	<b>Agosto</b>	
<b>Ribeira da Laje</b>	Ponte de Talaíde	0	20	0	<b>20</b>
	Bairro Navegadores	0	62	129	<b>191</b>
	Bairro da Laje	31	43	33	<b>107</b>
	Est. Agronómica Nac.	10	10	21	<b>41</b>
	Jardim Marquês Pombal	17	65	20	<b>102</b>
	Entre Pontos	40	0	47	<b>87</b>
<b>Ribeira de Barcarena</b>	Ponte de S.Marcos	6	10	5	<b>21</b>
	Lugar do Bico	15	23	30	<b>68</b>
	Fábrica da Pólvora	3	0	0	<b>3</b>
	Ribeira-a-Baixo	23	20	35	<b>78</b>
	Ponte Barcarena	0	115	43	<b>158</b>
	Qta.N.Sra Conceição	15	80	25	<b>120</b>
	Pedreira Italiana	0	20	10	<b>30</b>
	Murganhal	0	0	10	<b>10</b>
Entre Pontos	19	72	123	<b>214</b>	
				<b>TOTAL</b>	<b>1250 (20h50m)</b>

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

	<b>Junho 2011</b>	<b>Julho 2011</b>	<b>Agosto 2011</b>	<b>Total</b>
<b>Ribeira da Laje</b>				
Ponte Talaíde	0	0	-	0
Bairro Navegadores	3	7	3	13
Hortas da Laje	-	-	-	-
Bairro da Laje	11	2	0	13
Est. Agronomica Nac.	1	0	1	2
Jardim Marquês Pombal	21	7	0	28
Parque Municipal	1	0	-	1
Entre Pontos	0	0	0	0
<b>Ribeira de Barcarena</b>				
Ponte S. Marcos	2	1	0	3
Lugar do Bico	3	9	0	12
Fábrica Pólvora	2	-	-	2
Ribeira-a-Baixo	8	8	2	18
Ponte de Barcarena	-	18	4	22
Qta. N. Sra. Conceição	7	12	1	20
Pedreira Italiana	0	1	0	1
Murganhal	0	-	-	0
Entre Pontos	2	2	0	4
	<b>61</b>	<b>67</b>	<b>11</b>	<b>139</b>