

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

RELATÓRIO ANO III (2012)



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

### **Coordenação**

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, I.P.

### **Responsável científico**

Rui Rebelo (CBA/FCUL)

### **Execução**

Ângela Maurício, Domingos Leitão e Nicolau Ser (CMO)

Mónica Sousa (ICNF)

Rui Rebelo, Ana Luísa Nunes, Gonçalo Miranda Rosa e Pedro Patrício (CBA/FCUL)

### **Colaboração**

Élio Sucena (IGC)

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

Rebelo R, Maurício A, Nunes A L & Sousa M (2012) *Plano de controlo de Xenopus laevis nas ribeiras do concelho de Oeiras*. Relatório Ano III (2012). CBA/CMO/ICNF. 36 pp.

# ÍNDICE

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	4
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	5
Área de intervenção.....	5
Metodologias de captura, identificação e armazenamento.....	8
Plano de trabalho.....	10
Calendarização .....	11
Outros trabalhos em curso .....	11
Tratamento dos resultados.....	12
<b>RESULTADOS</b> .....	14
Esforço de captura .....	14
Distribuição da espécie .....	15
Locais com reprodução confirmada .....	18
Remoção de pós-metamorfoseados.....	19
<i>Sex ratio</i> .....	22
Estrutura de tamanho corporal (SUL) .....	22
Indicadores de sucesso do programa .....	23
i) Diminuição da abundância .....	23
ii) Estimativa da proporção da população removida – locais visitados nos três anos.....	25
iii) Estimativa da proporção da população removida – locais visitados em 2011 e 2012.....	26
<b>DISCUSSÃO</b> .....	27
Distribuição .....	27
Estrutura das subpopulações.....	28
Indicadores do sucesso do plano de controlo .....	28
Implicações para a prossecução do plano de controlo .....	29
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	31
<b>ANEXOS</b> .....	33
Anexo I. Número de armadilhas colocadas por local em cada etapa.....	33
Anexo II. Duração das ações de pesca elétrica .....	34
Anexo III Registo das coordenadas retangulares dos locais de amostragem.....	35
Anexo IV. Número de indivíduos de <i>Xenopus laevis</i> capturados por local em cada etapa.....	36

## INTRODUÇÃO

No âmbito do protocolo firmado em 2011 entre o então Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade, I.P. (atualmente ICNF) - 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 o **Plano de erradicação de *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), rã-de-unhas-africana, nas ribeiras do concelho de Oeiras**, com um horizonte temporal de três anos, renovável por um período de dois anos.

*Xenopus laevis*, vulgarmente designada por 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 águas doces (Tinsley *et al.* 1996). Os adultos são quase inteiramente aquáticos e noturnos, possuindo diversas adaptações morfológicas e sensoriais a este modo de vida (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 caráter invasor das populações de *X. laevis* que foram introduzidas em diferentes regiões do mundo, assim como os seus impactos (revisão em Measey *et al.* 2012; Amaral & Rebelo 2012). *X. laevis* depreda macroinvertebrados, pequenos peixes e anfíbios (Lafferty & Page 1997; Amaral & Rebelo 2012), 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 de 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 (Amaral 2008, Bernardes 2008, Rebelo *et al.* 2010a, Rebelo *et al.* 2010b, Rebelo *et al.* 2011), 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. Há registos de erradicações com sucesso: i) numa pequena população isolada que habitava um lago artificial, na Universidade da Califórnia, nas águas do qual foi aplicada uma

substância tóxica (Tinsley & McCoid 1996); 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 1996); iii) no País de Gales, onde a campanha de erradicação que teve início em 1980 e acabou em 1990 conseguiu remover a espécie de uma bacia com 61 km<sup>2</sup> (Measey *et al.* 2012); iv) no Parque Natural *Golden Gate* (Califórnia, EUA), onde a campanha envolveu a remoção física de exemplares e durou três anos (Measey *et al.* 2012).

No âmbito do plano de controlo de *X. laevis*, foi dada continuidade à sua execução durante o ano de 2012, sendo assim apresentados os resultados deste terceiro ano, de acordo com os seguintes aspetos:

1. Distribuição atualmente conhecida da espécie e a identificação dos locais onde se reproduz;
2. *Sex ratio* e o tamanho corporal dos animais capturados em cada ribeira;
3. Estimativas do sucesso no controlo da espécie em alguns locais, com vista à sua erradicação.

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

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **ÁREA DE INTERVENÇÃO**

A área de intervenção do plano compreende as bacias das ribeiras da Laje, Barcarena, Porto Salvo, Outurela e do rio Jamor (figura 1). 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 com áreas muito reduzidas.

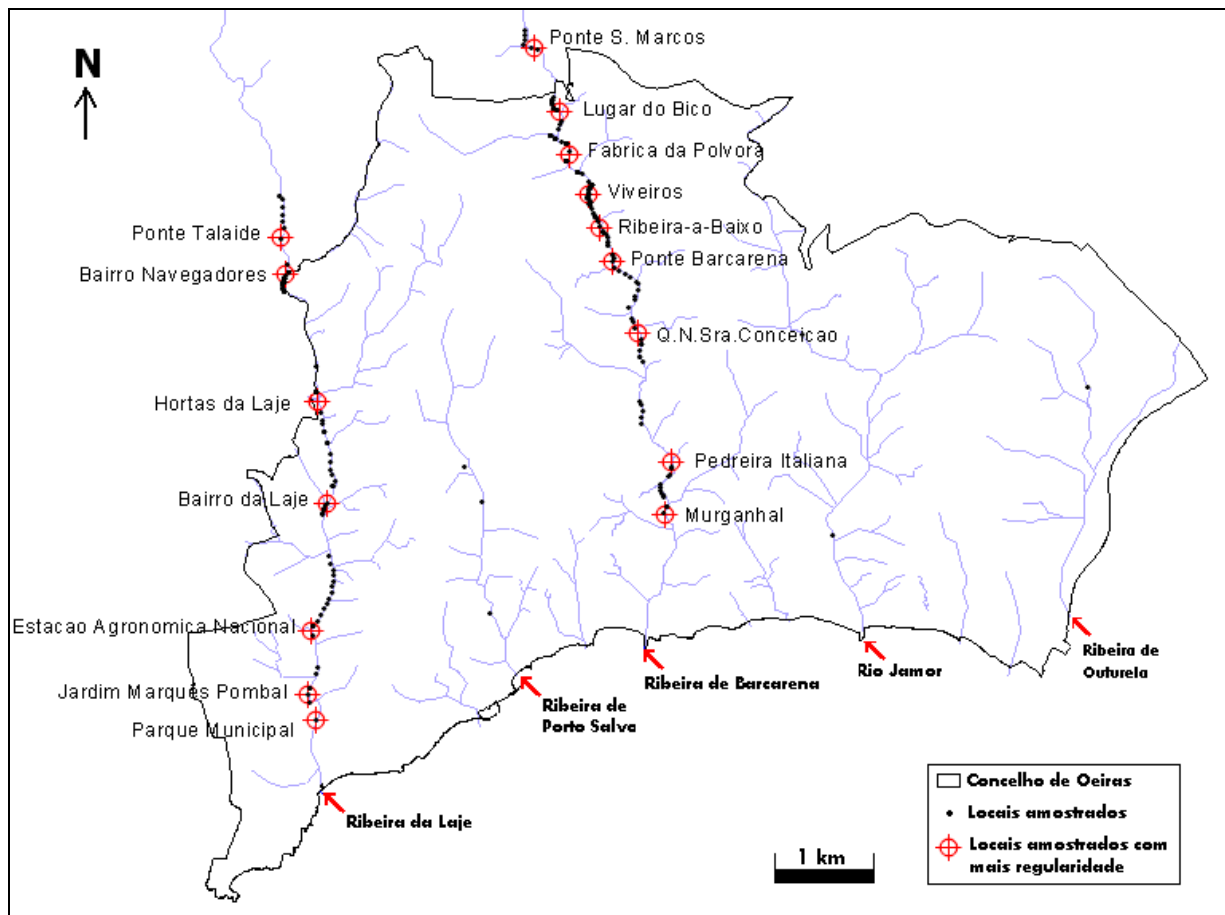


Figura 1 – Área de intervenção do plano. Estão representados os cinco cursos de água amostrados e indicados os locais de amostragem em 2012.

Ao longo dos três anos de execução do plano de controlo as extensões de ribeira percorridas têm aumentado sucessivamente. Assim, após um primeiro ano de prospeção e remoção de indivíduos em vários troços espaçados regularmente pelas duas ribeiras principais e uma ribeira secundária, no segundo e terceiro anos a prospeção e remoção de indivíduos foram alargadas às zonas localizadas entre esses troços, abrangendo no terceiro ano praticamente toda a extensão das ribeiras da Laje e de Barcarena (figuras 2 a 4) e ainda vários pontos dos restantes três cursos de água. Como consequência deste faseamento, os vários troços das cinco ribeiras alvo podem ser atualmente classificados em três grupos, onde já decorreram três, duas ou apenas uma campanha de remoção de adultos. Neste relatório, cada troço é identificado em função do número de campanhas que nele já decorreu, de acordo com a seguinte tipologia: “3 anos”; “2 anos” e “1 ano”.

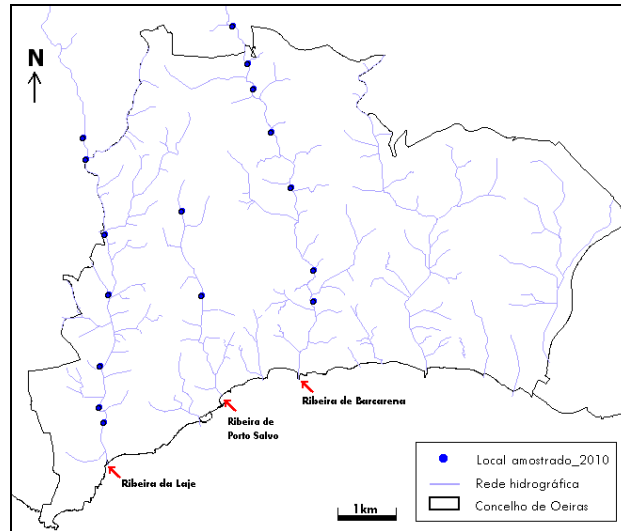


Figura 2 – Locais amostrados em 2010.

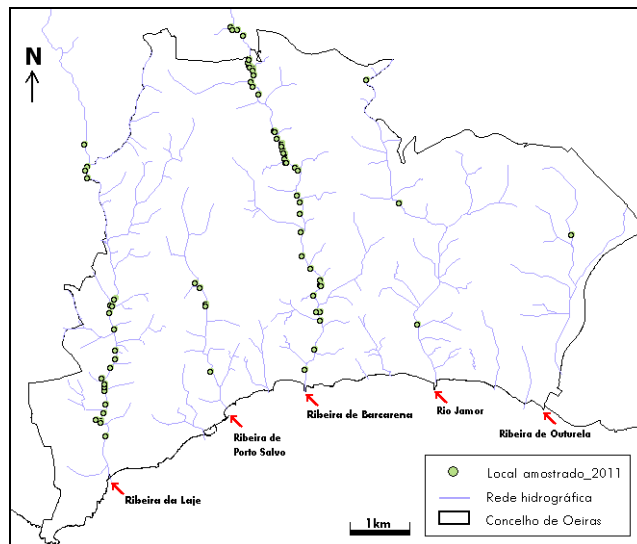


Figura 3 – Locais amostrados em 2011.

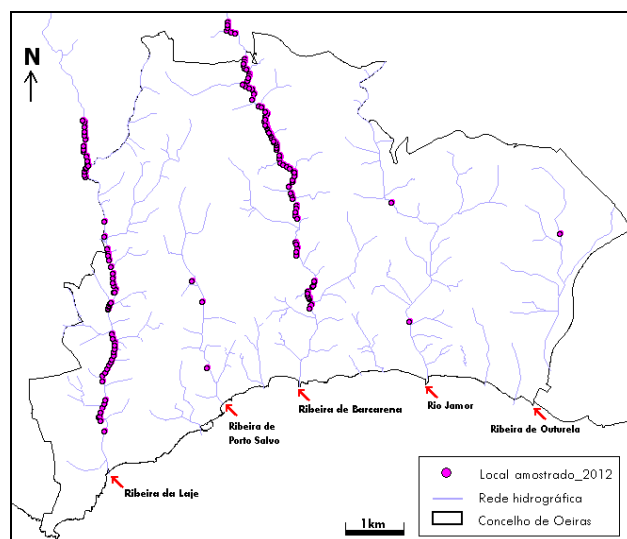


Figura 4 – Locais amostrados em 2012.

## METODOLOGIAS DE CAPTURA, IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO

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 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 jusante (figura 5). O número de armadilhas utilizadas variou consoante as características do sítio, nomeadamente as dimensões dos pegos de cada ribeira (anexo I).



Figura 5 – 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 6). A duração dos períodos de pesca variou em função da extensão e profundidade dos troços percorridos (anexo II).

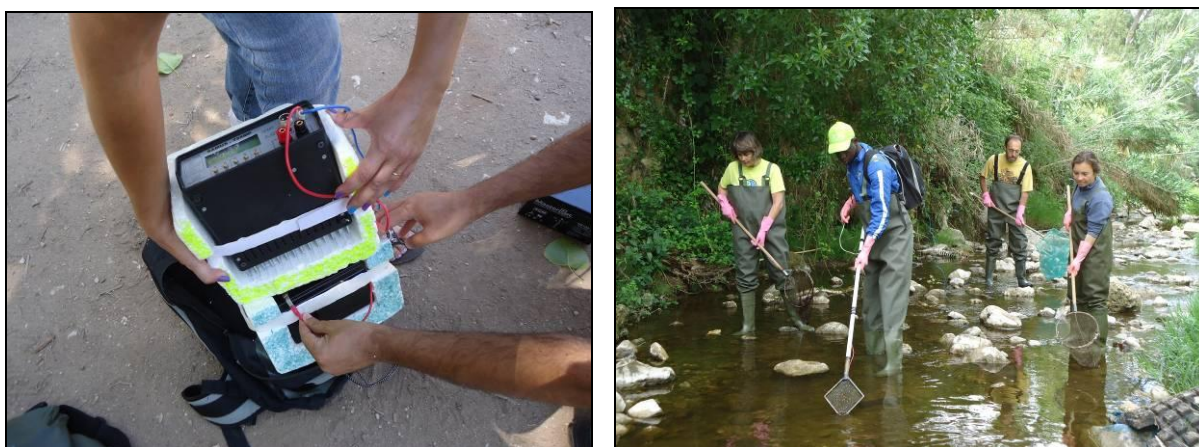


Figura 6 – Equipamento de pesca elétrica (aparelho de transporte dorsal com bateria).



Os girinos de *X. laevis* detetados durante a prospeção foram removidos do leito para a margem, com o auxílio de camaroeiro. Foi identificado o estágio de desenvolvimento (Gosner 1960) dos girinos mais próximos da metamorfose, com o objetivo de sinalizar os troços de ribeira onde a espécie terá mais probabilidade de se reproduzir com sucesso (ou seja, onde os girinos têm maior probabilidade de chegar à metamorfose).



Figura 7 – Girinos de *X. laevis*.

Todos os indivíduos capturados foram colocados em sacos individuais devidamente identificados (figura 8), 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 8 - Individualização dos espécimes capturados.

O sexo dos espécimes foi determinado pela verificação das almofadas nupciais, que se apresentam como uma coloração mais escura na zona interna dos membros anteriores, e que identificam os machos (Bernardes 2008) (figura 9). Uma vez que os machos têm um tamanho menor do que as fêmeas, 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 *et al.* 2010b).



Figura 9 – *X. laevis*: a) macho (coloração mais escura na face inferior dos membros anteriores); b) fêmea (sem essa coloração).

#### PLANO DE TRABALHO

As ações realizadas em 2012 seguiram o mesmo plano de trabalho dos anos anteriores:

- 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 2011, e amostragens pontuais em ribeiras adjacentes, onde a espécie ainda não foi encontrada (rio Jamor e ribeiras de Porto Salvo e de 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. Para além da amostragem nos cursos de água, foi efetuada a despistagem de *X. laevis* no tanque que alimenta a Cascata dos Poetas – fonte situada no Jardim do Marquês de Pombal onde a espécie foi detetada em 2011 (figura 10). Foram também prospetados todos os tanques localizados na vizinhança das ribeiras aos quais houve acesso. O registo das coordenadas retangulares dos locais visitados foi realizado através do Sistema de Posicionamento



Global (GPS) *eTrex* da *Garmin*, encontrando-se as mesmas listadas no anexo III para a projeção Lisboa Hayford Gauss IGeoE.

- 2) Remoção intensiva de adultos nos locais onde a espécie foi encontrada em 2010 ou 2011. Os espécimes foram capturados quer com pesca elétrica, quer com armadilhas.



Figura 10 – Prospecção no Tanque da Cascata dos Poetas (à esquerda) e na Ribeira do Jamor (à direita).

#### CALENDARIZAÇÃO

À semelhança dos dois anos anteriores, em 2012 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 4 e 15 de junho, a segunda etapa entre 9 e 20 de julho e a terceira, com uma duração de cinco dias, decorreu entre 7 e 14 de agosto. Em todas as etapas foram realizadas ações de prospecção e de remoção.

#### OUTROS TRABALHOS EM CURSO

Durante 2012 foram continuados os seguintes trabalhos:

- i) confirmação genética da identidade da espécie;
- ii) estimativa da idade dos animais até agora capturados por análise esqueletocronológica (tal como em Measey 2001);
- iii) identificação dos parasitas sanguíneos mais comuns nesta espécie. Os esfregaços sanguíneos foram obtidos nos laboratórios da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa a partir de animais recém-mortos;

iv) prospeção da presença do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis*, patogênico para anfíbios nativos, na pele dos exemplares capturados. Os esfregaços de pele foram obtidos no campo, logo após a captura dos animais (figura 11).



Figura 11 – Esfregaço de pele para detecção do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis*.

Devido ao desfasamento entre a época de atividade dos animais (coincidente com a campanha de campo) e o ano letivo, todos os trabalhos acima elencados encontram-se atualmente em análise, no âmbito de teses de mestrado e doutoramento em curso.

#### **TRATAMENTO DOS RESULTADOS**

A abundância da espécie nos vários locais foi expressa em capturas por unidade de esforço (CPUE) – por armadilha/dia x 100, no caso das capturas com armadilhas, e por 100 minutos, no caso das capturas realizadas com pesca elétrica.

Uma vez que os dois métodos de captura não têm a mesma eficácia e diferem também na estrutura de tamanhos de animais potencialmente capturáveis, todas as análises foram realizadas separadamente para as capturas obtidas por cada método. Os resultados obtidos com os diferentes métodos de captura não são assim comparáveis.

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:

- i) a variação de abundância relativa nos troços de ribeira onde as ações de remoção já decorrem há três e há dois anos. Esta variação foi calculada sobre os valores de capturas por unidade de esforço e separadamente para cada método de remoção.
- ii) uma estimativa do número de animais presente em alguns dos locais onde as ações de remoção decorrem há três anos. Para cada local foram obtidas duas estimativas, correspondendo aos dois métodos de captura (armadilhagem e pesca elétrica). As estimativas foram obtidas pelo método de Hayne (Brower *et al.* 1998), que consiste numa adaptação de uma regressão linear à distribuição de pontos que relaciona os valores de CPUE com o número acumulado de indivíduos capturados. A extrapolação da função para um CPUE nulo (correspondente à não-captura de indivíduos com um elevado esforço de captura) permite estimar qual o efetivo inicial. Esta estimativa só pode ser efetuada em locais onde é registada uma tendência para o CPUE diminuir com o tempo e assume que não há imigração ou recrutamento entre os episódios de remoção. Apesar de estes pressupostos não se verificarem estritamente para as populações locais de *X. laevis* nas ribeiras de Oeiras, os valores aparentemente reduzidos de imigração e de recrutamento até agora documentados (Rebelo *et al.* 2010b; Rebelo *et al.* 2011) não deverão inviabilizar o seu cálculo. A partir desta estimativa foi também possível estimar qual a fração da população inicial que já terá sido removida nos três anos do plano de controlo em alguns locais.
- iii) uma estimativa do número de animais presente em alguns dos locais onde as ações de remoção decorrem há apenas dois anos. A partir da taxa de diminuição das capturas entre 2011 e 2012 também é possível obter uma estimativa – menos precisa que a anterior - do número de animais ( $N_i$ ) presente no início de 2011. Para cada local foram também 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  $n_2$  a remoção 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  $N_i \pm 1.96$  (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). Para os locais onde o  $N_i$  pode ser estimado, este valor pode também ser comparado com o número de animais realmente removidos no total dos dois anos. Para esta estimativa também se considerou que o recrutamento de adultos para cada população local terá sido reduzido de um ano para outro.

## RESULTADOS

### ESFORÇO DE CAPTURA

No decorrer dos três anos do plano o esforço de captura tem vindo a intensificar-se, quer em relação ao número de armadilhas colocadas, quer em relação ao tempo de pesca elétrica (figuras 12 e 13). Tal deve-se ao aumento de conhecimento do terreno e da experiência da equipa, e também à utilização de um aparelho de pesca elétrica mais leve e de utilização mais fácil durante parte de 2011 e em 2012. É de notar que o esforço de amostragem tem sido sempre crescente na ribeira de Barcarena, enquanto que na ribeira da Laje o esforço de armadilhagem estabilizou no terceiro ano. Isto deve-se à diminuição acentuada de efetivos em alguns dos locais da Laje (ver mais abaixo) e ao facto de, nestas condições de raridade, a pesca elétrica ser mais eficaz que a armadilhagem.

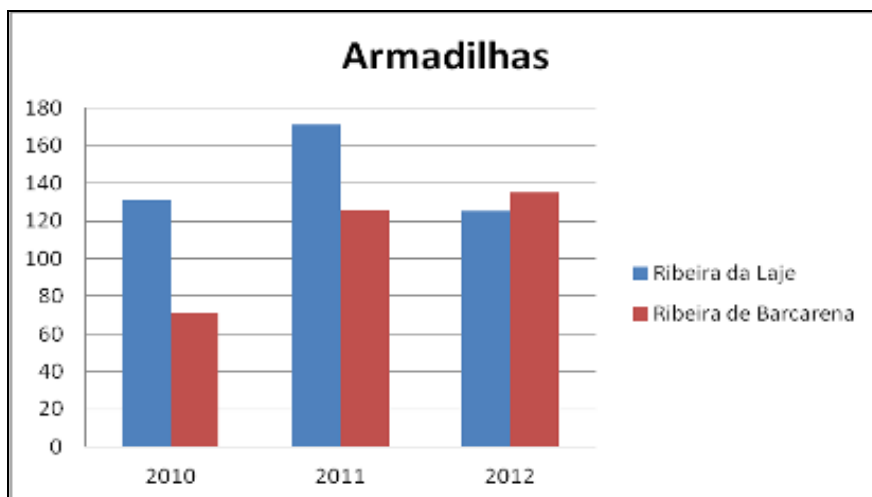


Figura 12 – Esforço de captura ao longo dos três anos do plano – número de armadilhas colocadas.

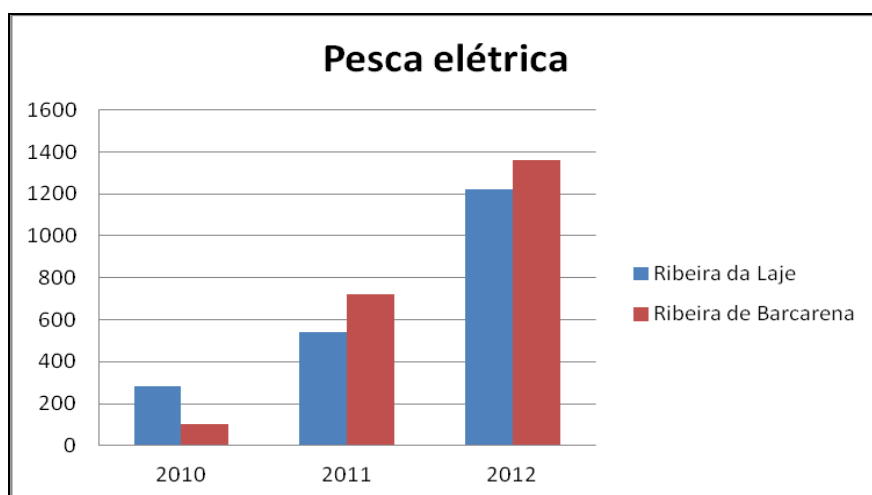


Figura 13 – Esforço de captura ao longo dos três anos do plano – minutos de pesca elétrica.

#### DISTRIBUIÇÃO DA ESPÉCIE

As extensões de ribeira percorridas e os locais onde foi identificada a presença de *X. laevis* ao longo dos três anos de duração do programa estão ilustradas nas figuras 14, 15 e 16. Dada a extensão dos trabalhos de prospeção em 2012 e a intensidade do trabalho desenvolvido, a distribuição da espécie apresentada na figura 16 deverá ser muito aproximada da real. Ao longo dos três anos não houve nenhum registo nas ribeiras de Porto Salvo, Outurela, e no rio Jamor. Em 2012 a espécie foi encontrada em mais locais do que em 2010 e 2011. Com duas exceções, todas as novas localizações descobertas em 2012 estão na vizinhança de outros locais onde a espécie já era conhecida e que ainda não tinham sido visitados. A primeira exceção foi a

descoberta de um local no Bairro dos Navegadores (ribeira da Laje), cerca de 50 metros a montante do limite conhecido da espécie em 2011. A segunda, mais significativa, foi a descoberta de uma população reprodutora perto do Murganhal, no ponto mais a jusante da ribeira de Barcarena, onde a espécie não foi detetada nos dois primeiros anos do programa.

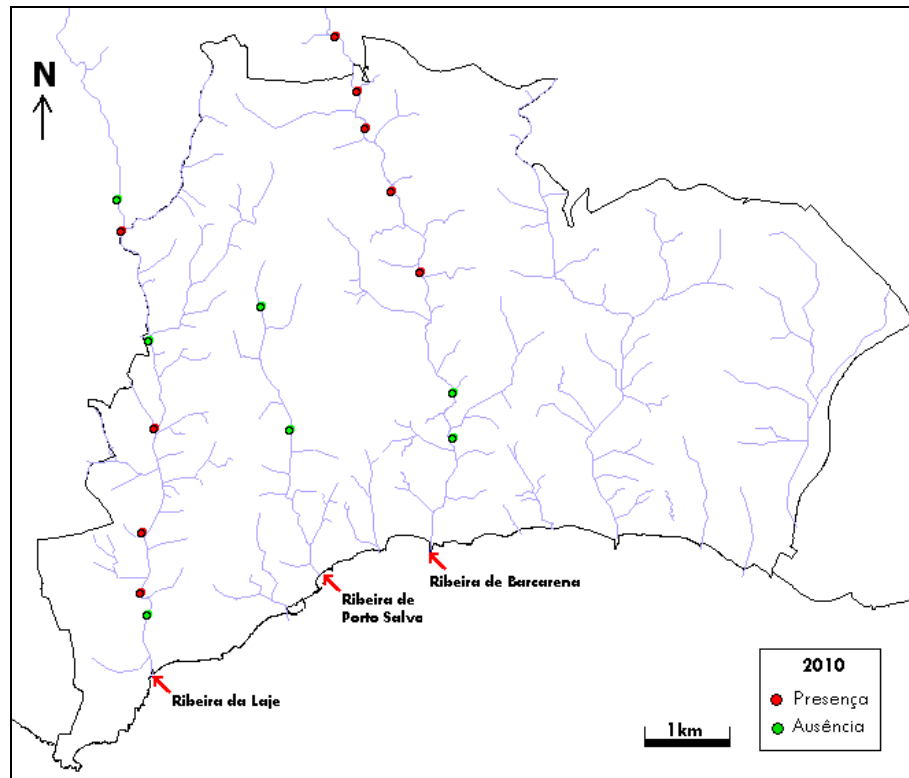


Figura 14 – Resultados da campanha de 2010.



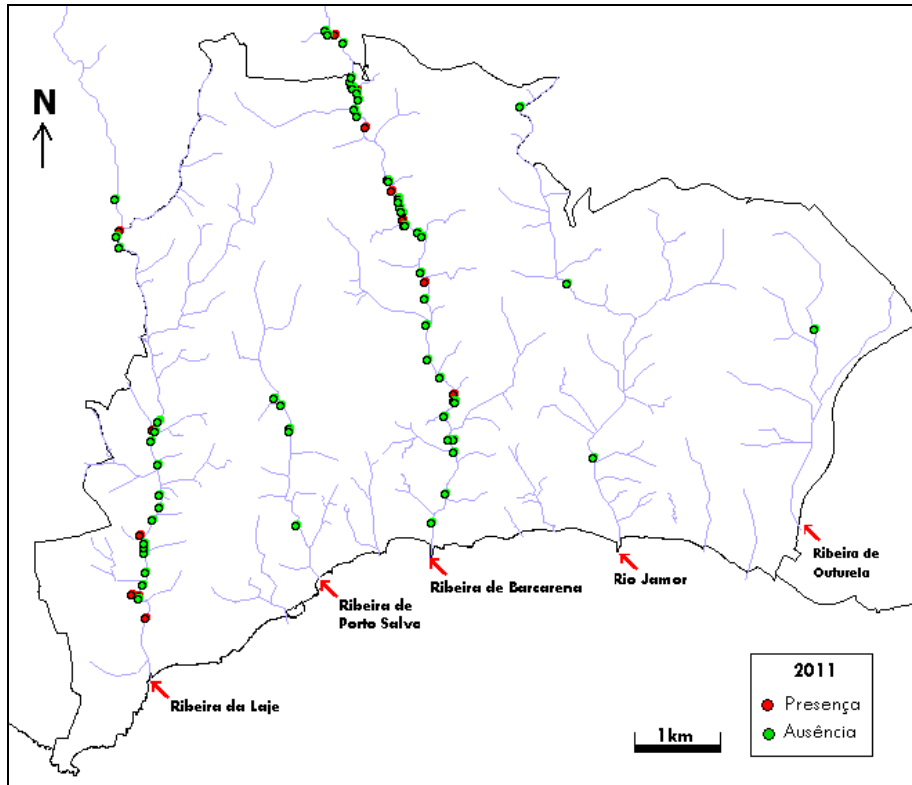


Figura 15 – Resultados da campanha de 2011.

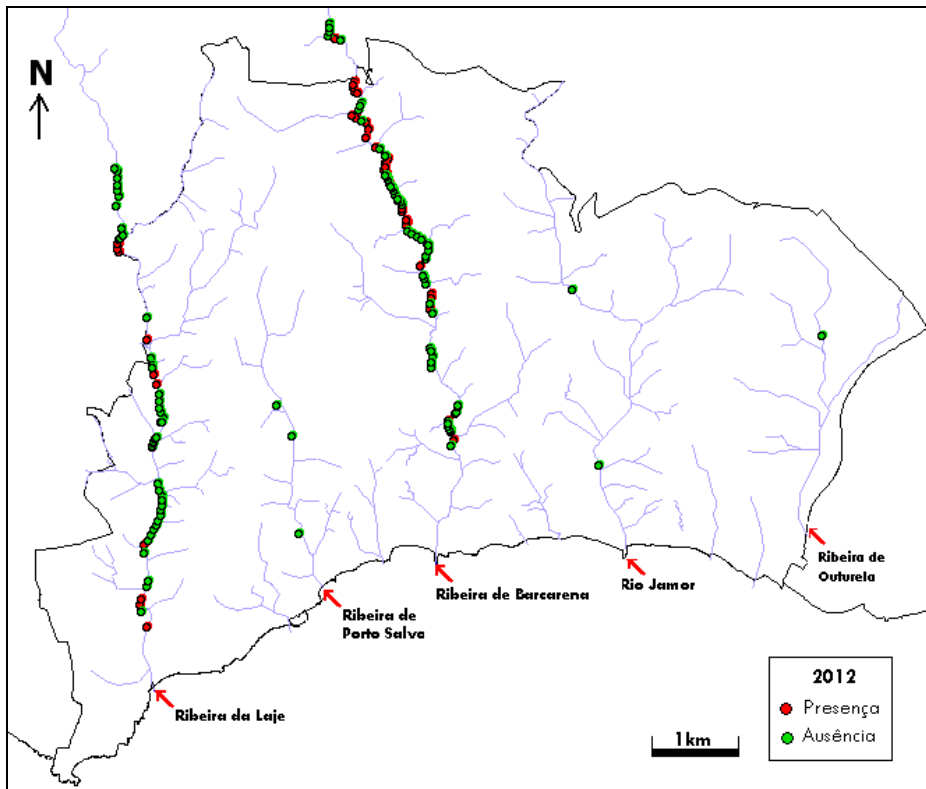


Figura 16 – Resultados da campanha de 2012.

### LOCAIS COM REPRODUÇÃO CONFIRMADA

Em 2012 não foram observadas posturas de *X. laevis*; no entanto foram observados girinos (em número superior a 300, removidos para a margem) em mais locais do que em 2011. Na ribeira da Laje, a maioria dos girinos foram observados em dois locais: Bairro dos Navegadores e Jardim do Marquês de Pombal. Estes são os mesmos locais onde foram observados girinos em 2011; consideravelmente menos que em 2010 (figura 17) e 2007<sup>1</sup> (Bernardes 2008). Na ribeira de Barcarena, foram observados girinos em vários pontos em redor do Lugar do Bico, na Fábrica da Pólvora e, muito mais a jusante, no Murganhal (figura 17). Com a exceção da região em redor do Lugar do Bico, são menos locais que os registados em 2010.

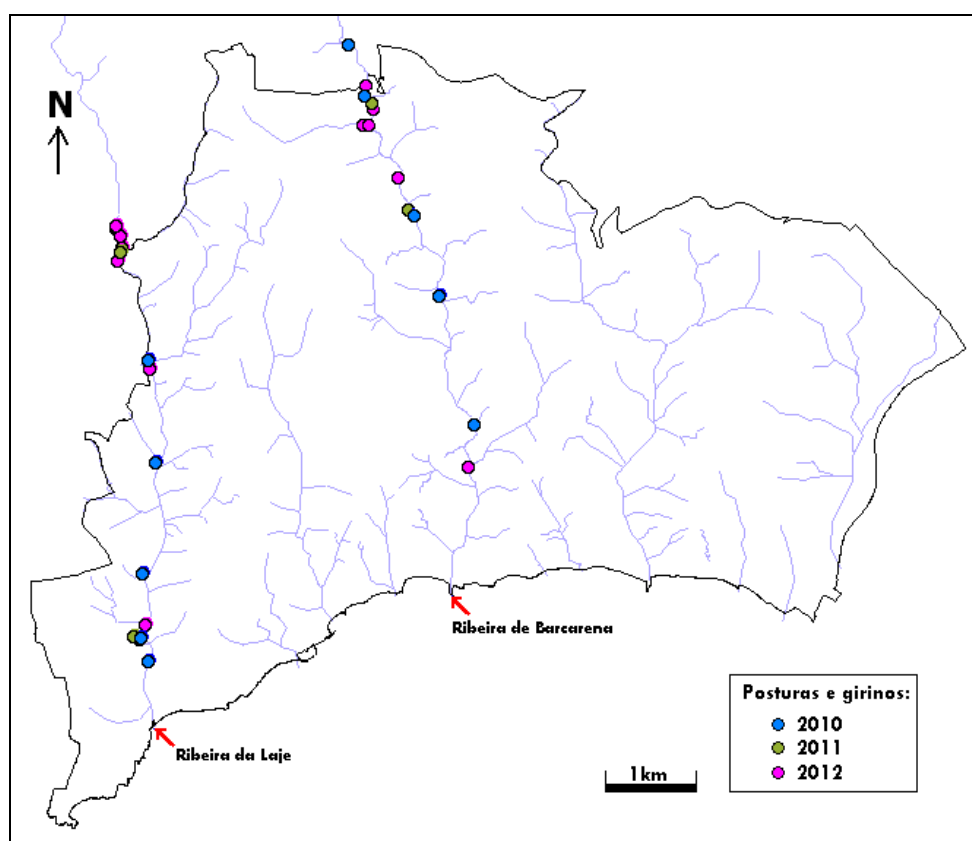


Figura 17. Presença de girinos de *X. laevis* nas ribeiras da Laje e de Barcarena ao longo dos três anos do plano.

Apenas no Jardim do Marquês de Pombal (ribeira da Laje) e Murganhal (ribeira de Barcarena) foram encontrados girinos em estádios perto da metamorfose (estádios 39 a 43; Gosner 1960). Não foi encontrado nenhum local com uma elevada quantidade de girinos nestes estádios. De

<sup>1</sup> Bernardes (2008) regista a ocorrência de girinos em Bairro da Laje, Estação Agronómica Nacional e Jardim do Marquês de Pombal.

referir que não foi encontrado nenhum girino no Tanque da Cascata dos Poetas, situado no Jardim do Marquês de Pombal, uma indicação do sucesso da campanha de remoção de girinos de 2011.

Em 2012 foram observados girinos pela primeira vez em três locais. Dois desses locais - Hortas da Laje e Fábrica da Pólvora - foram amostrados intensivamente pela primeira vez apenas em 2012. O terceiro – Murganhal – foi visitado nos três anos; a reprodução em 2012 corresponderá assim a um acontecimento não registado até ao presente. Apenas no Jardim do Marquês de Pombal (ribeira da Laje) e Lugar do Bico (ribeira de Barcarena) foram observados girinos nos três anos do plano de controlo.

Em comparação com os anos anteriores, 2012 caracterizou-se pela captura de juvenis em muito mais locais. Estes indivíduos, que constituem uma evidência do sucesso reprodutor da espécie há dois ou três anos (o tempo que presumivelmente levarão até atingir os tamanhos registados neste trabalho; Measey 2001), foram capturados em grandes quantidades apenas na ribeira de Barcarena, onde constituíram 39% da amostra (na ribeira da Laje constituíram apenas 10%, um número semelhante ao dos anos anteriores). Na ribeira de Barcarena as capturas de juvenis aconteceram principalmente nos troços de ribeira localizados entre Lugar do Bico e Viveiros, regiões que só foram visitadas em 2012.

#### **REMOÇÃO DE PÓS-METAMORFOSEADOS**

Durante a campanha de 2012 foram capturados 212 animais pós-metamorfoseados (adultos e juvenis) de *X. laevis*. Na ribeira da Laje foram capturados 62 animais e na ribeira de Barcarena 150 (anexo IV). Pela primeira vez foram capturados mais animais na ribeira de Barcarena que na ribeira da Laje.

Na ribeira da Laje, o Bairro dos Navegadores foi o local onde se registou o maior número de capturas (n=39) (tabela 1). Nos locais onde foram capturados mais animais em 2010 e 2011 – Jardim do Marquês de Pombal e Bairro da Laje – o número de capturas diminuiu muito em 2012. Na ribeira de Barcarena o maior número de capturas (n=38) ocorreu nos Viveiros (tabela 1), local esse amostrado em 2012 pela primeira vez. Aliás, como se pode verificar na tabela 1, de um modo geral há uma relação inversa entre o número de animais capturados num local e o tempo (número de anos) dedicado à sua remoção nesse mesmo local.

Tabela 1. Número de *X. laevis* capturados em 2012 por local. O algarismo indicado sob a sigla de cada local corresponde ao número de anos de campanhas de remoção nesse local (ver o anexo IV para as capturas por etapa).

<b>Ribeira da Laje</b>	<b>PT</b> <b>(3)</b>	<b>BN</b> <b>(3)</b>	<b>BN-HL</b> <b>(1)</b>	<b>HL</b> <b>(1)</b>	<b>BL</b> <b>(3)</b>	<b>EA</b> <b>(3)</b>	<b>JM</b> <b>(3)</b>	<b>PM</b> <b>(3)</b>
	0	39	2	12	0	4	4	1

<b>Ribeira de Barcarena</b>	<b>SM</b> <b>(2)</b>	<b>LB</b> <b>(2)</b>	<b>LB-FP</b> <b>(1)</b>	<b>FP</b> <b>(1)</b>	<b>FP-VI</b> <b>(1)</b>	<b>VI</b> <b>(1)</b>	<b>RA</b> <b>(2)</b>	<b>PB</b> <b>(2)</b>	<b>PB-NS</b> <b>(1)</b>	<b>NS</b> <b>(2)</b>	<b>NS-PI</b> <b>(1)</b>	<b>PI</b> <b>(2)</b>	<b>PI-M</b> <b>(1)</b>	<b>M</b> <b>(2)</b>
	1	20	16	25	27	38	8	4	1	5	1	0	1	3

**Ribeira da Laje** - PT - Ponte Talaíde; BN - Bairro dos Navegadores, BN-HL – troço entre o Bairro dos Navegadores e as Hortas da Laje; HL - Hortas da Laje; BL - Bairro da Laje; EA - Estação Agronómica Nacional; JM - Jardim do Marquês de Pombal; PM - Parque Municipal de Oeiras;

**Ribeira de Barcarena** - SM - Ponte de São Marcos; LB - Lugar do Bico; LB-FP – troço entre o Lugar do Bico e a Fábrica da Pólvora; FP - Fábrica da Pólvora; FP-VI – troço entre a Fábrica da Pólvora e os Viveiros; VI – Viveiros; RA – Ribeira-a-Baixo; PB – Ponte de Barcarena; PB-NS – troço entre Ponte de Barcarena a Quinta de Nossa Senhora da Conceição; NS – Quinta de Nossa Senhora da Conceição; NS-PI – troço entre Quinta de Nossa Senhora da Conceição e Pedreira Italiana; PI - Pedreira Italiana; PI-M – troço entre Pedreira Italiana e Murganhal; M- Murganhal.

Considerando que o esforço de captura foi diferente em cada local, as figuras 18 e 19 permitem uma comparação da abundância da espécie nos vários locais, separadamente para cada método de captura. É perceptível a maior eficácia da pesca elétrica, por oposição à armadilhagem. No entanto, qualquer que seja o método de captura são detetados alguns padrões de distribuição : 1) uma maior abundância na ribeira de Barcarena em comparação com a ribeira da Laje; 2) uma maior dispersão dos animais ao longo da ribeira de Barcarena; 3) a identificação dos núcleos de maior abundância da espécie na região do Bairro dos Navegadores (ribeira da Laje) e nos troços entre o Lugar do Bico e os Viveiros (ribeira de Barcarena).

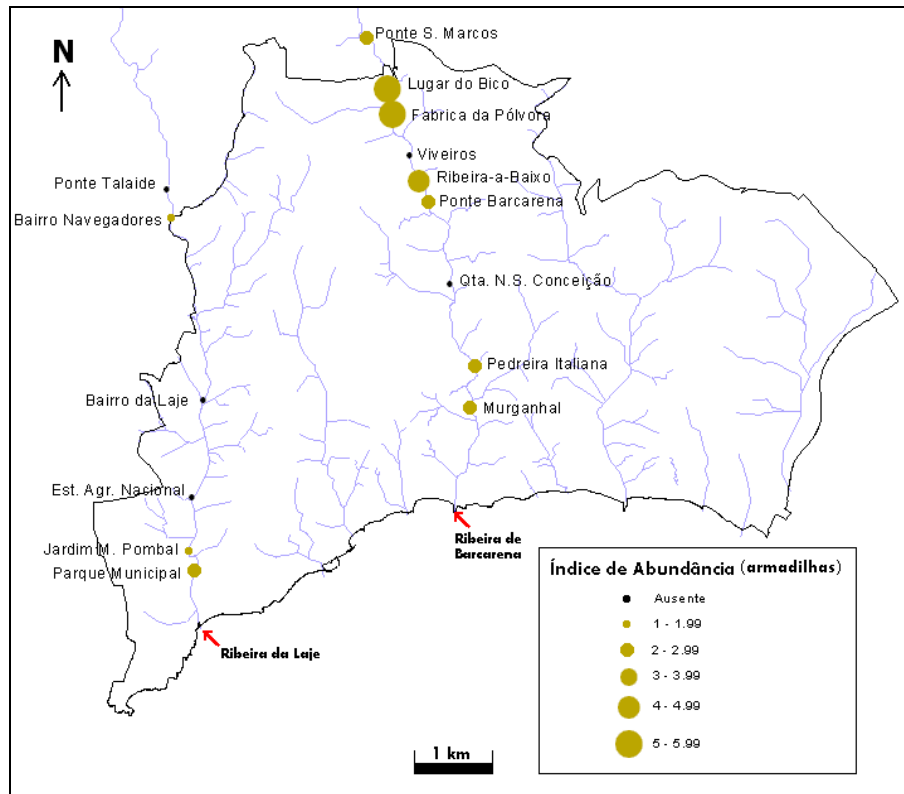


Figura 18. Número de capturas/100 armadilhas/dia em cada local amostrado.

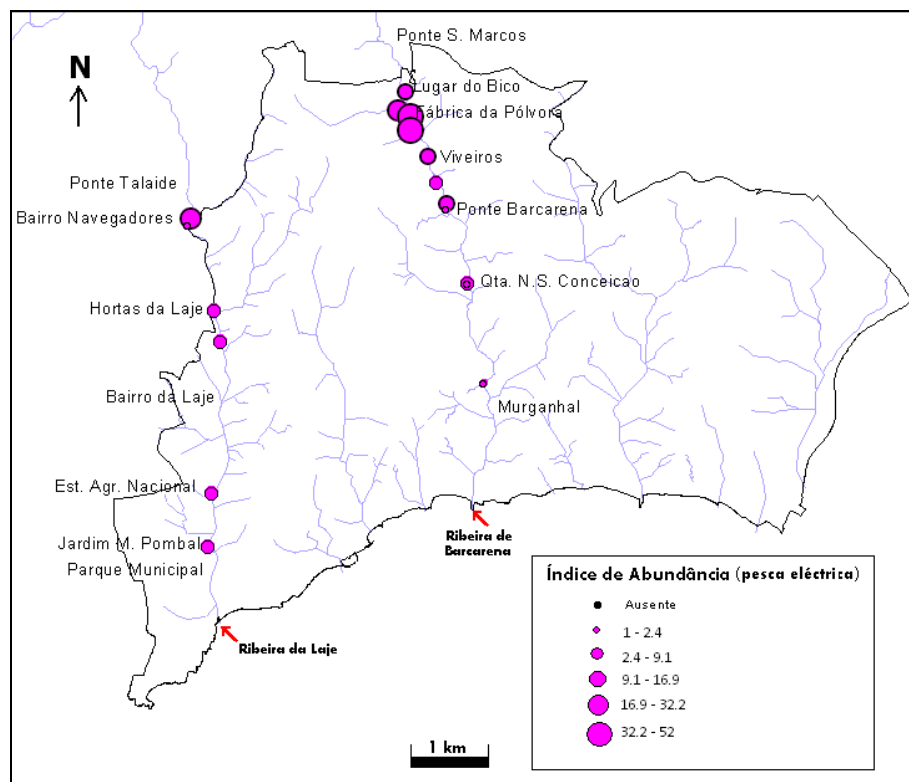


Figura 19. Número de capturas/100 minutos de pesca eléctrica em cada local amostrado.

### SEX RATIO

Este parâmetro variou bastante entre os vários locais de remoção, com uma tendência para *sex-ratios* desequilibrados em favor dos machos em Hortas da Laje (ribeira da Laje) e um evidente desequilíbrio em favor das fêmeas em todos os pontos de amostragem da ribeira de Barcarena (figura 20).

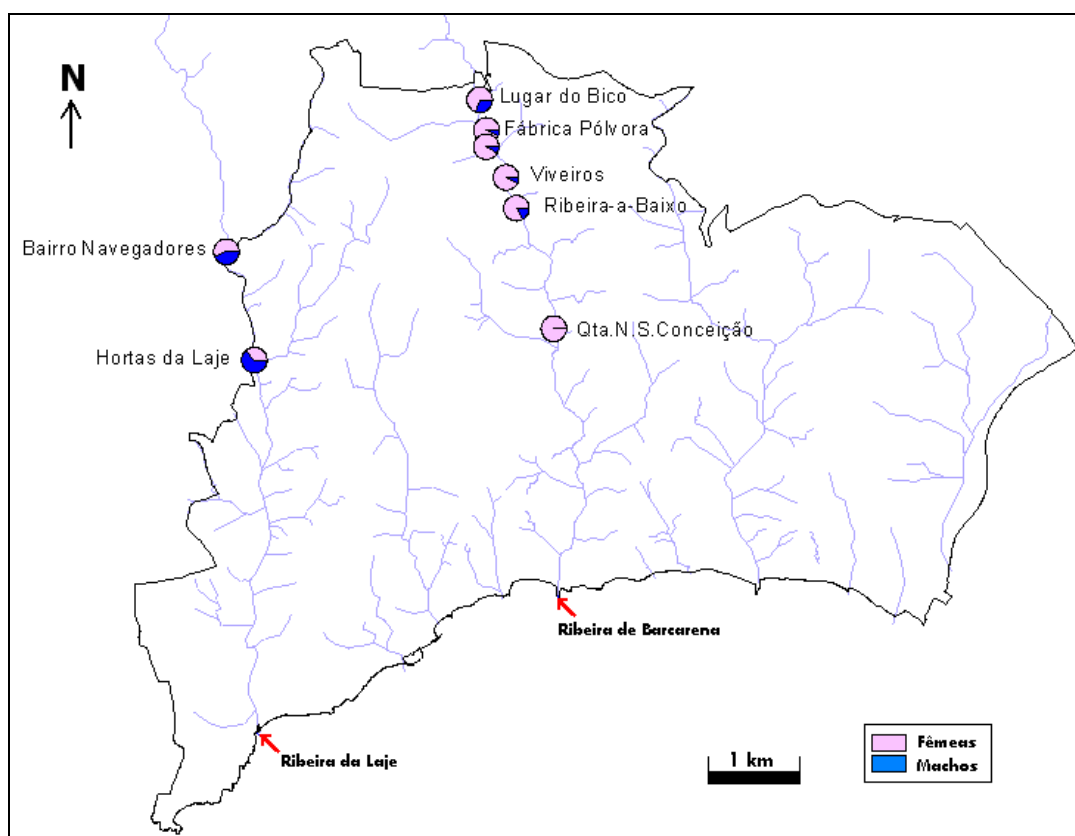


Figura 20. Proporções de cada sexo da amostra constituída pelo total dos animais adultos capturados em cada ponto de amostragem (apenas foram considerados os locais com 5 ou mais adultos capturados).

### ESTRUTURA DE TAMANHO CORPORAL (SUL)

Considerando apenas os animais adultos, na ribeira da Laje o SUL<sup>2</sup> médio das fêmeas foi de 103.5±5.33 mm e o dos machos de 76.94±3.55 mm. Na ribeira de Barcarena, também as fêmeas tiveram um SUL médio superior (78.53±2.09 mm), em relação aos machos (68.13±4.03 mm), resultados esperados e correspondentes ao dimorfismo sexual característico desta espécie (figura 21).

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



Figura 21. Dimorfismo sexual da espécie (fêmea à esquerda e macho à direita)

Houve diferenças significativas no tamanho corporal médio dos animais entre as duas ribeiras, quer para os machos ( $t_{57}=3.18$ ;  $p<0,01$ ), quer para as fêmeas ( $t_{28}=3.3$ ;  $p<0,01$ ). Em ambos os casos os animais de dimensão maior foram encontrados na ribeira da Laje. Este padrão é em tudo semelhante aos primeiros dois anos do plano de controlo.

#### INDICADORES DE SUCESSO DO PROGRAMA

##### *i) Diminuição da abundância*

Em comparação com os anos anteriores, é de notar uma diminuição marcada das abundâncias em alguns troços de ribeira onde as ações de remoção intensiva decorreram durante os três anos (todos localizados na ribeira da Laje). Esta diminuição é notória no Jardim do Marquês de Pombal e no Bairro da Laje - onde a espécie era mais abundante no início do plano de controlo (Rebelo *et al.* 2010b) - para ambos os métodos de remoção de indivíduos (figuras 22 e 23). Contrariamente ao que seria de esperar houve um ligeiro aumento no número de animais capturados no Parque Municipal (figura 22) e na Estação Agronómica Nacional (figura 23), locais esses onde o número de capturas foi sempre mais baixo.

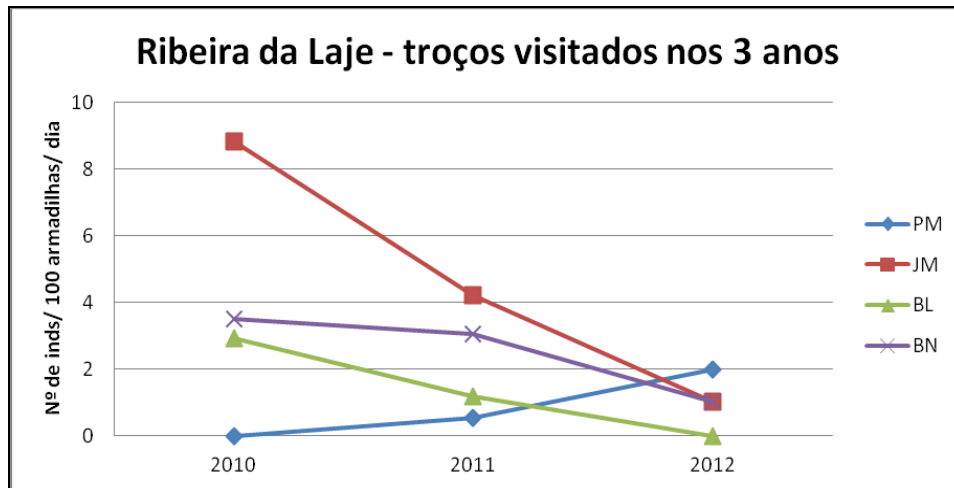


Figura 22. Variação nos índices de abundância ao longo dos três anos de controlo para a ribeira da Laje – animais capturados em armadilhas. [PM- Parque Municipal; JM – Jardim do Marquês de Pombal; BL – Bairro da Laje; BN – Bairro dos Navegadores].

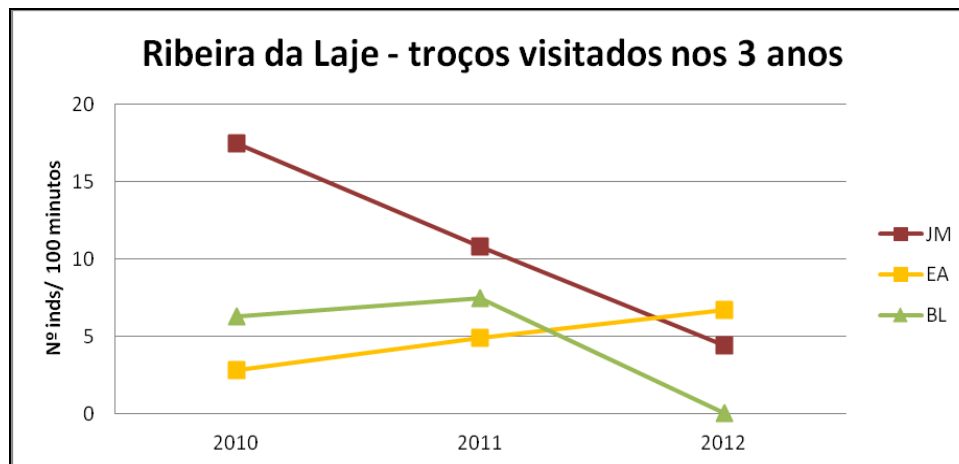


Figura 23. Variação nos índices de abundância ao longo dos três anos de controlo para a ribeira da Laje – animais capturados com pesca elétrica. [JM – Jardim do Marquês de Pombal; EA – Estação Agronómica; BL – Bairro da Laje].

Na ribeira de Barcarena o esforço intensivo de remoção de pós-metamorfoseados só começou em 2011 e os seus resultados ainda não são visíveis em todos os locais em 2012 (figuras 24 e 25). Em Ribeira-a-Baixo, Ponte de Barcarena e Quinta de N<sup>a</sup> Sr<sup>a</sup> da Conceição, as capturas diminuíram, qualquer que seja o método de captura considerado. Estes três locais são próximos entre si (figura 1) e correspondem à região identificada com maior abundância de indivíduos em 2011 (Rebelo *et al.* 2011). No entanto, em Lugar do Bico os resultados foram opostos consoante o método considerado, e para os outros locais as capturas aumentaram entre 2011 e 2012. Grande parte destas capturas refere-se a indivíduos juvenis.





Figura 24. Variação nos índices de abundância entre 2011 e 2012 para a ribeira da Barcarena – animais capturados com armadilhas. [M – Murganhal; PI – Pedreira Italiana; NS – Quinta de N<sup>a</sup> Sr<sup>a</sup> da Conceição; RA – Ribeira Abaixo; FP – Fábrica da Pólvora; LB – Lugar do Bico; SM – Ponte de S. Marcos].

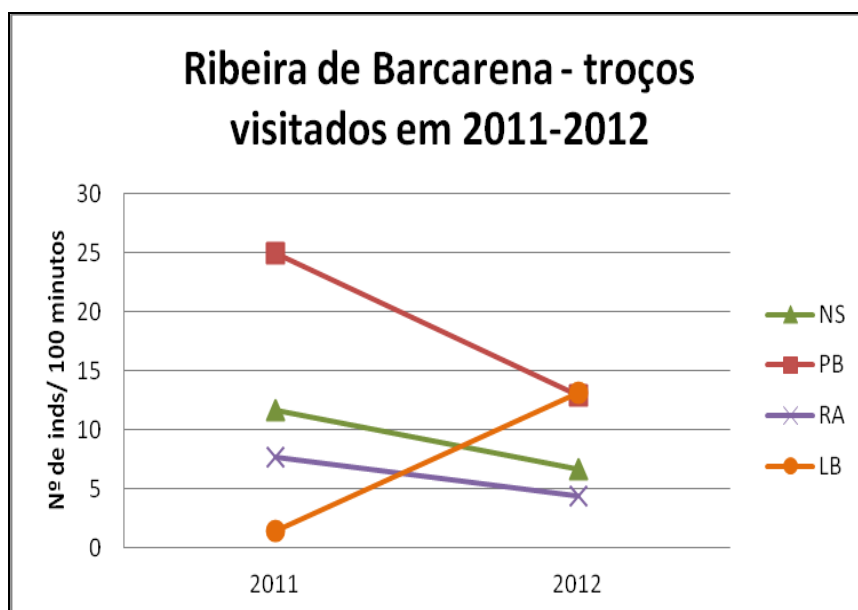


Figura 25. Variação nos índices de abundância entre 2011 e 2012 para a ribeira da Barcarena – animais capturados com pesca elétrica. [NS – Quinta N<sup>a</sup> Sr<sup>a</sup> Conceição; PB – Ponte Barcarena; RA – Ribeira-a-Baixo; LB – Lugar do Bico].

**ii) Estimativa da proporção da população removida – locais visitados nos três anos**

A tabela 2 indica a estimativa do número inicial de indivíduos presentes nos locais onde foram capturados cinco ou mais indivíduos em 2010 e onde as capturas têm vindo a diminuir. A tabela indica também o número de animais já capturados em cada local no total dos três anos do

plano de controlo e a estimativa da eficácia de remoção. As estimativas foram calculadas para cada método de remoção em separado e indicam uma elevada eficácia de remoção de adultos em dois locais – Bairro da Laje e Jardim do Marquês de Pombal, ambos localizados na ribeira da Laje.

Tabela 2. Eficácia do plano de controlo – proporção representada pelo número de animais removidos em relação ao efetivo estimado em 2010 (N) em dois locais na ribeira da Laje. É também indicado o número de animais capturados (por método) nos três anos do plano de controlo em cada local.

<b>Local – método de remoção</b>	<b>N</b>	<b>Capturas 2010-2012</b>	<b>Eficácia</b>
Jardim Marquês de Pombal - Armadilhas	56.59	54	95%
Jardim Marquês de Pombal – Pesca elétrica	51.93	41	79%
Bairro da Laje – Armadilhas	14.27	15	>95%%
Bairro da Laje – Pesca elétrica	9.68	10	>95%%

### ***iii) Estimativa da proporção da população removida – locais visitados em 2011 e 2012***

A tabela 3 indica a estimativa do número inicial ( $N_i \pm$  intervalo de confiança) de indivíduos presentes nos locais da ribeira de Barcarena onde foram capturados cinco ou mais indivíduos em 2011 e onde as capturas diminuíram de 2011 para 2012. A tabela indica também o número de animais já capturados em cada local nos dois anos e a estimativa da eficácia de remoção. As estimativas foram calculadas para cada método de remoção em separado e, tal como no ponto anterior, são também elevadas. No entanto, em vários locais da ribeira de Barcarena foram capturados mais animais em 2012 do que em 2011, e para esses não é possível apresentar nenhuma estimativa.

Tabela 3. Eficácia do plano de controlo – proporção representada pelo número de animais removidos em relação ao efetivo estimado em 2011 ( $N_i \pm$  intervalo de confiança) em dois locais na ribeira de Barcarena. É também indicado o número de animais capturados (por método) nos dois anos do plano de controlo em cada local.

<b>Local – método de remoção</b>	<b><math>N_i</math></b>	<b>Capturas 2011-2012</b>	<b>Eficácia</b>
Ribeira-a-Baixo - Armadilhas	40.3 $\pm$ 42.6	22	53%
Ribeira-a-Baixo – Pesca elétrica	10.6 $\pm$ 0.3	9	90%
Quinta de N <sup>a</sup> Sr <sup>a</sup> da Conceição – Armadilhas	6	8	>95%%
Quinta de N <sup>a</sup> Sr <sup>a</sup> da Conceição – Pesca elétrica	18.8 $\pm$ 0.4	18	>95%%

## DISCUSSÃO

### DISTRIBUIÇÃO

Os resultados da prospeção de 2012 indicam que a espécie continua a ocorrer apenas nas duas ribeiras em que foi até agora encontrada. Também não foi verificada nenhuma expansão da espécie para montante na ribeira de Barcarena, enquanto que na ribeira da Laje foram encontrados alguns indivíduos (e alguns girinos, resultantes de pelo menos uma postura) cerca de 50 metros a montante do anterior limite. No entanto, a espécie continua a não ser encontrada a montante da Ponte de Talaíde, cujo desnível poderá constituir uma barreira à sua expansão.

Com a extensão do plano de controlo a praticamente todo o curso de água das duas ribeiras foi possível obter um mapa que corresponderá à distribuição atual da espécie. Estão assim identificados os núcleos principais, assim como os locais onde se tem verificado a reprodução com maior regularidade.

Tal como sugerido anteriormente, a espécie parece estar mais concentrada em duas a três zonas principais na ribeira da Laje, ao passo que a sua distribuição na ribeira de Barcarena é mais extensa. Em 2012 foi identificado apenas mais um núcleo da espécie na ribeira de Laje (na região das Hortas, num local até agora não visitado), enquanto que os núcleos previamente descobertos se encontram atualmente em situações diferentes, com uma diminuição marcada de efetivos nas regiões mais a jusante e uma manutenção nas zonas mais a montante. Quanto à ribeira de Barcarena, a extensão dos trabalhos a praticamente toda a ribeira permitiu a identificação de núcleos até agora desconhecidos, na região dos Viveiros e nos troços entre os Viveiros, Fábrica da Pólvora e Lugar do Bico. É esta a zona onde se concentrará a maioria dos efetivos da espécie, e aparenta ser também uma zona onde a reprodução com sucesso (ou seja, a produção de juvenis metamorfoseados) ocorrerá mais frequentemente. É também de notar a diminuição marcada de capturas nos locais onde foram capturados os maiores efetivos em 2011 (Ribeira-a-Baixo, Ponte de Barcarena e Quinta N. Sra. Conceição). Finalmente, a descoberta de um local de reprodução em Murganhal e no troço entre Lugar do Bico e Fábrica da Pólvora (ambos locais na ligação a pequenos tributários) indica que a espécie utiliza preferencialmente as regiões com menos corrente e acessórias às ribeiras para se reproduzir. É sobre esses locais, geralmente de pequena extensão, que se deverão concentrar os esforços de controlo de posturas/ girinos. Será importante detetar atempadamente estes tipos de locais no início da

época de reprodução (abril/maio), com vista à sua alteração (por exemplo por drenagem ou colmatação) antes da produção de metamorfoseados.

#### **ESTRUTURA DAS SUBPOPULAÇÕES**

A estrutura das subpopulações da espécie é diferente em cada uma das ribeiras. Assim, enquanto que 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, num só local (Lugar do Bico). A maior dispersão dos indivíduos na ribeira de Barcarena pode estar precisamente relacionada com a escassez de pegos profundos e de águas mais calmas nesta ribeira. A população da ribeira de Barcarena é também diferente da população da ribeira da Laje em outras características – são indivíduos mais pequenos, com um *sex-ratio* desequilibrado em favor das fêmeas e uma maior representatividade de indivíduos juvenis. Estas características indicam uma demografia mais saudável da espécie em Barcarena, e conseqüentemente uma maior dificuldade no controlo e eventual erradicação da espécie nesta ribeira.

#### **INDICADORES DO SUCESSO DO PLANO DE CONTROLO**

Ao fim do terceiro ano de programa é já possível obter alguns indicadores do seu sucesso. Assim, e considerando apenas os locais onde houve remoção intensiva de pós-metamorfoseados nos três anos, há algumas indicações de sucesso no controlo da espécie:

- em três dos cinco locais na ribeira da Laje, o número de capturas diminuiu muito, tendo sido nulo no Bairro da Laje. Este troço de ribeira corresponde a um dos locais onde a espécie era mais abundante em 2007 (Bernardes 2008). No Jardim do Marquês de Pombal, o local correspondente ao maior núcleo até agora conhecido da espécie (91 animais capturados em 2010 e 2011), foram apenas capturados quatro espécimes em 2012;

- as estimativas do número inicial de efetivos nestes locais são aproximadamente concordantes entre si independentemente da metodologia de remoção empregue, e são também semelhantes às estimativas obtidas em 2011 (Rebello *et al.* 2011), levando a estimativas de eficácia na remoção dos efetivos superiores a 75%.

- há dois locais (Estação Agronómica Nacional e Parque Municipal) onde o plano de controlo decorre há três anos e onde as capturas aumentaram (figuras 22 e 23). No entanto, as capturas

de 2012 correspondem a 4 e 1 exemplares, e portanto a presença da espécie nesses locais resume-se a poucos indivíduos; os aumentos não deverão corresponder a uma recuperação da população.

Na ribeira de Barcarena as ações de remoção intensiva começaram mais tarde. Apesar da situação aparentemente mais favorável para a espécie nesta ribeira, os resultados de dois anos de plano de controlo também podem ser já notados, nomeadamente na redução das capturas na região entre Ribeira-a-Baixo e Quinta de N<sup>a</sup> Sr<sup>a</sup> da Conceição.

Finalmente, é notória a redução de locais com presença de girinos no decurso do plano de controlo – de uma presença distribuída ao longo de toda a ribeira em 2010, passou-se a uma situação em que os girinos são encontrados apenas nas regiões onde foram identificados os principais núcleos remanescentes de adultos.

Apesar destes indicadores positivos, a extensão do plano de controlo a troços cada vez maiores das ribeiras tem levado à descoberta de novos núcleos populacionais. Assim, e apesar da diminuição das capturas em locais onde o programa decorre há mais tempo, o aumento da intensidade dos trabalhos levou a um aumento geral no número de animais capturados, nomeadamente em zonas nunca antes amostradas da ribeira de Barcarena. A descoberta de muitos indivíduos juvenis em Barcarena é uma indicação de que em anos favoráveis a reprodução com sucesso pode levar ao recrutamento de muitos juvenis para a população, podendo recompor rapidamente os efetivos iniciais.

#### **IMPLICAÇÕES PARA A PROSECUÇÃO DO PLANO DE CONTROLO**

Após os três primeiros anos do plano de controlo, a distribuição de *X. laevis* nas ribeiras da Laje e de Barcarena está já razoavelmente bem delimitada. Assim, no próximo ano, a prospeção deverá ser também direcionada para as pequenas ribeiras situadas a Oeste da ribeira da Laje, ainda não prospetadas devido ao seu pequeno caudal e à reduzida extensão não regularizada e coberta. O risco de migração entre ribeiras permanece, pelo que continua a 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.

A descoberta em 2012 de alguns pequenos tributários das ribeiras principais, onde os girinos são relativamente abundantes, permitiu confirmar o tipo de habitat onde a reprodução desta

espécie tem mais probabilidade de ser bem sucedida. Assim, após a remoção de parte importante da população adulta (que já terá acontecido nas regiões mais a jusante da ribeira da Laje), os futuros esforços deverão ser concentrados na prospeção de habitats de reprodução potencial, tais como 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.

Demonstrada a capacidade da espécie em se expandir, potenciando assim os seus impactos sobre as espécies autóctones, assim como a possibilidade de sucesso no seu controle e eventual erradicação, 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 prospetados 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).

## 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.
- Amaral P & Rebelo R (2012) Diet of invasive clawed frog *Xenopus laevis* at Lage stream (Oeiras, W Portugal). *The Herpetological Journal* 22(3): 187-190.
- 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.
- Brower JE, Zar JH & von Ende CN (1998) *Field and laboratory methods for general ecology*. 4th ed. Boston: McGraw-Hill.
- 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 CJ (2009) *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. 6th ed. San Francisco: Benjamin Cummings.
- 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 (2001) Growth and ageing of feral *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, U.K. *J. Zool. (Lond.)* 254: 547-555.
- Measey GJ, Rödder D, Green SL, Kobayashi R, Lillo F, Lobos G, Rebelo R & Thirion J-M (2012) Ongoing invasions of the African clawed frog, *Xenopus laevis* - a global review. *Biological Invasions* 14: 2255-2270.
- Rebelo R, Amaral P, Bernardes M, Oliveira J, Pinheiro P & Leitão D (2010) **(a)** *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), a new exotic amphibian in Portugal. *Biological Invasions* 12: 3383–3387.

Rebelo R, Vale P & Sousa M (2010) **(b)** *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.

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.

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.

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.



## ANEXOS

### ANEXO I. NÚMERO DE ARMADILHAS COLOCADAS POR LOCAL EM CADA ETAPA

	Junho	Julho	Total
<b>Ribeira da Laje</b>			
Ponte Talaíde	10	10	20
Bairro Navegadores	20	10	30
Hortas da Laje	-	0	0
Bairro da Laje	20	5	25
Estação Agron. Nacional	10	0	10
Jardim Marquês Pombal	20	10	30
Parque Municipal	5	5	10
<b>Ribeira de Barcarena</b>			
Ponte S. Marcos	5	5	10
Lugar do Bico	20	20	40
Fábrica Pólvora	5	0	5
Viveiros	-	5	5
Ribeira-a-Baixo	15	6	21
Ponte Barcarena	5	0	5
Qta. N. Sra. Conceição	10	4	14
Pedreira Italiana	10	10	20
Murganhal	5	10	15
<b>Total</b>	<b>160</b>	<b>100</b>	<b>260</b>

**ANEXO II. DURAÇÃO DAS AÇÕES DE PESCA ELÉTRICA (EM MINUTOS)**

		<b>Junho</b>	<b>Julho</b>	<b>Agosto</b>	<b>Total</b>
<b>Ribeira da Laje</b>	a montante da Ponte Talaíde		20	15	<b>35</b>
	Ponte Talaide		10	75	<b>85</b>
	entre pontos		25		<b>25</b>
	Bairro Navegadores	105	130	115	<b>350</b>
	entre pontos			85	<b>85</b>
	Hortas da Laje			55	<b>55</b>
	entre pontos		100		<b>100</b>
	Bairro da Laje	35	60		<b>95</b>
	entre pontos		65		<b>65</b>
	Est. Agron. Nacional	40	60	60	<b>160</b>
	entre pontos		25		<b>25</b>
	Jardim Marquês Pombal	35	45	60	<b>140</b>
Parque Municipal	0	0	0	<b>0</b>	
<b>Ribeira de Barcarena</b>	a montante da Ponte S. Marcos		25		<b>25</b>
	Ponte de S.Marcos	10	5	5	<b>20</b>
	Lugar do Bico	80	23	70	<b>173</b>
	entre pontos		85	40	<b>125</b>
	Fábrica da Pólvora		50	30	<b>80</b>
	entre pontos		60	90	<b>150</b>
	Viveiros	125	90	85	<b>300</b>
	Ribeira-a-Baixo	45		15	<b>60</b>
	Ponte Barcarena	15	32	20	<b>67</b>
	entre pontos	45			<b>45</b>
	Qta.N.Sra Conceição	40	60		<b>100</b>
	entre pontos		50		<b>50</b>
	Pedreira Italiana				<b>0</b>
	entre pontos	75			<b>75</b>
Murganhal	20		70	<b>90</b>	
				<b>TOTAL</b>	<b>2580 (43h)</b>

**ANEXO III REGISTO DAS COORDENADAS RETANGULARES DOS LOCAIS DE AMOSTRAGEM (projeção Lisboa Hayford Gauss IGeoE)**

	<b>X_COORD</b>	<b>Y_COORD</b>
<b>Ribeira da Laje</b>		
Ponte Talaide	96851,91445	196956,55983
Bairro Navegadores	96908,38655	196580,80880
Hortas da Laje	97236,29829	195284,95798
Bairro da Laje	97323,75978	194246,68278
Estação Agronómica Nacional	97174,11200	192959,97021
Jardim Marquês Pombal	97134,05048	192308,21731
Parque Municipal	97218,64763	192049,26779
<b>Ribeira de Barcarena</b>		
Ponte S. Marcos	99443,62805	198880,09795
Lugar do Bico	99694,76409	198246,35644
Fábrica da Pólvora	99795,60195	197801,14723
Viveiros da Fáb. Pólvora	99984,55918	197394,44947
Ribeira-a-Baixo	100097,73005	197057,86114
Ponte Barcarena	100238,37057	196720,59311
Qta. N. Sra. Conceicao	100494,54000	195983,62000
Pedreira Italiana	100834,56961	194674,52673
Murganhal	100759,56021	194142,00183
<b>Rio Jamor</b>		
Quinta da Gandarela	102159,98000	195968,52000
Parque Urbano do Jamor	102463,00000	193922,00000
<b>Ribeira de Porto Salvo</b>		
Rotunda das Oliveiras	98732,00000	194627,19000
Serviços Técnicos da CMO	98906,00000	194268,00000
Tapada do Mocho	98981,00000	193138,00000
<b>Ribeira de Outurela</b>		
Ribeira de Outurela	105055,55565	195433,50967

**ANEXO IV. NÚMERO DE INDIVÍDUOS DE *XENOPUS LAEVIS* CAPTURADOS POR LOCAL EM CADA ETAPA**

	Junho	Julho	Agosto	Total
<b>Ribeira da Laje</b>				
Ponte Talaide	0	0	0	<b>0</b>
Bairro Navegadores	22	16	1	<b>39</b>
entre pontos	-	-	2	<b>2</b>
Hortas da Laje	-	7	5	<b>12</b>
Bairro da Laje	0	0	-	<b>0</b>
Estação Agron. Nacional	0	3	1	<b>4</b>
Jardim Marquês Pombal	2	2	0	<b>4</b>
Parque Municipal	1	0	-	<b>1</b>
<b>Ribeira de Barcarena</b>				
Ponte S. Marcos	1	0	0	<b>1</b>
Lugar do Bico	17	3	0	<b>20</b>
entre pontos	-	12	4	<b>16</b>
Fábrica da Pólvora	3	16	6	<b>25</b>
entre pontos	-	2	25	<b>27</b>
Viveiros Fáb. Pólvora	23	11	4	<b>38</b>
Ribeira-a-Baixo	8	0	0	<b>8</b>
Ponte Barcarena	2	2	0	<b>4</b>
entre pontos	1	0	-	<b>1</b>
Qta. N. Sra. Conceicao	4	1	-	<b>5</b>
entre pontos	-	1	-	<b>1</b>
Pedreira Italiana	0	0	-	<b>0</b>
entre pontos	1	0	-	<b>1</b>
Murganhal	0	3	0	<b>3</b>
<b>TOTAL</b>	<b>85</b>	<b>79</b>	<b>48</b>	<b>212</b>