

RELATÓRIO

EMISSOR DCB - Divisão de Conservação da
Biodiversidade

NÚMERO R DCB / 41356 / 2015

DATA 23 / 11 / 2015

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

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

RELATÓRIO ANO VI (2015)



EMISSOR: DCB

RELATÓRIO

NÚMERO: R DCB / 41356 / 2015

DATA: 23 / 11 / 2015

FICHA TÉCNICA:

Coordenação

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

Responsável científico

Rui Rebelo (cE3c/FCUL)

Execução

Ângela Maurício e Nicolau Ser (CMO)

Mónica Sousa (ICNF)

Rui Rebelo e Francisco Moreira (cE3c/FCUL)

Colaboração

Tiago Carneiro (IGC)

O presente relatório deve ser citado da seguinte forma:

Rebelo R, Moreira F, Maurício A & Sousa M (2015) *Plano de erradicação de Xenopus laevis nas ribeiras do concelho de Oeiras*. Relatório Ano VI (2015). cE3C/CMO/ICNF. 27 pp.

Disponível em:

<http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/patrinatur/especies/n-indig/xenop.>

**SÍNTESE**

A colaboração conjunta de quatro entidades, iniciada em 2010, permitiu assegurar as capacidades técnica, científica, logística e financeira do plano de erradicação de *Xenopus laevis* no concelho de Oeiras. Detetada pela primeira vez em 2006, esta espécie de anfíbio exótica tem um elevado potencial invasor, com impactes no funcionamento dos ecossistemas aquáticos, podendo igualmente servir de vetor para agentes patogénicos e parasitas que afetam os anfíbios nativos.

Em 2015, após o sexto ano de aplicação do plano, verifica-se que esta espécie se mantém confinada às ribeiras da Laje e de Barcarena (e em alguns dos seus afluentes).

Desde o início do plano de erradicação foram capturados um total de 6574 espécimes de *X. laevis*: 224 na ribeira da Laje e 6350 na ribeira de Barcarena. Foi confirmada a extrema rarefação da população remanescente na ribeira da Laje, tendo sido capturados apenas dez exemplares adultos e registados apenas dois episódios de reprodução em 2015, ambos sem sucesso em consequência das ações de controlo.

Na ribeira de Barcarena, após uma invasão por um número excecional de juvenis ocorrida em 2014, a identificação dos principais locais de reprodução na zona envolvente à ribeira e as ações implementadas ainda em 2014 e durante 2015 resultaram no controlo da espécie na região invadida, com a captura de 436 pós-metamorfoseados (adultos e juvenis) em 2015, o que corresponde a apenas 9% do efetivo capturado em 2014. Foram também recolhidos em tanques, lagos e pegos mais de 15000 girinos desta espécie, comprometendo deste modo a sua reprodução nos locais onde aparenta ter maior sucesso. Apesar da redução significativa da extensão desta ribeira ocupada pela espécie, foi identificado um novo núcleo com um número muito reduzido de efetivos capturados num pequeno tanque, localizado a cerca de 5 km a montante do núcleo reprodutor mais próximo, já no concelho de Sintra.

A diminuição da extensão da área ocupada pela espécie e da sua abundância em todos os troços onde ainda ocorre é um bom indicador do sucesso das ações de controlo e sugestiva de uma deficiente recuperação da população (por imigração de adultos ou recrutamento de juvenis) naqueles cursos de água.

O sucesso de um plano de controlo de uma espécie invasora é facilitado quando a atuação incide sobre uma população pequena e localizada, permitindo uma erradicação mais célere. Na ribeira da Laje, monitorizações contínuas e regulares nos últimos locais onde a espécie foi registada garantirão a inviabilização de futuras tentativas de reprodução, com boas possibilidades de erradicação da espécie. Tendo em conta o seu confirmado potencial invasor, o risco de expansão e a identificação do principal local de reprodução da espécie na envolvente da ribeira de Barcarena, são indicadas as principais medidas a tomar, de modo a promover a completa erradicação da espécie.



EMISSOR: DCB

RELATÓRIO

NÚMERO: R DCB / 41356 / 2015

DATA: 23 / 11 / 2015

ÍNDICE

LISTA DE SIGLAS	5
LISTA DE FIGURAS.....	5
1. INTRODUÇÃO.....	6
2. CALENDARIZAÇÃO	8
3. METODOLOGIA E ESFORÇO DE AMOSTRAGEM	8
4. RESULTADOS	12
4.1 Distribuição da espécie e locais com reprodução confirmada	12
4.2 Estimativas de sucesso do programa.....	15
4.2.1 Ribeira da Laje.....	15
4.2.2 Ribeira de Barcarena.....	15
a) Remoção de pós-metamorfoseados.....	15
b) Estrutura de tamanho corporal.....	17
5. DISCUSSÃO	19
5.1 Ribeira da Laje.....	19
5.2 Ribeira de Barcarena.....	20
5.3 Outros trabalhos.....	21
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PROPOSTA DE ATUAÇÃO FUTURA	22
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25



LISTA DE SIGLAS

cE3c	Centro de Ecologia, Evolução e Alterações Ambientais
CMO	Município de Oeiras
FCUL	Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa
ICNF	Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, I.P.
IGC	Instituto Gulbenkian de Ciência
SVL	<i>Snout-vent length</i> (comprimento focinho-cloaca)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização das áreas amostradas

Figura 2. a) Tanque da Cascata dos Poetas; b) Lago do Campo de Golfe; c) Caldeira dos Engenhos; d) Tanque do Piquenique

Figura 3. Captura com pesca elétrica

Figura 4. Captura com redes de emalhar modificadas

Figura 5. Esforço de amostragem: total de minutos de captura com pesca elétrica aplicados ao longo dos seis anos de controlo

Figura 6. Resultados das ações de controlo em 2015

Figura 7. Presença de posturas e girinos de *Xenopus laevis* ao longo dos seis anos do plano de controlo

Figura 8. Remoção de girinos e recém-metamorfoseados de *Xenopus laevis*

Figura 9. Comparação do tamanho médio dos girinos em cada estágio larvar

Figura 10. Variação nos índices de abundância ao longo dos seis anos de controlo para a ribeira da Laje - animais capturados com pesca elétrica

Figura 11. Variação nos índices de abundância ao longo dos seis anos de controlo para a ribeira da Barcarena - animais capturados com pesca elétrica

Figura 12. Número de animais capturados na zona de maior abundância da espécie em 2014 e 2015

Figura 13. Juvenil e recém-metamorfoseados de *Xenopus laevis*

Figura 14. Frequência das diferentes classes de tamanho corporal de amostras de animais capturados no principal troço invadido da ribeira de Barcarena em 2014 e 2015 e no tributário do Campo de Golfe em 2015

Figura 15. Relação entre a invasão de 2014 e os locais de reprodução identificados em 2015

Figura 16. Número de capturas ao longo dos seis anos de controlo nas ribeiras da Laje e de Barcarena

Figura 17. Colocação de barreira para contenção de *Xenopus laevis* do pego do tributário para a ribeira de Barcarena



1. INTRODUÇÃO

O Plano de erradicação de *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), rã-de-unhas-africana, nas ribeiras do concelho de Oeiras foi elaborado no âmbito do protocolo de colaboração estabelecido entre o Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, I.P. (ICNF), o Município de Oeiras (CMO), o Centro de Ecologia, Evolução e Alterações Ambientais da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (cE3c/FCUL) e o Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC). Esta colaboração interinstitucional iniciou-se em 2010, com uma atuação de cinco semanas por ano, e tem como objetivo a prospeção e remoção de espécimes de *Xenopus laevis* na Natureza, com vista à sua erradicação.

Xenopus laevis é um anfíbio endémico da região subsariana de África, cujas adaptações morfológicas e sensoriais lhe permitem uma excelente adequação à vida aquática (Harada *et al.* 1998), podendo ser encontrado em todos os tipos de massas de água doce, incluindo áreas perturbadas como massas de água artificiais (com preferência para as estagnadas ou lentas) (Tinsley *et al.* 1996, Evans *et al.* 1997, Faraone *et al.* 2008), canais de irrigação (Lobos & Jaksic 2005) ou mesmo áreas semiurbanas (Tinsley & McCoid 1996).

A espécie apresenta características que lhe permitem a sobrevivência em condições adversas: pode permanecer longos períodos enterrada no fundo e na margem de ribeiros ou charcos secos, sem se alimentar (até 12 meses: Hewitt & Power 1913; Tinsley *et al.* 1996), tem uma dieta generalista (Amaral & Rebelo 2012), suporta uma elevada amplitude térmica (Balinsky 1981, Miller 1982, Walsh *et al.* 2008), realiza migrações por terra (Measey & Tinsley 1998, Eggert & Fouquet 2006) e apresenta uma elevada tolerância à água salobra, bem como a condições anóxicas (Jokumsen & Weber 1980). Possui uma longevidade que pode ultrapassar os 15 anos (Flower 1936), uma elevada fertilidade (Tinsley *et al.* 1996) e uma extensa época de reprodução que, sob condições ambientais favoráveis, lhe permitem reproduzir-se durante o ano inteiro (Tinsley & McCoid 1996).

A elevada plasticidade e robustez da espécie permitiu a sua comercialização massiva a partir da população de África do Sul, o que esteve na origem da sua introdução e dispersão por todo o mundo (Measey *et al.* 2012).

A exploração económica verificou-se com a utilização da espécie, em primeiro lugar, para uso em laboratório, e mais tarde como animal de companhia. A utilização da espécie em laboratório iniciou-se na década de 1930-40 devido à eficácia destes animais no diagnóstico de gravidez humana, após a descoberta de que a urina de uma mulher grávida induzia a produção de ovos nas fêmeas de *X. laevis* (Gurdon 1996, Tinsley & McCoid 1996, Gurdon & Hopwood 2000).

Esta rã começou assim a ser amplamente utilizada em todo o mundo, sendo que a sua distribuição atual engloba quatro das cinco regiões com clima mediterrânico do mundo - África do Sul, sudoeste da Califórnia, Chile e vários locais da bacia do Mediterrâneo como Portugal (Rebelo *et al.* 2010a), Espanha (Pascual *et al.* 2007), França (Fouquet 2001) e Sicília (Lillo *et al.* 2005). Ocorre ainda no Reino Unido, doze estados dos Estados Unidos da América, Indonésia, México (Tinsley *et al.* 2009), Alemanha, Holanda, Ilha da Ascensão (Atlântico sul) (Tinsley & McCoid 1996) e Israel (Hatzofe 2006).



Vários estudos têm demonstrado o carácter invasor das populações de *X. laevis* em diferentes regiões do mundo (Tinsley & McCoid 1996, Measey 1998a, Measey 1998b, Lobos & Measey 2002, Lobos & Jaksic 2005, Fouquet & Measey 2006). *X. laevis* depreda macroinvertebrados, pequenos peixes e anfíbios (Lafferty & Page 1997, Lillo *et al.* 2011, 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).

Um outro impacto de extrema importância decorre do facto de *X. laevis* ser um vetor assintomático da quitridiomíose, uma doença causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore *et al.* 1999), a qual é fatal para as espécies de anfíbios de todo o mundo, com algumas exceções, como o próprio *X. laevis* e outras espécies africanas, que parecem ser imunes à doença (Weldon *et al.* 2004).

Foram já realizadas algumas tentativas de erradicação de populações de *X. laevis* em vários países, porém a maioria fracassou. Há o registo de cinco erradicações com sucesso:

- i) num jardim público em Barcelona (Espanha), onde se procedeu à erradicação através da drenagem das lagoas existentes, não tendo posteriormente sido encontrados nem adultos nem larvas (López-Baucells, *com. pess.*);
- ii) numa pequena população isolada num lago artificial, na Universidade da Califórnia, no qual foi aplicada uma substância tóxica (Tinsley & McCoid 1996);
- iii) 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 levou ao congelamento dos animais que terão migrado para terra durante o inverno (Tinsley & McCoid 1996);
- iv) em lagoas na Ilha de Wight (Reino Unido) onde, através de remoção por armadilhagem, a população foi dada como extinta no anos 90 (Tinsley & McCoid 1996). Contudo, segundo Measey *et al.* (2012), a observação de um indivíduo numa lagoa localizada na mesma área, bem como a ausência de estudos desde a última avaliação, sugerem que o estado desta população requer uma investigação mais aprofundada;
- v) na Grã-Bretanha (Reino Unido), onde as duas populações invasoras que se estabeleceram no País de Gales e em Inglaterra (Lincolnshire) foram recentemente consideradas extintas, como resultado da conjugação de programas de erradicação com invernos muito severos (Tinsley *et al.* 2015).

Este último exemplo é o único em que é reportada a extinção de populações relativamente numerosas estabelecidas em várias localidades.

Em Portugal, a ocorrência da espécie na natureza foi pela primeira vez denunciada 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. Os troços de ambas as ribeiras onde a espécie foi encontrada estão localizados no concelho de Oeiras.



Segundo Rebelo *et al.* (2010a) não é possível precisar a data e o local de introdução; no entanto, admite-se que possa ter sido introduzida na natureza após o inverno de 1979/80, quando a subida do caudal da ribeira da Laje inundou um laboratório de investigação científica. Localizado próximo do Jardim do Marquês de Pombal, em Oeiras, este laboratório mantinha na cave aquários com os espécimes utilizados para estudos de fisiologia e biologia do desenvolvimento, como era o caso de *X. laevis*.

Os animais introduzidos na ribeira da Laje terão sido o resultado de uma importação de animais vivos provenientes da sua área nativa em África do Sul. Os primeiros registos de importação datam de 1968 (van Sittart, dados não publicados), tendo um lote de cerca de 200 espécimes (80 machos e 120 fêmeas) sido importado pela Universidade de Norwich (Reino Unido). Desta colónia, um número ainda não determinado de animais terá sido trazido para Portugal na década de 1970.

Relativamente à população presente na ribeira de Barcarena não existe uma explicação tão óbvia para a possível data e via de introdução. A área entre as duas ribeiras é, desde a década de 1970, densamente urbanizada e com diversas rodovias e não existe até à data referência de ocorrência da espécie na ribeira temporária de Paço de Arcos, a única ribeira localizada na região entre as ribeiras de Laje e de Barcarena (Rebelo *et al.* 2010b).

Após seis anos de controlo da espécie no concelho de Oeiras são apresentados os seguintes resultados:

- i) Distribuição atualmente conhecida da espécie e a identificação dos locais onde se reproduz;
- ii) Estimativas do sucesso no controlo da espécie
- iii) Estrutura de tamanho corporal dos animais capturados na ribeira de Barcarena;

É ainda realizada uma avaliação global da execução do plano de erradicação, para ponderação de prossecução do protocolo estabelecido.

2. CALENDARIZAÇÃO

À semelhança dos anos anteriores, em 2015 as ações de controlo envolveram as três campanhas previstas no protocolo, em junho, julho e agosto, num total de 24 dias de capturas. Fora do período planeado foram ainda realizadas várias prospeções adicionais, que tiveram como objetivo a deteção de episódios de reprodução e/ou metamorfose tardios em locais conhecidos como propícios para a reprodução, bem como de áreas nunca amostradas, como é o caso de troços localizados no concelho de Sintra. Estas ações foram realizadas exclusivamente pela equipa do cE3c /FCUL, envolvendo mais 23 dias de trabalho, tendo as prospeções decorrido entre janeiro e final de outubro.

3. METODOLOGIA E ESFORÇO DE AMOSTRAGEM

As ações de prospeção e de remoção da espécie realizaram-se principalmente nas ribeiras da Laje e de Barcarena, incidindo sobre os troços onde a espécie já foi capturada e em pequenos afluentes destas ribeiras (ribeira de Talaíde, ribeira das Parreiras, ribeira do Casal da Choca e dois



afluentes do Lugar do Bico). Procedeu-se ainda à despistagem de ocorrência da espécie em três cursos de água adjacentes: rio Jamor, ribeira de Porto Salvo, ribeira de Outurela.

Em dezembro de 2014, após denúncia efetuada por um cidadão, foi tido conhecimento da presença de girinos e adultos de *Xenopus laevis* numa fonte de água estagnada (Fonte da Barata, localizada na Quinta do Paraíso, Recoveiro, concelho de Sintra), próximo da ribeira de Jarda, a cerca de 5 km de distância da Ponte de S. Marcos (local mais a montante amostrado regularmente na ribeira de Barcarena). Tanto a fonte como a ribeira foram prospetadas pela equipa do cE3c/FCUL.

As áreas prospetadas encontram-se identificadas na figura 1.

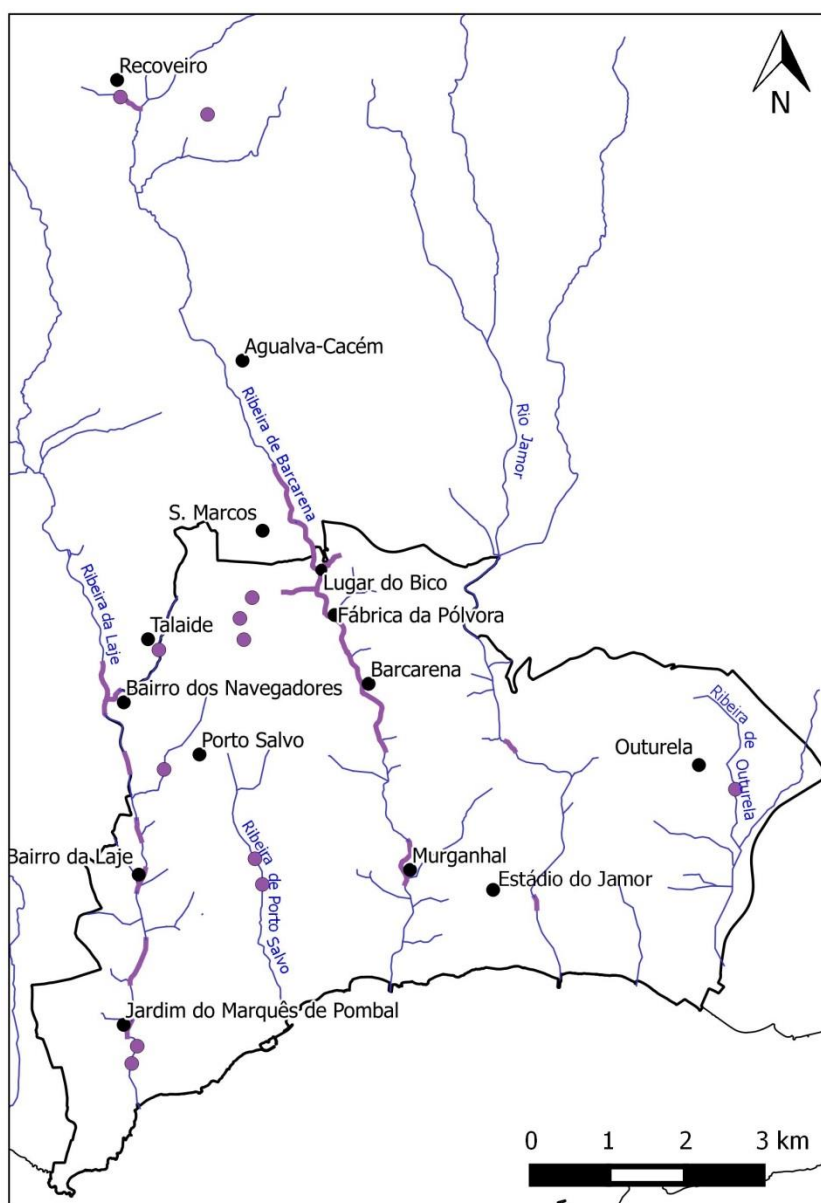


Figura 1. Localização das áreas amostradas
[A roxo – área prospetada; pontos pretos – localidades]



Para além destes cursos de água prospetou-se alguns tanques que drenam para as ribeiras da Laje e de Barcarena, a maioria localizada em jardins de acesso público: tanque da Cascata dos Poetas, três tanques do Parque Municipal, três lagos do Campo de Golfe e três tanques da Fábrica da Pólvora (Caldeira dos Engenhos, tanque do Piquenique e tanque do Setor 4) (figura 2).



Figura 2. a) Tanque da Cascata dos Poetas; b) Lago do Campo de Golfe; c) Caldeira dos Engenhos; d) Tanque do Piquenique

Tendo em conta a diferença de resultados obtidos nos anos anteriores entre a armadilhagem e a pesca elétrica, este ano optou-se por utilizar a pesca elétrica como o método de captura preferencial (figura 3), tentando deste modo otimizar o esforço de captura.



Figura 3. Captura com pesca elétrica

As posturas e girinos de *X. laevis* detetados foram removidos com auxílio de camaroeiro. Dada a dimensão de um dos tanques prospetados, a captura de grupos de girinos obrigou à utilização de redes de emalhar, modificadas para o efeito (figura 4). De modo a estimar a importância dos



locais onde foi registada a reprodução, foi medido o tamanho da cabeça e identificado o estágio de desenvolvimento (segundo Nieuwkoop & Faber 1994) de uma amostra de 1124 girinos capturados em diferentes locais.



Figura 4. Captura com redes de emalhar modificadas

Uma vez que na ribeira da Laje a população de *X. laevis* se encontra aparentemente controlada, e que apenas a ribeira de Barcarena tem vindo a apresentar evidências de melhores condições para a reprodução, o esforço de captura foi maior na ribeira de Barcarena, tentando deste modo diminuir o recrutamento de juvenis para a população adulta. Foram realizadas cerca de 12 horas de pesca elétrica na ribeira da Laje e 55h na ribeira de Barcarena, perfazendo um total de cerca de 67 horas de pesca elétrica (figura 5).

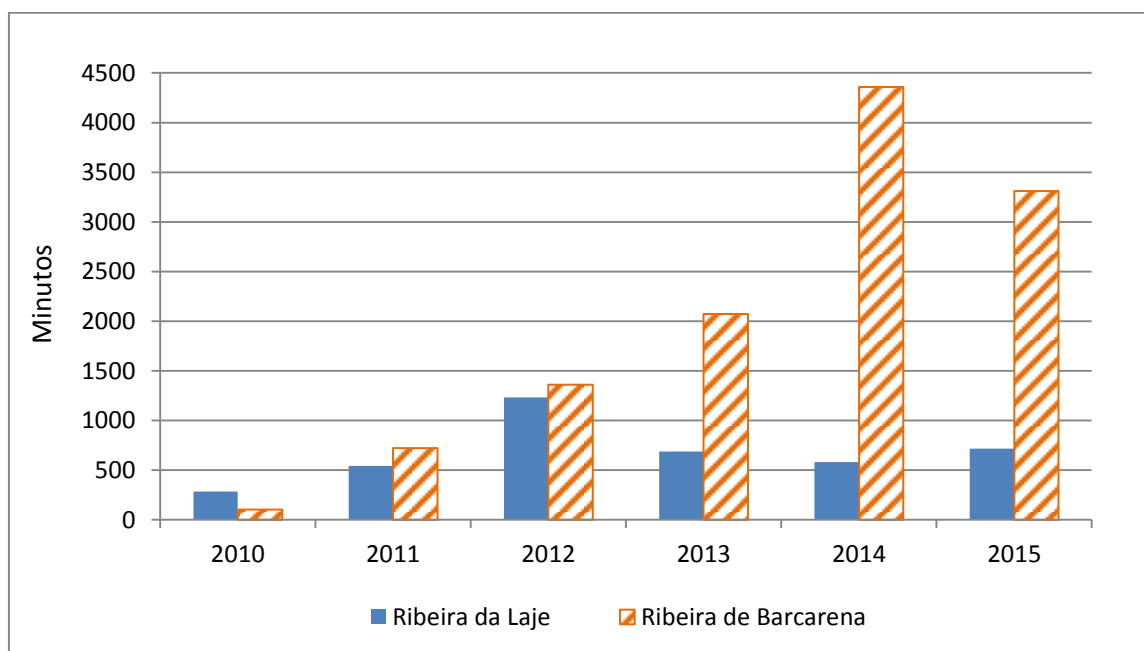


Figura 5. Esforço de amostragem: total de minutos de captura com pesca elétrica aplicados ao longo dos seis anos de controlo

A diminuição do esforço de captura na ribeira de Barcarena, relativamente ao ano anterior, deve-se ao facto de neste ano termos disponível apenas um único aparelho de pesca elétrica.



4. RESULTADOS

4.1 Distribuição da espécie e locais com reprodução confirmada

Em 2015, a presença da espécie resume-se a pequenos troços das ribeiras da Laje e de Barcarena, tendo diminuído a extensão de ocorrência no concelho de Oeiras (figura 5). Na ribeira da Laje *X. laevis* permanece na zona do Bairro dos Navegadores, tendo sido detetado pela primeira vez na ribeira das Parreiras, pequeno afluente existente nesta área. Na ribeira de Barcarena a espécie apenas foi capturada a montante de Ribeira-a-Baixo, tendo a maioria dos indivíduos sido capturada num troço com 1870m de comprimento. As capturas no troço imediatamente a montante da Ponte de S. Marcos correspondem a indivíduos isolados.

A prospeção próxima do Recoveiro (concelho de Sintra) revelou a ocorrência da espécie invasora, tendo sido registada a presença de adultos em janeiro e em abril. Foram removidos 6 indivíduos, e em agosto não foi detetado qualquer indício da espécie.

As ribeiras de Porto Salvo, Outurela, Casal da Choca e o rio Jamor permanecem sem vestígios da espécie, assim como os três tanques do Parque Municipal e o tanque do Setor 4 localizado na Fábrica da Pólvora.

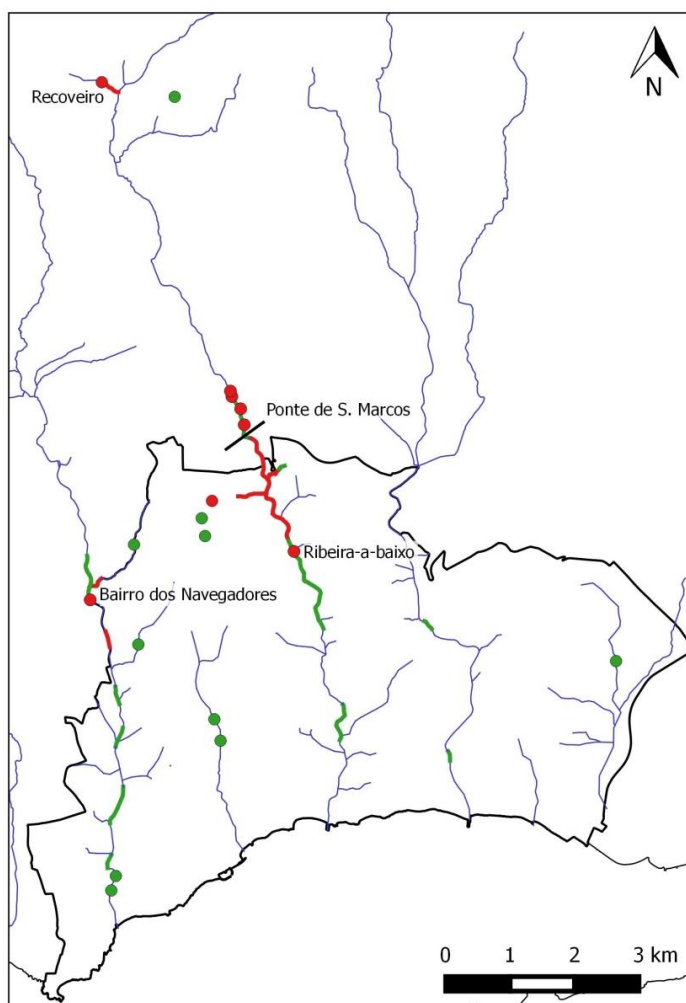


Figura 6. Resultados das ações de controlo em 2015

A vermelho - presença de *X. laevis*; os pontos vermelhos representam indivíduos isolados;
A verde - sem indícios de presença de *X. laevis*; os pontos verdes representam amostragens de reduzida extensão]



Este ano, os locais onde foi registada a reprodução de *X. laevis* estão concentrados em áreas relativamente restritas (figura 7).

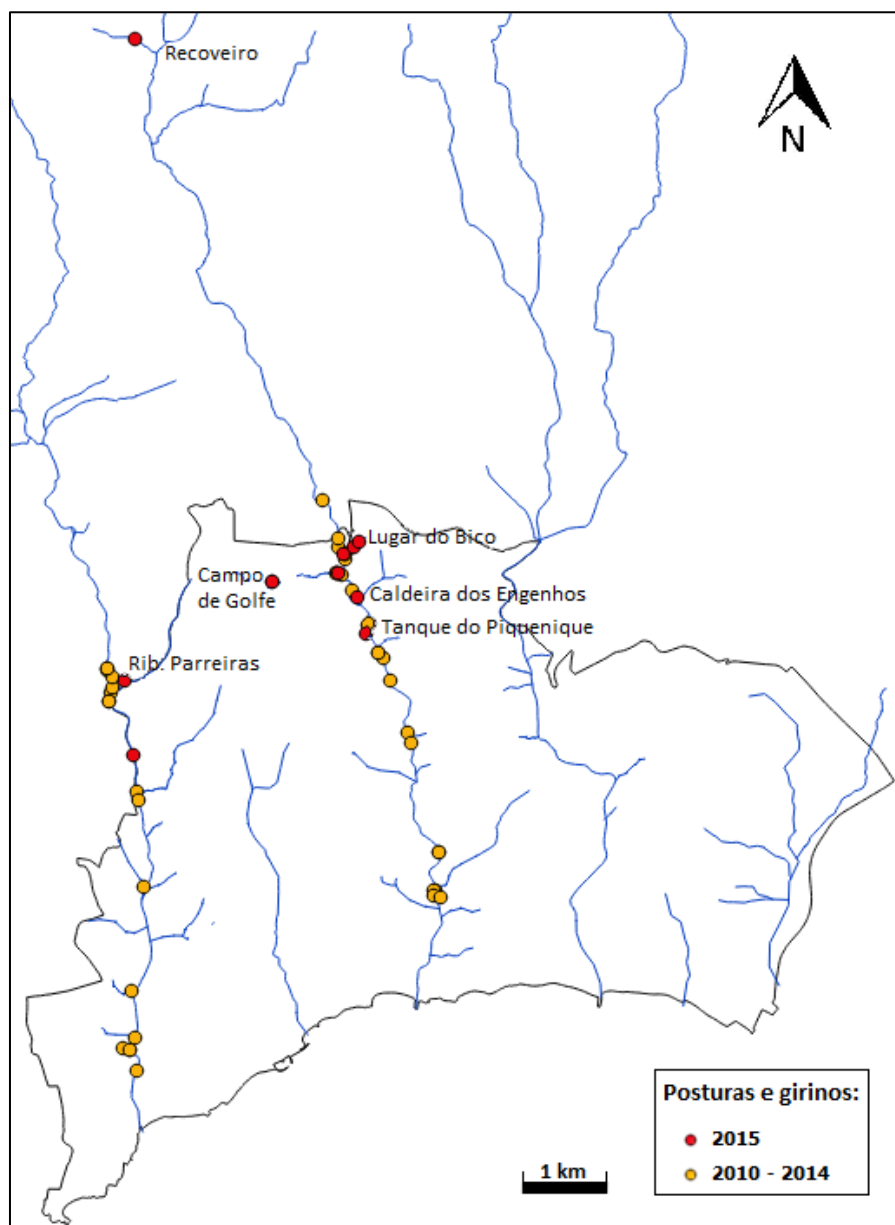


Figura 7. Presença de posturas e girinos de *Xenopus laevis* ao longo dos seis anos do plano de controlo

A captura massiva de girinos ocorreu em massas de água parada e com escassez de predadores (afluente do Lugar do Bico, Caldeira dos Engenhos e tanque do Piquenique), tendo aqui sido encontrados girinos em estádios perto da metamorfose bem como recém metamorfoseados (figura 8). Pontualmente, e em menor quantidade, foram também encontrados girinos noutros locais (ribeira das Parreiras, Fonte da Barata, Lugar do Bico e tributário), a maioria coincidentes com os locais identificados em anos anteriores. Com exceção do Lugar do Bico (ribeira de Barcarena), este ano não foram observadas posturas de *X. laevis*.



Figura 8. Remoção de girinos e recém metamorfoseados de *Xenopus laevis*

Estima-se que se tenham capturado cerca de 15000 girinos ao longo de toda a campanha. Comparando os tamanhos dos girinos em diferentes estádios de desenvolvimento, verifica-se que os tanques da Caldeira dos Engenhos e do Piquenique foram os que apresentaram melhores condições para o desenvolvimento larvar - girinos com comprimentos maiores em cada estágio de desenvolvimento - do que os pegos dos cursos de água (figura 9).

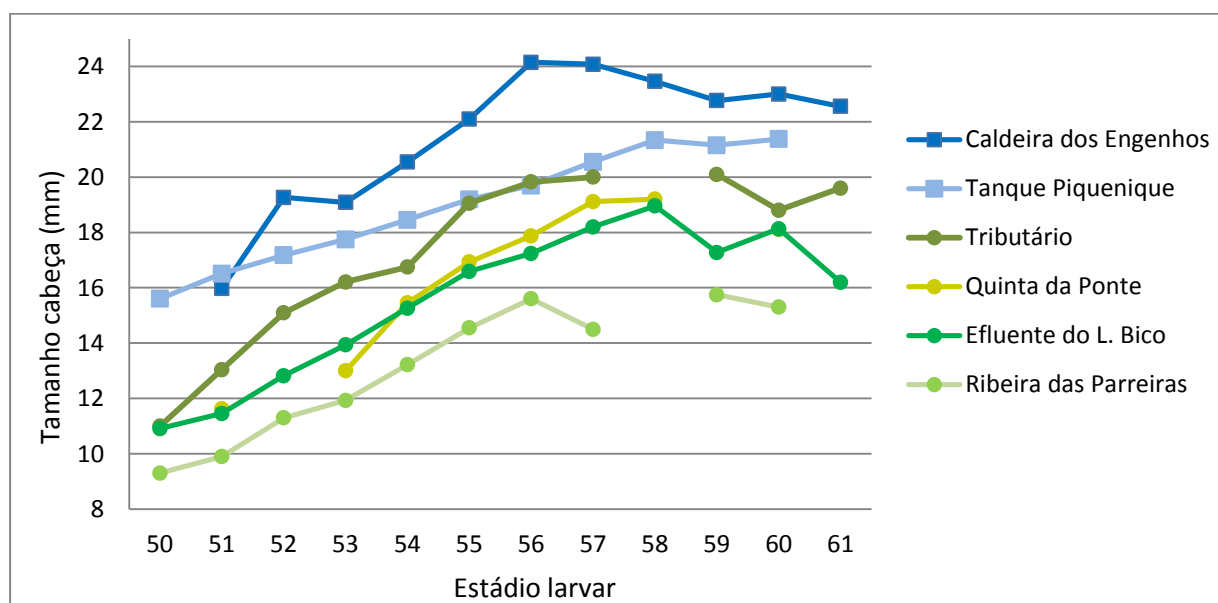


Figura 9. Comparação do tamanho médio dos girinos em cada estágio larvar. Os vários tons de azul indicam tanques (zonas de água parada) e os de verde, pegos em cursos de água.



4.2 Estimativas de sucesso do programa

4.2.1 Ribeira da Laje

Na ribeira da Laje foram capturados dez adultos de *X. laevis* próximo do Bairro dos Navegadores. Desde 2013, este troço é o único da ribeira da Laje onde foram capturados animais e onde se registaram evidências de reprodução (girinos). Nove dos dez animais capturados em 2015 foram encontrados em troços prospetados apenas esporadicamente em anos anteriores, dada a fraca qualidade do seu habitat para esta rã (zonas com poucos pegos profundos e com água corrente).

De destacar que, nos restantes troços onde a espécie inicialmente se apresentava mais abundante (Jardim do Marquês de Pombal, Bairro da Laje e Estação Agronómica Nacional) não foram capturados nenhuns exemplares (figura 10).

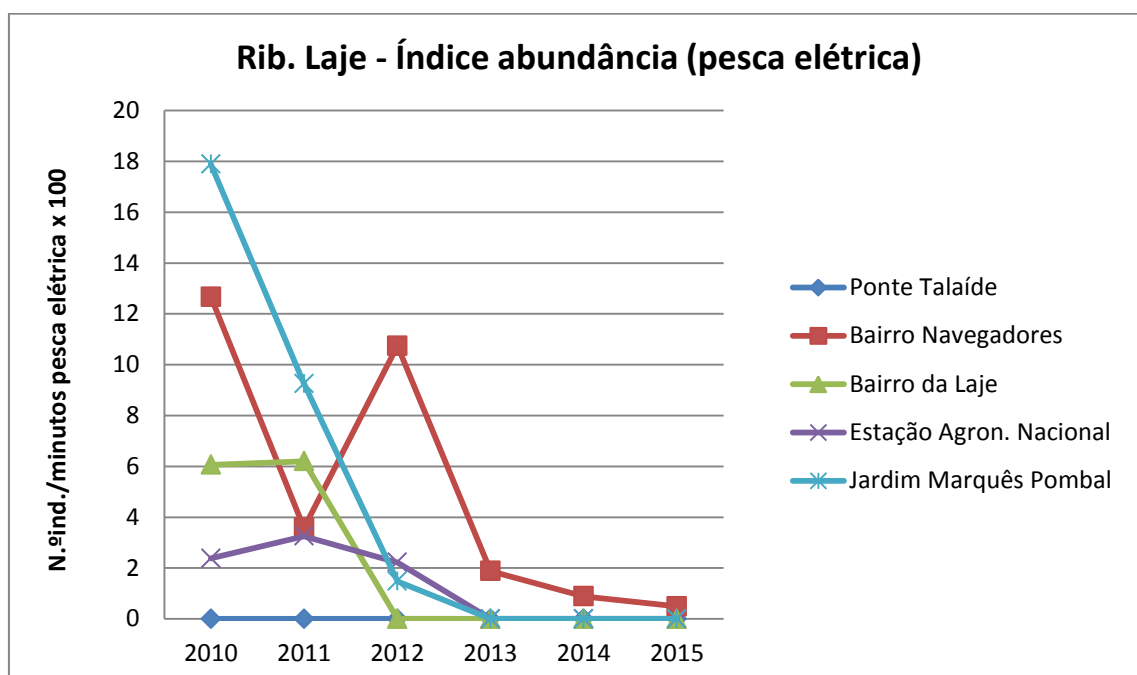


Figura 10. Variação nos índices de abundância ao longo dos seis anos de controlo para a ribeira da Laje - animais capturados com pesca elétrica

4.2.2 Ribeira de Barcarena

a) Remoção de pós-metamorfoseados

Durante a campanha de 2015 foram capturados 436 adultos de *X. laevis* na ribeira de Barcarena e nos seus afluentes. Este valor corresponde a cerca de 9% do total de capturas efetuadas em 2014 (n=4814), verificando-se uma diminuição significativa tanto no número de indivíduos capturados como na extensão de ocorrência da espécie (figuras 11 e 12). Em 2015, o único troço de ribeira onde houve um número elevado de capturas (n=260) é um pequeno tributário na região da Fábrica da Pólvora. Este tributário já foi identificado em 2014 como a principal via de entrada de *X. laevis* na ribeira de Barcarena (Rebello *et al.* 2014); a sua nascente está localizada num campo de golfe onde um dos lagos mantém muito provavelmente a maior população remanescente desta espécie.

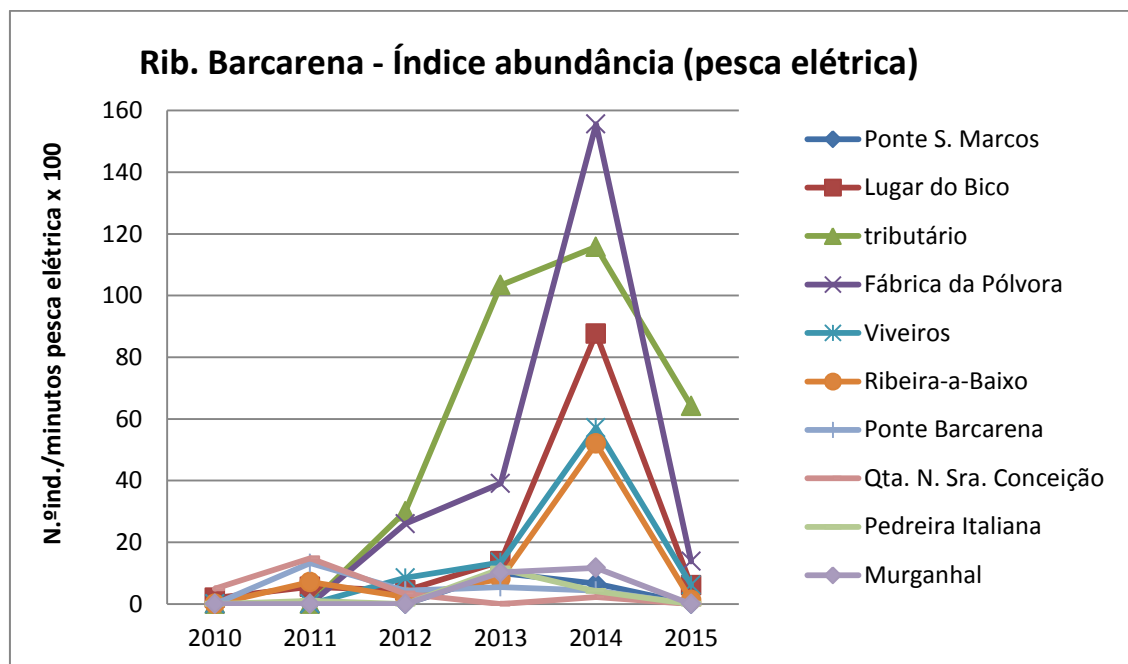


Figura 11. Variação nos índices de abundância ao longo dos seis anos de controlo para a ribeira da Barcarena – animais capturados com pesca elétrica

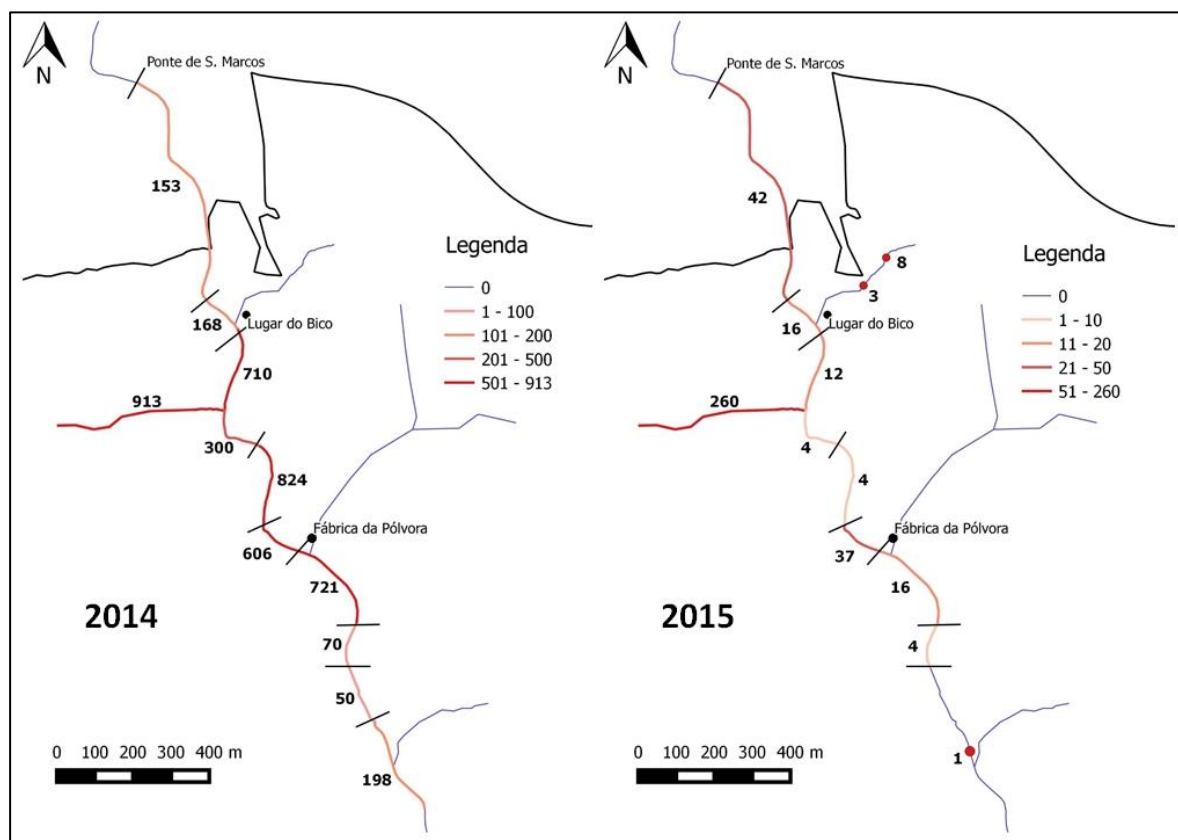


Figura 12. Número animais capturados na zona de maior abundância da espécie em 2014 e 2015



b) Estrutura de tamanho corporal

Tal como no ano anterior, em 2015 foram capturados maioritariamente animais de tamanho reduzido, muitos deles não reprodutores, e até mesmo exemplares recém-metamorfoseados, facilmente identificáveis pela permanência de uma pequena porção da membrana caudal ainda não completamente reabsorvida (figura 13). A maior parte dos juvenis foram capturados na ribeira e os recém-metamorfoseados em tanques.



Figura 13. Juvenil e recém-metamorfoseados de *Xenopus laevis*

A figura 14 mostra a distribuição de tamanhos corporais, amostras dos animais apanhados na ribeira de Barcarena em 2014 e em 2015, assim como de uma amostra dos animais capturados no tributário proveniente do Campo de Golfe em 2015. De 2014 para 2015 é de notar o desaparecimento da classe de tamanho mais pequena (até 20mm) e o aumento da importância das classes de maior tamanho entre os 50 e os 70 mm na ribeira. Os exemplares com tamanhos entre os 40 e os 50 mm continuam a ser mais abundantes no tributário do que na ribeira).

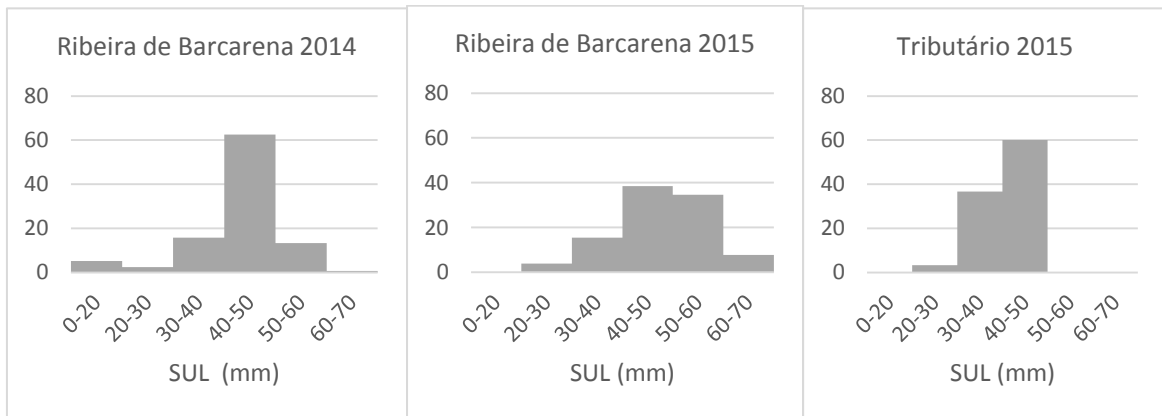


Figura 14. Frequência (em percentagem) das diferentes classes de tamanho corporal (comprimento entre o focinho e a cloaca - SVL, em mm) de amostras de animais capturados no principal troço invadido da ribeira de Barcarena em 2014 e 2015 e no tributário do Campo de Golfe em 2015.



Para além da indicação do papel importante do lago do Campo de Golfe e do seu tributário para a reprodução da espécie (Rebello *et al.* 2014), os resultados da invasão massiva da ribeira de Barcarena que ocorreu em 2014 indicaram a possibilidade de existência de outros locais de reprodução. Com a identificação de vários desses locais em 2015, foi possível relacioná-los com a invasão de juvenis de 2014, verificando-se que a maioria dos juvenis dispersou principalmente para jusante dos principais tanques e pegos onde terá havido reprodução (figura 15).

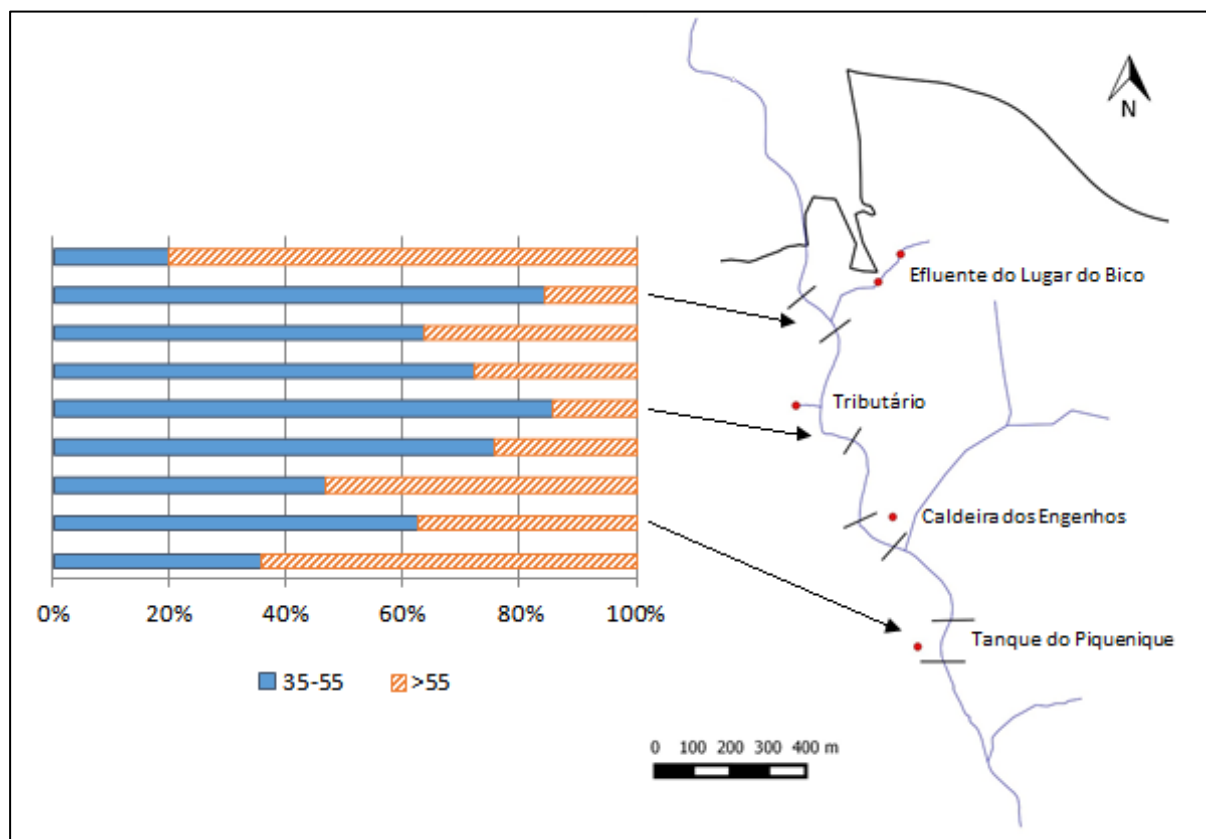


Figura 15. Relação entre a invasão de 2014 e os locais de reprodução identificados em 2015 [No gráfico de barras, a azul está representada a proporção da amostra capturada em 2014 com tamanho corporal pequeno (SVL entre 35 e 55 mm), e a laranja a proporção da amostra constituída por animais maiores que 55 mm. Os pontos a vermelho indicam os locais onde foram capturadas grandes quantidades de girinos em 2015.]

Em 2014, os três principais picos de abundância de juvenis identificados na figura 15 (ladeados quer a montante quer a jusante por regiões com menos indivíduos deste grupo etário), corresponderão a locais onde se terá dado a entrada de juvenis na ribeira. Em 2015 foi possível associar estes três picos a três (efluente do Lugar do Bico, tributário e tanque do Piquenique) dos quatro locais onde foram observadas grandes quantidades de girinos. Apenas a reprodução que decorreu na Caldeira dos Engenhos (Fábrica da Pólvora) parece não ter contribuído para a invasão de 2014. Com efeito, a Caldeira foi visitada no âmbito da campanha de 2014, não tendo sido registados girinos nesse ano.



5. DISCUSSÃO

A execução com sucesso de planos de erradicação de espécies invasoras passa por diferentes fases. Para as espécies que possam ser facilmente quantificadas, numa primeira fase há a restrição da área ocupada, de um modo geral às regiões onde ocorrem os principais núcleos reprodutores, por eliminação das populações marginais e/ou dos indivíduos dispersores. Numa segunda fase, as ações de controlo passam a incidir sobre estas últimas áreas, reduzindo a abundância nos núcleos principais. Na terceira fase, os registos da espécie passam a ser esporádicos, mesmo nos locais onde era anteriormente abundante. Finalmente, a quarta fase resulta na declaração da erradicação da espécie e decorre após alguns anos (variáveis em função da espécie considerada) sem qualquer registo (Lockwood *et al.* 2007).

As características das duas ribeiras invadidas, a sua adequabilidade para *X. laevis* e o início do controlo em anos diferentes em cada uma das ribeiras onde a espécie ocorre, terão contribuído para que, no final deste sexto ano de aplicação do plano, as populações invasoras nas duas ribeiras possam ser consideradas em fases diferentes do processo de erradicação.

A população da ribeira da Laje encontra-se assim atualmente na terceira fase, sendo a espécie bastante rara e ocorrendo apenas indivíduos isolados no último lugar onde foi registada a sua reprodução (Bairro dos Navegadores).

Quanto à população da ribeira de Barcarena, após vários anos de algum insucesso na identificação dos núcleos principais, a ocorrência de uma invasão excecional em 2014 acabou por permitir identificar os principais locais onde a reprodução decorre com sucesso. O aumento do esforço de captura nesta ribeira que decorreu nos dois últimos anos permitiu a conclusão da primeira fase do processo de erradicação em 2015, com a restrição da principal área ocupada por *X. laevis* a um troço com aproximadamente 1900 metros. Permite também avançar para a segunda fase, com a diminuição significativa da abundância da espécie neste troço de ribeira. A identificação dos principais locais de reprodução e a indicação da sua diferente qualidade para o recrutamento de juvenis, revelada ao longo da campanha de 2015, permite também estabelecer uma escala de prioridades para as ações de controlo/monitorização futuras, de modo a evitar novas invasões e a possibilitar a passagem para a terceira fase do processo de erradicação nesta ribeira.

5.1 Ribeira da Laje

Nesta ribeira o sucesso das ações de controlo e o avanço no processo de erradicação tem sido considerável. O efetivo total de adultos retirados da ribeira nos seis anos de controlo foi de 228. Este valor corresponde à ordem de grandeza das primeiras estimativas empíricas para o efetivo populacional da espécie na ribeira da Laje, calculadas nos primeiros anos do plano (Rebelo *et al.* 2010b), e é um valor relativamente reduzido para uma espécie invasora.

Nos últimos três anos não houve registos de expansão para montante ou jusante da área de ocorrência conhecida e os indivíduos capturados foram sempre em número reduzido, quase sempre isolados e encontrados sempre num troço relativamente curto da ribeira. Apesar da ausência de registos de reprodução em 2014, este ano alguns dos poucos indivíduos que permanecem conseguiram claramente encontrar-se, porque foram verificados dois episódios de reprodução, ambos em pequenos pegos laterais à ribeira. Cada um dos dois casos corresponde muito provavelmente a uma só postura, dada a pouca variabilidade do tamanho dos girinos recolhidos em cada grupo. Estes episódios de reprodução, se bem que preocupantes, uma vez



que são indicadores da capacidade de recuperação da espécie mesmo a partir de populações residuais, dificilmente terão resultado no recrutamento significativo de juvenis em 2015 - para além da remoção de girinos que se realizou no decorrer da campanha, a reprodução em pegos da ribeira conduz à produção de juvenis pequenos, com menor capacidade de sobrevivência durante o inverno (Álvarez & Nicieza 2002). A ausência de grandes corpos de água parada nas imediações da ribeira da Laje pode ser um dos fatores mais importantes para a limitação da capacidade de reprodução desta população, facilitando assim a execução do plano de erradicação.

5.2 Ribeira de Barcarena

Nesta ribeira foi documentado um episódio extremo de invasão em 2014, com a captura de um número recorde de indivíduos (93% dos quais juvenis), que representou um dos valores mais extremos de biomassa de anfíbios registados até hoje (Schwalbe & Rosen 1998; Gibbons *et al.* 2006).

No fim da campanha de 2014 foi possível utilizar a estrutura de tamanhos dos animais capturados para identificar os locais onde terão ocorrido a maior parte das invasões por juvenis. São estes o Lugar do Bico, um pequeno tributário localizado entre o Lugar do Bico e a Fábrica da Pólvora e a região dos Viveiros da Câmara Municipal de Oeiras. A maior frequência de animais de menores dimensões nestas três regiões, quando comparada com as frequências de animais de tamanho semelhante - quer imediatamente a montante quer a jusante - foi utilizada como indicação da presença de um local nas imediações onde a reprodução terá decorrido com elevado sucesso.

As prospeções da campanha de 2015 permitiram identificar vários locais de águas paradas (tanques ou pegos fundos em pequenos afluentes com pouca corrente) na vizinhança da zona invadida em 2014 e onde foram encontrados girinos de *X. laevis* em quantidades consideráveis em 2015, assim como alguns adultos. Três destes locais estão bastante próximos dos três locais de entrada de juvenis na ribeira identificados em 2014, pelo que se supõe que terão sido os responsáveis por grande parte da invasão desse ano. Assim, conjuntamente com o lago do Campo de Golfe, reconhecido em 2014 como um dos locais de origem de juvenis, foram igualmente identificados o Tanque do Piquenique e um pego de um afluente localizado na margem esquerda da ribeira, próximo do Lugar do Bico. Estes três locais foram alvo de ações dedicadas de remoção de girinos e de adultos ao longo das três sessões de trabalho de 2015, ações que se espera virem a contribuir para um decréscimo de capturas em 2016. No fim da campanha de 2015 é notório que apenas o lago do Campo de Golfe terá continuado a produzir juvenis de *X. laevis* consistentemente ao longo do ano, correspondendo a 60% das capturas de Barcarena, na região onde o afluente do lago se transforma num pequeno tributário que desagua na margem direita da ribeira.

É também de notar que pelo menos num tanque de grandes dimensões - na Caldeira dos Engenheiros, Fábrica da Pólvora - houve uma produção de um enorme efetivo de girinos de *X. laevis* em 2015, e que no entanto o afluente deste tanque não foi associado a um local de entrada de juvenis da ribeira. A ligação do tanque à ribeira de Barcarena não é direta, o que pode dificultar a saída de juvenis. Por outro lado, este tanque tem sido visitado várias vezes ao longo dos anos de controlo e apenas em 2015 foram encontrados girinos de *X. laevis*, tendo também sido capturados seis adultos. É possível que outros fatores (como por exemplo a presença de um efetivo elevado de peixes no tanque em anos anteriores) tenham contribuído para a falha na reprodução de *X. laevis* neste local. Assim, apesar das melhores condições que os tanques



apresentam para a produção de juvenis desta espécie, nem todos parecem contribuir para a invasão da ribeira.

Durante 2015 foram identificados vários episódios de reprodução em ambas as ribeiras e, pela primeira vez desde o início do plano, houve uma avaliação da qualidade dos girinos recolhidos em diferentes habitats. Os resultados indicam que a reprodução em águas paradas é muito vantajosa para esta espécie, pois os girinos que aí se desenvolvem metamorfoseiam-se com tamanhos muito superiores aos girinos que se desenvolvem em pegos de ribeira. A reprodução em tanques pouco profundos facilita também o sucesso do plano de erradicação, porque permite concentrar os esforços nestas estruturas, onde a captura de todos os indivíduos existentes é mais fácil que nas ribeiras.

Os tamanhos corporais dos exemplares de *X. laevis* capturados em 2015 na ribeira de Barcarena foram um pouco superiores aos registados em 2014, principalmente devido ao desaparecimento da classe de tamanho mais pequena na ribeira em 2015. Esta diminuição da representatividade de recém metamorfoseados e juvenis pequenos entre os animais capturados indica um menor recrutamento de juvenis este ano; já o aumento da importância das classes de tamanho entre os 50 e os 70 mm na ribeira resulta provavelmente da captura de animais que terão sobrevivido à campanha de 2014. Contudo, os animais com tamanhos entre os 40 e os 50 mm continuam a ser mais abundantes no tributário, indicando o papel deste pequeno curso de água (e do lago do Campo de Golfe) como origem dos juvenis que, à medida que crescem, descem o tributário e colonizam a ribeira.

5.3 Outros trabalhos

As análises genéticas preliminares de indivíduos das duas populações confirmaram a uniformidade genética de ambas (de Busschere *et al.*, manuscrito submetido para publicação), indicando que a colonização da ribeira de Barcarena terá sido realizada com animais provenientes da ribeira da Laje. Encontra-se em curso um trabalho de modelação espacial do terreno localizado entre as duas ribeiras com vista à identificação das regiões onde a probabilidade de passagem de indivíduos poderá ser maior. Está também em vias de conclusão uma caracterização da dieta dos exemplares da ribeira de Barcarena, assim como uma avaliação do seu impacto durante a invasão excepcional de 2014.



6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PROPOSTA DE ATUAÇÃO FUTURA

Após seis anos de execução do plano de erradicação, a espécie permanece confinada às ribeiras da Laje e de Barcarena (e alguns dos seus afluentes) encontrando-se ausente nos cursos de água adjacentes. Desde o início do plano de controlo foram capturados 6574 espécimes (224 na ribeira da Laje e 6350 na ribeira de Barcarena), sendo notória a diminuição de capturas verificada este ano (menos de 10% das capturas efetuadas em 2014) (figura 16).

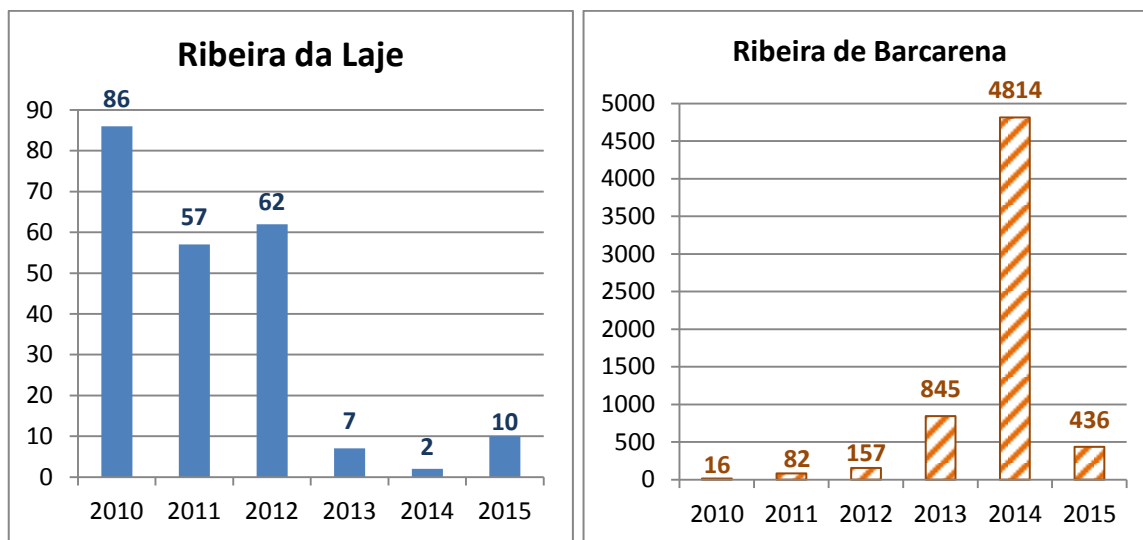


Figura 16. Número de capturas ao longo dos seis anos de controlo nas ribeiras da Laje e de Barcarena

O balanço da eficácia do plano de erradicação é consideravelmente positivo na deteção e controlo de *X. laevis* nas ribeiras do concelho de Oeiras, com perspetivas de sucesso de erradicação nas duas ribeiras onde foi detetada.

Na ribeira da Laje a população ainda existente é residual e os trabalhos do plano de erradicação têm possibilitado a captura dos indivíduos remanescentes a partir do momento em que a sua presença é denunciada pelo aparecimento de girinos. Nos dois casos de reprodução detetados nestes últimos dois anos, a remoção dos girinos e de poucos adultos no mesmo pego dos girinos ou na vizinhança próxima, garantiu o insucesso destes episódios de reprodução e a diminuição dos efetivos que ainda poderão permanecer na ribeira. A ausência de qualquer evidência de reprodução há mais de três anos em toda a extensão da ribeira localizada a jusante do Bairro dos Navegadores é uma boa indicação da rarefação da espécie nesta região, que provavelmente já atingiu o ponto em que os poucos exemplares eventualmente remanescentes não se conseguem encontrar.

Tal como referido em relatórios anteriores (Rebello *et al.* 2010b, Rebello *et al.* 2011, Rebello *et al.* 2012, Rebello *et al.* 2013 e Rebello *et al.* 2014) é essencial a manutenção de uma monitorização regular durante mais alguns anos, por forma a garantir a inviabilização de futuras tentativas de reprodução, assim como a deteção e remoção de indivíduos remanescentes que se tenham refugiado em zonas de difícil acesso, ou migrantes provenientes de corpos de água ainda não conhecidos e onde a reprodução pode continuar.



Dada a longevidade documentada de até sete anos para os exemplares de *X. laevis* encontrados em 2010 na ribeira da Laje (Ferreira 2014) propõe-se a manutenção das visitas regulares durante pelo menos mais cinco anos, sendo essencial percorrer todo o curso de água pelo menos uma vez em cada época de reprodução e continuar a direcionar as visitas aos últimos locais onde a espécie foi observada. Esses locais deverão ser revisitados ao longo de toda a época de reprodução, de modo a detetar eventuais posturas ou girinos.

A invasão da ribeira de Barcarena por números excepcionalmente elevados de indivíduos juvenis em 2014 permitiu compreender melhor a dinâmica de colonização desta ribeira por *X. laevis*. Por outro lado, a confirmação em 2015 da utilização preferencial para a reprodução de zonas de água parada (em especial tanques e lagos) permitiu direcionar melhor os esforços de remoção de girinos para estes habitats de origem antropogénica, assim como avaliar as suas potencialidades para a produção de juvenis com qualidade.

Considerando que a principal origem de juvenis está identificada, que os outros locais onde a espécie se reproduz nesta ribeira são também conhecidos, e que já houve sucesso na rarefação ou eliminação das populações localizadas a jusante de Ribeira-a-Baixo (sem qualquer registo de adultos ou de girinos em 2015), as ações futuras mais urgentes consistirão na erradicação da espécie no lago do Campo de Golfe e no controlo da espécie à saída da conduta, evitando assim as invasões à ribeira principal. Em colaboração com a administração do Campo de Golfe, foi possível a colocação de pequenas barreiras à progressão dos indivíduos em 2015. Tal como aconteceu com a população da ribeira da Laje, a identificação dos que aparentam ser os principais locais de reprodução da espécie e dos processos de invasão permitiu delinear novas medidas que já contribuíram para a contenção e redução da sua área de distribuição (figura 17) e que, se aplicadas durante os próximos anos, poderão garantir o sucesso do plano a médio prazo também na ribeira de Barcarena.



Figura 17. Colocação de barreira para contenção de *Xenopus laevis* do pego do tributário para a ribeira de Barcarena

A montante da Ponte de S. Marcos a presença de espécie resume-se a indivíduos isolados, e com uma exceção importante, não se verificou nenhum episódio de reprodução no curso de água em 2015. Essa exceção corresponde à identificação de um núcleo de seis adultos numa pequena fonte no Recoveiro, cerca de 5 km a montante do último local onde a presença de um núcleo reprodutor da espécie foi documentado. Não há uma explicação óbvia para a presença da espécie neste local, mas é plausível que tenha resultado de uma colonização natural, dadas as conhecidas



EMISSOR: DCB

RELATÓRIO

NÚMERO: R DCB / 41356 / 2015

DATA: 23 / 11 / 2015

capacidades de dispersão e colonização da espécie (Fouquet & Measey 2006). As prospeções preliminares das áreas em redor desta fonte não permitiram a descoberta de mais nenhum indício de presença da espécie. A resultar de uma colonização natural, este episódio é uma indicação da necessidade de monitorização contínua das áreas vizinhas aos principais núcleos ainda existentes, pois mesmo um pequeno grupo de indivíduos pode estabelecer um núcleo reprodutor relativamente depressa. Este foco assume uma importância acrescida devido à proximidade com o Sítio de Importância Comunitária Sintra-Cascais e Parque Natural Sintra-Cascais.

Apesar do sucesso das ações de controlo, tanto a invasão verificada em 2014 na ribeira de Barcarena como a colonização de um novo troço (Recoveiro) correspondem à dinâmica populacional própria de uma espécie invasora, que obriga a uma manutenção do esforço de remoção, sob o risco de ocorrência de reinvasões.

Para comprovar o sucesso de uma erradicação é necessária uma sequência de vários anos sem avistamentos ou capturas (Britton *et al.* 2009). Recentemente foram desenvolvidas técnicas de identificação de espécies em águas doces a partir de fragmentos do seu DNA (“Environmental DNA”) (Spear *et al.* 2015). A possibilidade de aplicação desta técnica a *X. laevis* foi já testada para a população invasora em França, com resultados muito positivos (Sencondi, *com. pess.*). De futuro, espera-se poder aplicar esta técnica de deteção desta espécie nas regiões das ribeiras de Oeiras onde o corrente plano de erradicação parece ter já resultado na eliminação local desta espécie.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez D & Nicieza AG (2002) Effects of induced variation in anuran larval development on postmetamorphic energy reserves and locomotion. *Oecologia* 131: 186–195.

Amaral P & Rebelo R (2012) Diet of invasive clawed frog *Xenopus laevis* at Lage stream (Oeiras, W Portugal). *Journal of Herpetology* 22: 187–190.

Balinsky JB (1981) Adaptation of nitrogen-metabolism to hyper-osmotic environment in Amphibia. *Journal of Experimental Zoology* 215: 335–350.

Britton JR, Davies GD & Brazier M (2009) Towards the successful control of the invasive *Pseudorasbora parva* in the UK. *Biological Invasions* 12(1): 125–131.

Eggert C & Fouquet A (2006) A preliminary biotelemetric study of a feral invasive *Xenopus laevis* population in France. *Alytes* 23: 144–149.

Evans B, Morales J, Picker M, Kelley DB & Melnick DJ (1997) Comparative molecular phylogeography of two *Xenopus* species, *X. gilli* and *X. laevis*, in the south-western Cape province, South Africa. *Molecular Ecology* 6: 333.

Faraone FP, Lillo F, Giacalone G & Valvo ML (2008) The large invasive population of *Xenopus laevis* in Sicily, Italy. *Amphibia-Reptilia* 29: 405–412.

Ferreira A (2014) *Estrutura etária e crescimento das populações invasoras da rã Xenopus laevis em Portugal: um estudo esqueletocronológico*. Tese de Mestrado, Universidade de Évora. 62pp.

Flower SS (1936) Further notes on the duration of life in animals—II amphibians. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1936, 369–394.

Fouquet A (2001) Des clandestins aquatiques. *Zamenis* 6:10–11.

Fouquet A & Measey GJ (2006) Plotting the course of an African clawed frog invasion in Western France. *Animal Biology* 56: 95–102.

Gurdon J (1996) Introductory comments: *Xenopus* as a laboratory animal. In Tinsley RC & Kobel HR (Eds). *The Biology of Xenopus* 3–6. Oxford: Clarendon Press.

Gurdon JB & Hopwood N (2000) The introduction of *Xenopus laevis* into developmental biology: of empire, pregnancy testing and ribosomal genes. *International Journal of Developmental Biology* 44: 43–50.

Harada Y, Goto M, Ebihara S, Fujisawa W, 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: 30–48.

Hatzofe O (2006) *Invasive Species in Israel*. Israel Nature & Parks Authority internal report.



Hewitt J & Power JH (1913) *A list of South African Lacertilia, Ophidia and Batrachia in the McGregor Museum, Kimberly; with field-notes on various species*. Transactions of the Royal Society of South Africa 3: 147–176.

Jokumsen A & Weber RE (1980) Haemoglobin-Oxygen Binding Properties in the Blood of *Xenopus laevis*, with Special Reference to the Influences of Aestivation and of Temperature and Salinity Acclimation. *Journal of Experimental Biology* 86: 19–37.

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. *Copeia* 1997: 589–592.

Lillo F, Faraone FP & Valvo ML (2011) Can the introduction of *Xenopus laevis* affect native amphibian populations? Reduction of reproductive occurrence in presence of the invasive species. *Biological Invasions* 13: 1533–1541.

Lillo F, Marrone F, Sicilia A, Castelli G & Zava B (2005) An invasive population of *Xenopus laevis* (Daudin, 1802) in Italy. *Herpetozoa* 18: 63–64.

Lobos G & Jaksic FM (2005) The ongoing invasion of African clawed frogs (*Xenopus laevis*) in Chile: Causes of concern. *Biodiversity and Conservation* 14:429–439.

Lobos G & Measey GJ (2002) Invasive populations of *Xenopus laevis* (Daudin) in Chile. *Journal of Herpetology* 12: 163–168.

Lockwood JL, Hoopes MF & Marchetti MP (2007) *Invasion Ecology*. Blackwell Publishing. 304 pp.

Longcore JE, Pessier AP & Nichols DK (1999) *Batrachochytrium dendrobatidis* General. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91: 219–227.

Measey GJ & Tinsley RC (1998) Feral *Xenopus laevis* in South Wales. *Journal of Herpetology* 8: 23–27.

Measey GJ (1998a) Diet of feral *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, UK. *Journal of Zoology* 246, 287–298.

Measey GJ (1998b) Terrestrial prey capture in *Xenopus laevis*. *Copeia* 1998, 787–791.

Measey GJ, Rödder D, Green SL, Kobayashi R, Lillo F, Lobos G, Rebelo R & Thirion JM (2012) Ongoing invasions of the African clawed frog, *Xenopus laevis*: a global review. *Biological Invasions* 14: 2255–2270.

Miller K (1982) Effect of temperature on sprint performance in the frog *Xenopus laevis* and the salamander *Necturus maculosus*. *Copeia* 1982, 695–698.

Nieuwkoop & Faber (1994) *Normal Table of Xenopus laevis (Daudin)*. Garland Publishing Inc, New York ISBN 0-8153-1896-0.



Pascual G, Llorrente GA, Montori A & Richter-Boix A (2007) Primera localización de *Xenopus laevis* en libertad en España. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española* 18: 42–44.

Rebello R, Amaral P, Bernardes M, Oliveira J, Pinheiro P & Leitão D (2010a) *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), a new exotic amphibian in Portugal. *Biological Invasions* 12: 3383–3387.

Rebello R, Carreira B & Sousa M (2011) *Plano de controlo de Xenopus laevis nas ribeiras do concelho de Oeiras. Relatório Ano II (2011)*. CBA/ICNB. 33 pp.

Rebello R, Maurício A & Sousa M (2013) Plano de erradicação de *Xenopus laevis* nas ribeiras do concelho de Oeiras. *Relatório Ano IV (2013)*. CBA/CMO/ICNF. 36pp.

Rebello R, Maurício A & Sousa M (2014) *Plano de erradicação de Xenopus laevis nas ribeiras do concelho de Oeiras. Relatório Ano V (2014)*. CBA/CMO/ICNF. 27pp

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

Rebello R, Vale P & Sousa M (2010b) Plano de erradicação de *Xenopus laevis* nas ribeiras do concelho de Oeiras. *Relatório Ano I (2010)*. CBA/ICNB. 33 pp.

Schwalbe CR & Rosen PC (1988) Preliminary report on effects of Bullfrogs on wetland herpetofaunas in southeastern Arizona. Pp 166–173 in Szaro R C, Steverson K E & Patton D R (Eds). *Management of amphibians, reptiles, and small mammals in North America*. US Department of Agriculture, Forest Service, GTR-RM-166, Flagstaff, AZ.

Spear SF, Groves JD, Williams LA & Waits LP (2015) Using environmental DNA methods to improve detectability in a hellbender (*Cryptobranchus alleganiensis*) monitoring program. *Biological Conservation* 183: 38–45.

Tinsley R, Minter L, Measey J, Howell K, Veloso A, Núñez H & Romano A (2009) *Xenopus laevis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2009: e.T58174A11730010.

Tinsley RC & McCoid MJ (1996) *Feral populations of Xenopus outside Africa*. In Tinsley RC & Kobel HR (Eds). *The Biology of Xenopus*. 81–94. Oxford: Clarendon Press.

Tinsley RC, Loumont C & Kobel HR (1996) *Geographical distribution and ecology*. In Tinsley RC & Kobel HR (Eds). *The Biology of Xenopus*. 35–59. Oxford: Clarendon Press.

Tinsley RC, Stott LC, Viney ME, Mable BK & Tinsley MC (2015) Extinction of an introduced warm-climate alien species, *Xenopus laevis*, by extreme weather events. *Biological Invasions* 17: 3183–3195.

Walsh PT, Downie JR & Monaghan P (2008) Plasticity of the duration of metamorphosis in the African clawed toad. *Journal of Zoology* 274: 143–149.

Weldon C, Du Preez LH, Hyatt AD, Muller R & Speare R (2004) Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infectious Disease Journal* 10: 2100–2105. doi: 10.3201/eid1012.030804.