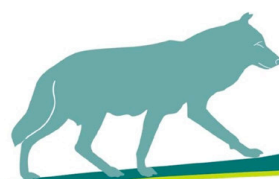


Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro Zona Oeste

***Relatório Ano IV
e análise integrativa dos resultados***

Junho de 2016



ACHLI

**Associação de Conservação
do Habitat do Lobo Ibérico**

ACHLI

Associação de Conservação do Habitat do Lobo Ibérico

Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro

Zona Oeste

Relatório Ano IV e análise integrativa dos resultados

Junho 2016



Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro

Zona Oeste

Relatório Ano IV e análise integrativa dos resultados

O presente plano de monitorização dá continuidade ao Plano de Monitorização do Lobo na área das Serras de Montemuro, Freita, Arada e Leomil, o qual teve uma duração de 4 anos. Esse Plano de Monitorização do Lobo (PML) abrangia os vários projectos eólicos existentes na região. Nos últimos anos foram exigidos PML para parques eólicos localizados a Este da referida área de estudo o que levou ao alargamento da área de trabalho. Face à dimensão dessa área, optou-se por dividir o PML por duas zonas geograficamente distintas, uma mais a Oeste e uma mais a Este, resultando na elaboração de dois planos distintos, nomeadamente o Plano de Monitorização do Lobo a sul do rio Douro - Zona Oeste, que abrange a área de distribuição das alcateias da Arada, Cinfães e Montemuro, e o Plano de Monitorização do Lobo a sul do rio Douro - Zona Este, que abrange a área de distribuição das alcateias das serras de Leomil, Lapa e Trancoso, O presente relatório é relativo à monitorização efectuada na zona Oeste, e corresponde ao quarto ano de monitorização e relatório final (Ano IV e análise integrativa dos resultados).

A ACHLI – Associação de Conservação do Habitat do Lobo é responsável pela articulação entre os vários promotores e pela coordenação do trabalho, promovendo a execução de um estudo o mais homogéneo possível, ainda que a monitorização de cada uma das zonas esteja a ser efectuada por duas equipas distintas. A monitorização nesta zona é assegurada por uma equipa de biólogos do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

O Plano de Monitorização do Lobo a sul do rio Douro – Zona Oeste, que abrange as Serras da Freita, Arada e Montemuro, teve o seu início em Outubro de 2011, sendo que os dados analisados no Relatório Ano IV, que se apresenta em anexo, referem-se ao período compreendido entre Outubro de 2014 e Setembro de 2015. O Relatório Ano IV apresenta também uma análise integrativa dos resultados no período total de monitorização da área (Outubro de 2011 e Setembro de 2015).



O Relatório do Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro – Zona Oeste Ano IV e análise integrativa dos resultados, incorpora as observações constantes no Parecer S062932-20141209-DAIA.DPP sobre o Relatório de Monitorização do Lobo Ano I da Agência Portuguesa do Ambiente com data de 2014/12/09 e no Parecer S030777-201506-DAIA.DPP de 2015/06/15 sobre o Relatório do Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro – Zona Oeste Ano II de Abril de 2015.



Anexo

Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro

Zona Oeste

Relatório Ano IV e análise integrativa dos resultados



Abril | 2016

Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro - Zona Oeste (PMLSD - O)

Ano IV e análise integrativa dos resultados (2011-2015)

Unidade de Vida Selvagem
Departamento de Biologia & CESAM
Universidade de Aveiro



universidade de aveiro
departamento de biologia



CESAM
Centro de Estudos do Ambiente e do Mar
www.cesam.ua.pt



ACHLI
Associação de Conservação
do Habitat do Lobo Ibérico



LOBO IBÉRICO
Sul do Douro - Oeste

Abril | 2016

Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro - Zona Oeste (PMLSD - O)

Relatório Ano IV e análise integrativa dos resultados (2011-2015)

Unidade de Vida Selvagem
Departamento de Biologia & CESAM
Universidade de Aveiro



LOBO IBÉRICO

Sul do Douro - Oeste

Coordenação Científica

Carlos Fonseca
Biólogo, Professor Auxiliar com Agregação
Departamento de Biologia e CESAM, Universidade de Aveiro

Equipa Técnica

Rita Tinoco Torres
Bióloga
Departamento de Biologia e CESAM, Universidade de Aveiro

Eduardo Ferreira
Biólogo
Departamento de Biologia e CESAM, Universidade de Aveiro

João Carvalho
Biólogo
Departamento de Biologia e CESAM, Universidade de Aveiro

Citação recomendada:

Torres RT, Carvalho J, Ferreira E, Barros T, Vale R, Oliveira L, Figueiredo A, Martins R, e Fonseca C. (2016) Plano de monitorização do lobo a sul do rio Douro – zona oeste (PMLSD-O): Ano IV e análise integrativa dos resultados (2011-2015). Relatório Final. Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Aveiro, 196 pp.

Índice geral

Índice de Figuras	8
Índice de Tabelas	12
SUMÁRIO EXECUTIVO	14
SECÇÃO I	15
INTRODUÇÃO	15
1.1. Considerações gerais	15
1.2. Objetivos gerais	17
1.3. Espécie alvo de monitorização: o lobo-ibérico	18
1.4. A subpopulação a sul do rio Douro – zona Oeste	22
1.4.1. Alcateia da Arada	23
1.4.2. Alcateia de Montemuro	23
1.4.3. Alcateia de Cinfães	23
1.5. Área de estudo: sul do rio Douro - oeste	25
1.5.1. Serras da Arada e Freita	26
1.5.2. Serra de Montemuro	27
1.6. Localização e características dos Parques Eólicos	30
1.7. Enquadramento legal	33
1.8. Estrutura do relatório	33
1.9. Autoria técnica do relatório	34
SECÇÃO II	35
ANTECEDENTES	35
SECÇÃO III	37
METODOLOGIA	37
3.1. Distribuição, utilização do espaço, organização social e efetivo populacional do lobo-ibérico	37
3.1.1. Monitorização populacional	37
3.1.1.1. Considerações gerais	37
3.1.1.2. Parâmetros de amostragem	38
3.1.1.3. Calendarização do trabalho	38
3.1.1.4. Métodos de recolha e armazenamento dos dados	39
3.1.1.4.1. Métodos de deteção indireta de lobo-ibérico	39
3.1.1.4.2. Métodos de deteção direta de lobo-ibérico	44
3.1.1.5. Critérios de avaliação dos dados recolhidos	46
3.2. Análise genética	48
3.2.1. Receção e armazenamento de amostras	48
3.2.2. Extração de DNA de excrementos	48
3.2.3. Verificação da origem da amostra através da determinação da linhagem mitocondrial e do marcador microssatélite DBAR1	49
3.2.4. Determinação Molecular do Sexo	50
3.2.5. Determinação dos perfis individuais	51
3.2.6. Análise dos dados genéticos	51
3.3. Avaliação dos impactes resultantes da instalação de parques eólicos	52

SECÇÃO IV	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1. Monitorização populacional do lobo-ibérico: análise genética	54
4.1.1. Determinação da origem das amostras através da linhagem mitocondrial e do marcador microssatélite DBAR1	54
4.1.2. Determinação molecular do sexo	56
4.2. Monitorização populacional do lobo-ibérico: distribuição, utilização do espaço, organização social e efetivo populacional – Ano IV	57
4.2.1. Serra da Freita e Arada	58
4.2.1.1. Distribuição	58
4.2.1.2. Utilização sazonal do espaço	62
4.2.1.3. Tamanho de grupo e ocorrência de reprodução	65
4.2.1.4. Zonas e centros de atividade	65
4.2.1.5. Utilização das áreas relativamente aos Parques Eólicos	67
4.2.1.6. Mortalidade e ameaças à conservação	68
4.2.2. Serra de Montemuro	69
4.2.2.1. Distribuição	69
4.2.2.2. Utilização sazonal do espaço	74
4.2.2.3. Tamanho de grupo e ocorrência de reprodução	76
4.2.2.4. Zonas e centros de atividade	76
4.2.2.5. Utilização das áreas relativamente aos Parques Eólicos	79
4.2.2.6. Mortalidade e ameaças à conservação	80
SECÇÃO V	82
SÍNTESE INTEGRATIVA DO PMLSD-O: 2011-2015	82
5.1. Distribuição e grupos familiares	82
5.2. Efetivo populacional, ocorrência de reprodução e utilização do espaço	85
5.3. Centros de atividade	88
5.4. Análise genética	90
5.4.1. Perfis individuais	91
5.4.2. Diferenciação e diversidade genética nas alcateias	96
5.4.3. Migração e fluxo genético entre alcateias	99
5.4.4. Confirmação de hibridação com cão doméstico	100
5.4.5. Filiações biológicas	102
5.5. Mortalidade e ameaças à conservação	103
SECÇÃO VI	107
AVALIAÇÃO DE IMPACTES	107
6.1. Identificação de impactes resultantes da presença dos Parques Eólicos – ano IV	107
6.2. Utilização das áreas de implantação e envolvente dos Parques Eólicos em exploração no período total do PMLSD-O (2011-2015)	108
6.2.1. Análise por Parque Eólico no período total do PMLSD-O (2011-2015)	112
6.2.1.1. Parques Eólicos das serras da Freita e Arada	112
6.2.1.2. Parques Eólicos da serra de Montemuro	117
6.2.2. Análise por Parque Eólico no período total do PMLSD (2006-2011 e 2011-2015)	130
6.2.2.1. Parques Eólicos das serras da Freita e Arada	130
6.2.2.2. Parques Eólicos da serra de Montemuro	131
6.3. Avaliação das medidas de minimização nos PEs (exploração e construção)	134
SECÇÃO VII	139
CONCLUSÕES	139

7.1.	Súmula dos resultados obtidos	139
7.2.	Medidas de minimização e compensação dos impactes dos Parques Eólicos	143

SECÇÃO VIII	145
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	145

SECÇÃO VII	152
ANEXOS	152

Anexo I	152
Anexo II	165
1. Factores predisposing livestock to wolf depredation	165
Introduction	165
1.1 Canis lupus	165
1.2 Canis lupus signatus	167
1.3 Subpopulation South of Douro River	168
1.4 Rationale behind this study	168
Material e Methods	169
Study area	169
Arada-Freita	170
Montemuro	171
Data evaluation	171
Data presentation	172
Field Work	172
Results	172
Data Analysis and Map correlation	172
Serra Arada – Freita	172
Serra Montemuro	174
Attack to Livestock Correlation to Land use	176
Serra Arada-Freita	176
Serra Montemuro	177
Husbandry system	178
Serra Arada-Freita	178
Serra Montemuro	178
Discussion	179
Conclusions	180
References	181
2. To eat or not to eat: the diet of the endangered iberian wolf (<i>Canis lupus signatus</i>) in an human-dominated landscape in central Portugal	185

Índice de Figuras

Figura 1. Evolução da distribuição de lobo-ibérico em Portugal durante o século XX (adaptado de Petrucci-Fonseca 1990).	19
Figura 2. Distribuição do lobo-ibérico na Península Ibérica (© Pimenta et al. 2005). ..	21
Figura 3. Distribuição do lobo-ibérico em Portugal (1 – alcateia da Arada; 2 – alcateia de Cinfães; 3 – alcateia de Montemuro) (© Pimenta et al. 2005).	22
Figura 4. Localização da área de estudo nos sítios da Rede Natura 2000 (SIC da serra da Freita e Arada: quadrículas F1-F10; SIC da serra de Montemuro: quadrículas M1-M20).	25
Figura 5. Serra da Arada.	26
Figura 6. Serra da Freita.	27
Figura 7. Serra de Montemuro.	28
Figura 8. Serra de Montemuro – área da alcateia de Cinfães.	29
Figura 9. Distribuição dos PEs e SobPEs na área de trabalho (ver Tabela abaixo para a correspondência entre os números e os PEs).	30
Figura 10. Localização dos percursos definidos para prospeção de indícios de presença de lobo na área de trabalho do PMLSD-O.	39
Figura 11. Excrementos encontrados no campo.	40
Figura 12. Recolha de excrementos encontrados no campo para futura análise genética.	40
Figura 13. Técnica a manusear amostras durante os procedimentos de extração de DNA.	48
Figura 14. Distribuição espacial dos excrementos recolhidos no campo considerados com proveniência de lobo-ibérico em toda a área abrangida pelo PMLSD-O, entre outubro de 2014 e setembro de 2015.	57
Figura 15. Distribuição espacial dos excrementos comprovados geneticamente como sendo de lobo ibérico, cão e raposa, na área abrangida pelo PMLSD-O, entre outubro de 2014 e setembro de 2015 (os excrementos de cão e raposa foram excluídos da análise).	58
Figura 16. Distribuição espacial dos excrementos encontrados nas serras da Freita e Arada.	59
Figura 17. Distribuição e intensidade, por freguesia, dos ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, nas serras da Freita e Arada.	61
Figura 18. Distribuição temporal de ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, nas serras da Freita e Arada.	62
Figura 19. Índices Quilométricos de Abundância (I.Q.A.) médios obtidos para cada quadrícula das serras da Freita e Arada, de outubro de 2014 a setembro de 2015.	63
Figura 20. Média sazonal dos Índices Quilométricos de Abundância obtidos em cada quadrícula nas serras da Freita e Arada (outubro 2014 a setembro 2015) (esquerda superior: outono; direita superior: inverno; inferior: verão; não foram encontrados excrementos na primavera).	64
Figura 21. Zonas de maior atividade e centros de atividade de lobo-ibérico (identificados na figura por um triângulo) nas serras da Arada e Freita (centro de atividade “Rio Paivô-Gourim” - representado a azul e centro de atividade “Cabria-Corvo”- representado a vermelho).	66
Figura 22. Centros de atividade com um buffer de 500 m (centro de atividade “Rio Paivô-Gourim” - representado a azul e centro de atividade “Cabria-Corvo”- representado a vermelho).	67
Figura 23. Distribuição espacial dos excrementos encontrados na serra de Montemuro (quadrículas a picotado: alcateia de Cinfães; quadrículas a cheio: alcateia de Montemuro).	69
Figura 24. Distribuição e intensidade, por freguesia, dos ataques ao gado doméstico	

atribuíveis ao lobo-ibérico, na serra de Montemuro.....	72
Figura 25. Distribuição temporal de ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, na serra de Montemuro.	73
Figura 26. Índices Quilométricos de Abundância (I.Q.A.) médios obtidos para cada quadrícula da serra de Montemuro, de outubro de 2014 a setembro de 2015.	74
Figura 27. Média sazonal dos Índices Quilométricos de Abundância obtidos em cada quadrícula na serra de Montemuro (alcateia de Cinfães: quadrículas a ponteadas, alcateia de Montemuro: quadrículas a cheio) (outubro 2014 a setembro 2015) (esquerda superior: outono; direita superior: inverno; esquerda inferior: primavera; direita inferior: verão).	75
Figura 28. Zonas de maior atividade e centros de atividade (identificados na figura por um triângulo) de lobo-ibérico na serra de Montemuro (alcateia de Cinfães: centro de atividade "Golas" - representado a azul e centro de atividade "Alto do Coto"- representado a vermelho e alcateia de Montemuro: centro de atividade "Balsemão" - representado a amarelo, centro de atividade "Penedo do Nuno"- representado a castanho e centro de atividade "Rio Paivô-Alagoa das Casas"- representado a preto).	77
Figura 29. Centros de atividade de lobo-ibérico com um buffer de 500 m (alcateia de Cinfães: centro de atividade "Golas" - representado a azul e centro de atividade "Alto do Coto"- representado a vermelho e alcateia de Montemuro: centro de atividade "Balsemão" - representado a amarelo, centro de atividade "Penedo do Nuno"- representado a castanho e centro de atividade "Rio Paivô-Alagoa das Casas"- representado a preto).....	80
Figura 30. Número total de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos nas Serras da Freita e Arada e na Serra de Montemuro no PMLSD-O (2011-2015).....	83
Figura 31. Diagramas de atribuição (assignment) de indivíduos entre pares de alcateias (A a C). A Diagonal representa pontos com igual probabilidade de atribuição às duas alcateias. Quanto maior o valor da coordenada num eixo, maior a probabilidade de atribuição a uma determinada alcateia. Diagrama bidimensional resultante da análise de coordenadas principais (PCoA) efetuada sobre o conjunto de genótipos identificados ao longo dos quatro últimos anos.	97
Figura 32. Diagrama de migração entre as alcateias, estimado com base no parâmetro Nm (Alcala et al, 2014). São representados os fluxos migratórios relativos (de genes) entre populações. Nenhum dos fluxos migratórios relativos representados se revelou significativo, após um teste de bootstrap com 50.000 iterações.	100
Figura 33. (A) Diagrama resultante do teste de atribuição (assignment) de cães domésticos e lobos amostrados na área de estudo, a cada uma das populações putativas de origem. Quanto mais negativo o valor da coordenada do eixo vertical (ou horizontal), maior a probabilidade de ser lobo (ou cão doméstico). (B) Probabilidade de atribuição de cada indivíduo a cada uma das classes parentais (lobo e cão) ou híbrida. Cara barra horizontal corresponde a um indivíduo. * - ARAH - juvenil encontrado morto no território da Alcateia de Arada.....	101
Figura 34. Diagramas de relações de filiação biológica entre indivíduos das alcateias de Arada, Cinfães e Montemuro. Nenhum dos valores é significativo a um nível de significância de 95%, mas todos são significativos a um nível de 80%, pelo que os resultados devem ser analisados com precaução.....	103
Figura 35. Visão geral do número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (até aos 2000m) dos vários PE ao longo do PMLSD-O e do plano anterior - Roque et al. (2011). (* PE S. Macário II e PE Sobrado já não estão integrados no PMLSD-O ano IV)	110
Figura 36. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) nos vários PEs no ano IVi (análise integrativa) (Roque et al. 2011), ano I (Torres et al. 2013), ano II (Torres et al. 2015a), ano III (Torres et al. 2015a) e ano IV (presente relatório).	110
Figura 37. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e	

zonas envolventes (até aos 2000m) dos PEs afetos à alcateia da Arada durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	112
Figura 38. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do PE Freita I e II durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	113
Figura 39. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) dos núcleo do subPE Arada - Manhouce e Santa Cruz da Trapa durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	114
Figura 40. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do PE São Macário durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	115
Figura 41. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do Sobreequipamento Arada-Montemuro Fase I durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	116
Figura 42. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (até aos 2000m) dos PEs afetos à alcateia de Cinfães e à alcateia de Montemuro durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	118
Figura 43. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do SubPE Aveloso durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	118
Figura 44. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do subPE Bustelo durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	119
Figura 45. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do subPE Carvalhosa durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	120
Figura 46. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do PE Casais durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	121
Figura 47. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do subPE Cinfães durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	122
Figura 48. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do subPE Picão durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	123
Figura 49. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do PE São Pedro durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	124
Figura 50. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do PE Sobrado durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	125
Figura 51. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do PE São Macário II durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	126
Figura 52. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do PE Tendais durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	127
Figura 53. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do PE Testos I durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	128
Figura 54. Número de excrementos encontrados na área de implantação (interior) e zonas envolventes (500m, 1000m e 2000m) do sobreequipamento S. Pedro durante todo o PMLSD-O (2011-2015).	129
Figura 55. Localização dos excrementos contabilizados no ano I e a localização das cancelas dos PEs.	136
Figura 56. Localização dos excrementos contabilizados no ano II e a localização das	

cancelas dos PEs.	137
Figura 57. Localização dos excrementos contabilizados no ano III e a localização das cancelas dos PEs.	137
Figura 58. Localização dos excrementos contabilizados no ano IV e a localização das cancelas dos PEs.	138

Índice de Tabelas

Tabela 1. Ocorrência de reprodução nas alcateias ao longo dos anos de monitorização 1996-2014 (os critérios de avaliação utilizados são os descritos em Roque et al. 2011).....	24
Tabela 2. Todos os PEs e SubPEs presentes na área de estudo e quais contribuíram para o PMLSD-O em cada ano.	31
Tabela 3. PEs do PMLSD-O ao longo dos 4 anos e as suas principais características. ...	32
Tabela 4. Número de transeptos e respetiva distância percorrida por quadrícula UTM 5x5 km na área de trabalho (Sítio “Serras da Freita e Arada” e Sítio “Serra de Montemuro”).....	40
Tabela 5. Esforço de amostragem efetuado para recolher informações junto das populações locais.	44
Tabela 6. Número de estações de escuta na área de trabalho por alcateia.....	45
Tabela 7. Número de estações de espera na área de trabalho, por alcateia.	45
Tabela 8. Número de excrementos, recolhidos no ano IV, submetidos a análise genética com o marcador D-loop (DNA mitocondrial), discriminados por alcateia, com referência ao sucesso de amplificação e aos números de amostras por linhagem mitocondrial.....	55
Tabela 9. Números de excrementos de lobo, recolhidos no ano IV, submetidos a análise genética de perfis individuais e sexagem molecular, agrupados por território da alcateia em que foram encontrados. São apresentados o número de amostras de lobo com perfil individual e quais os perfis de lobo identificados.....	56
Tabela 10. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos nas Serras da Freita e Arada e na Serra de Montemuro, nos percursos mensais (percursos mensais e percursos extra).....	57
Tabela 11. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos nas serras da Freita e Arada durante o período de monitorização, dentro dos percursos que foram prospectados mensalmente e percursos extra.....	58
Tabela 12. Número de ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, nas serras da Freita e Arada, distribuídos por freguesias.....	61
Tabela 13. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico recolhidos na serra de Montemuro (alcateia de Montemuro) durante o período de monitorização, dentro dos percursos que foram prospectados mensalmente e em percursos extra.....	70
Tabela 14. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos na serra de Montemuro (alcateia de Cinfães) durante o período de monitorização, nos percursos que foram prospectados mensalmente e em percursos extra.....	71
Tabela 15. Número de ataques ao gado atribuídos ao lobo-ibérico, distribuídos por freguesias, na serra de Montemuro.....	72
Tabela 16. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos nas Serras da Freita e Arada e na Serra de Montemuro, nos percursos mensais e percursos extra.	83
Tabela 17. Número de ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, ao longo do PMLSD-O, para as três alcateias monitorizadas.....	84
Tabela 18. Efetivo populacional de cada alcateia, estimado através de monitorização tradicional e de análise genética para o período total do PMLSD-O (2011-2015).....	86
Tabela 19. Ocorrência de reprodução nas alcateias ao longo do PMLSD-O (2011-2015).	86
Tabela 20. Número de excrementos, recolhidos entre 2011 e 2015, submetidos a análise genética com o marcador D-loop (DNA mitocondrial), discriminados por alcateia, com referência ao sucesso de amplificação e aos números de amostras	

por linhagem mitocondrial.	90
Tabela 21. Taxas de sucesso (totais e por alcateia) de extração e de determinação de perfis genéticos individuais para o total de 125 amostras analisadas ao longo dos quatro anos de monitorização. A taxa de extração foi estimada tendo por base o número de amostras para as quais foi possível amplificar pelo menos o marcador mitocondrial.	91
Tabela 22. Números de excrementos de lobo, recolhido entre 2011 e 2015, submetidos a análise genética de perfis individuais e determinação molecular do sexo, agrupados por ano de amostragem e território da alcateia em que foram encontrados. São apresentados o número de amostras de lobo com perfil individual e quais os perfis de lobo identificados. + - os genótipos Ara4 e Cinf6 correspondem ao mesmo indivíduo. * apenas no ano IV, foi possível identificar o genótipo Cinf5, que correspondia a uma amostra recolhida no ano III	93
Tabela 23. Distribuição das amostras de excremento correspondentes a cada um dos genótipos de lobo ibérico amostrados ao longo dos últimos quatro anos, nos territórios das alcateias de Arada, Cinfães e Montemuro. Para cada genótipo, é indicado o sexo (M/F/?) e o número de excrementos detectado por ano. * - o genótipo Cinf2 é idêntico ao genótipo Ara4, pelo que corresponde ao mesmo indivíduo.....	95
Tabela 24. Relações de proximidade genética entre indivíduos das três alcateias. Abaixo da diagonal: distâncias genéticas (índice FST) médias entre indivíduos. Acima da diagonal: identidade genética (índice de Nei) média entre indivíduos. * - inclui indivíduo híbrido (ARAH).....	96
Tabela 25. Índices de diversidade genética para as três alcateias. São apresentados: o número de genótipos diferentes identificados; a riqueza alélica (Ar) estimada por rarefação, para N=5; o número total (e médio por marcador) de alelos privados (A _{PRIV}); a heterozigotia observada (H _{OBS}) e esperada (H _{EXP} , rectificada segundo Nei); o coeficiente de consanguinidade (F _{IS}) e o índice (QGM) de parentesco (relatedness) de Queller and Goodnight (1989). * - inclui indivíduo híbrido AraH.....	98
Tabela 26. Ameaças identificadas à conservação das três alcateias, ao longo do PMLSD-O (2011-2015).....	104
Tabela 27. Avaliação das medidas de minimização, no que concerne à eficácia das cancelas nos Parques Eólicos.	135
Tabela 28. Resumo dos resultados obtidos ao longo do PMLSD-O (2011-2015).	142
Tabela 29. Plano de Monitorização do Lobo.	152
Tabela 30. Medidas de Minimização.	156
Tabela 31. Medidas de Compensação.....	162

SUMÁRIO EXECUTIVO

Atualmente, em Portugal, o lobo-ibérico (*Canis lupus signatus* Cabrera 1907) é considerado uma espécie "em perigo" (Cabral et al. 2005), estando protegido por lei desde 1988 (Lei n.º 90/88, de 13 de Agosto; Decreto-Lei n.º 139/90, de 27 de Abril), tornando-se assim uma espécie emblemática e prioritária em termos de conservação (Eggermann et al. 2011). No começo do século passado, a população lupina ocupava quase todo o Portugal continental. No entanto, e a partir de 1920 - 1930, o lobo sofreu uma brusca regressão na sua área de distribuição (Bessa-Gomes e Petrucci-Fonseca 2003). Entre as principais causas deste declínio, encontram-se a destruição do seu *habitat* e a perseguição direta movida pelo Homem (Petrucci-Fonseca 1990). Assim, a população lupina tem vindo a regredir de sul para norte e de oeste para este (Pimenta et al. 2005). Essa regressão é mais acentuada a sul do rio Douro, o que torna a situação do lobo-ibérico muito precária nesta região do país.

Desde 2007, que a subpopulação lupina a sul do Douro tem vindo a ser alvo de monitorização no âmbito do "Plano de Monitorização do Lobo Ibérico nas áreas dos Projectos Eólicos das Serras de Montemuro, Freita, Arada e Leomil", coordenado pela ACHLI - Associação de Conservação do *Habitat* do Lobo Ibérico, tendo este plano decorrido até 2011. A partir dessa data, o plano tornou-se mais abrangente e foi dividido em duas áreas geográficas, nomeadamente na zona este, que abrange a área de distribuição das alcateias das serras de Leomil, Lapa e Trancoso, e a zona oeste, que abrange a área de distribuição das alcateias da Arada, Cinfães e Montemuro.

Dando continuidade ao trabalho realizado em anos anteriores, teve início em outubro de 2011, o "Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro - zona Oeste" (PMLSD-O), o qual tem sido executado por uma equipa da Unidade de Vida Selvagem (UVS), Departamento de Biologia & CESAM, da Universidade de Aveiro.

Nesse âmbito, o presente relatório reporta os resultados de monitorização do lobo-ibérico relativos ao 4º ano de monitorização, na área que abrange o Sítio "Serras da Freita e Arada" e o Sítio "Serra de Montemuro", no período compreendido entre outubro de 2014 e setembro de 2015 e teve como objetivos principais: i) a monitorização e a análise da dinâmica populacional e espacial da população lupina a sul do rio Douro (zona oeste); ii) a avaliação de impactes dos Parques Eólicos na população lupina; e iii) a avaliação e a proposta de medidas de conservação das populações lupinas. Adicionalmente, o presente relatório incluiu também uma análise integrativa dos resultados no período total de monitorização da área, desde outubro 2011 a setembro 2015.

SECÇÃO I INTRODUÇÃO

1.1. Considerações gerais

A uma escala global, começaram-se a fazer sentir os efeitos do esgotamento do petróleo, da crescente poluição e do aquecimento global, devido, em grande parte, ao excessivo consumo de combustíveis fósseis. Nas últimas décadas, têm sido efetuados muitos os esforços para encontrar alternativas ao consumo de combustíveis fósseis. Uma dessas alternativas é a energia eólica. Ao longo das décadas de 1980 e 1990, a prática do aproveitamento da energia eólica generalizou-se, originando uma grande proliferação de aerogeradores. Apesar da energia eólica se tratar de um processo de geração de energia que possibilita a produção de eletricidade sem os níveis de emissões de CO₂ para a atmosfera inerentes a outros processos, este não deixa de ter um conjunto de efeitos sobre o ambiente que não podem ser menosprezados. De uma forma geral, os principais impactos negativos associados a este tipo de projeto são a alteração da paisagem, o aumento da acessibilidade a zonas outrora inóspitas, a poluição sonora e a destruição de *habitats* importantes para as espécies, para além da mortalidade de vertebrados voadores (morcegos e aves) provocada pelo funcionamento dos aerogeradores (Travassos et al. 2005).

A implementação de projetos para exploração da energia eólica é um fenómeno com grande significado em Portugal, tendo possibilitado, ao longo dos anos, a existência de informação relativa à monitorização biológica dos efeitos deste tipo de projetos. É inegável a importância que os Planos de Monitorização (PM) assumem neste contexto, pois permitem uma análise dos impactos dos Parques Eólicos (PEs) no ecossistema, em especial na fauna e na flora, tendo contribuído ainda de forma significativa para o aprofundamento dos conhecimentos sobre algumas espécies do nosso País.

Um PM, a realizar na sequência do procedimento de Avaliação de Impacte Ambiental (AIA) de um projeto, tem como objetivo determinar a resposta da espécie alvo à construção e exploração do empreendimento em causa, devendo, para tal, avaliar-se se os impactes que se previam ocorrer, se verificam, nomeadamente os descritos/quantificados no Estudo de Impacto Ambiental (EIA), bem como analisar-se se estão a ocorrer outros impactes que não estavam previstos. No caso específico dos Planos de Monitorização do lobo-ibérico (PML) em PEs, estes têm como objetivo a recolha de elementos que permitam determinar o

impacte que o projeto eólico pode ter na população lupina que ocorre não só na área de implantação do projeto, mas também na envolvente do mesmo. As alterações mais significativas sobre esta espécie são a diminuição da frequência de utilização da área de implementação do empreendimento eólico, e a alteração do padrão de reprodução das alcateias existentes na vizinhança imediata do projeto. Os impactos dos PEs estão associados às fases de construção e exploração.

O isolamento e a dificuldade de acesso humano são considerados como alguns dos fatores que permitiram ao lobo-ibérico subsistir em algumas das serras do nosso país. Devido à acessibilidade necessária ao seu funcionamento, os PEs podem contribuir para o aumento da perturbação nesses locais. As consequências destes empreendimentos, juntamente com a ação de outros fatores de perturbação e destruição do *habitat*, como é o caso do aumento das infraestruturas rodoviárias (ex: autoestradas), das áreas destruídas pelo fogo, a caça furtiva, os cortes rasos de vegetação arbustiva e arbórea, entre outros, apresentam-se como potenciais ameaças em várias zonas de distribuição da espécie. Estes fatores poderão levar à diminuição da disponibilidade de locais tranquilos no território das alcateias existentes, o que poderá comprometer a sua reprodução, e consequentemente, a sua sobrevivência.

As serras da Freita, Arada e Montemuro constituem importantes e prioritárias áreas para a conservação da subpopulação de lobo-ibérico que ocorre a sul do rio Douro, cuja situação é precária devido ao seu isolamento relativamente à restante população ibérica e ao elevado nível de fragmentação (Pimental et al. 2005). De acordo com o Censo Nacional do Lobo de 2002/03, esta subpopulação não possui mais de 9 alcateias (6 confirmadas e 3 prováveis), sendo que as serras da Freita, Arada e Montemuro albergam entre 30 a 50% do efetivo populacional que ocorre a sul do rio Douro (Pimenta et al. 2005). Esta subpopulação tem vindo, nos últimos anos, em grande parte, a ser alvo de uma monitorização mais abrangente e consistente no âmbito do “Plano de Monitorização do Lobo Ibérico – Serra de Montemuro e Serras da Freita e Arada”, coordenado pela Prosistemas, em 2007, e no âmbito do “Plano de Monitorização do Lobo Ibérico nas áreas dos Projetos Eólicos das Serras de Montemuro, Freita, Arada e Leomil”, coordenado pela ACHLI, que decorreu desde 2008 até 2011. O PMLSD-O surge nesse contexto, na continuidade do trabalho realizado em anos anteriores e teve início em 2011. O presente relatório, que corresponde ao 4º ano de monitorização, realizado pela UVS do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro, reporta os resultados no período compreendido entre outubro de 2014 e setembro de 2015, e incluiu ainda uma análise integrativa dos resultados no período total de monitorização da área, desde outubro 2011 a setembro 2015.

1.2. Objetivos gerais

O PMLSD-O tem como objetivo principal a caracterização da situação atual da subpopulação de lobo-ibérico, na zona oeste a sul do rio Douro, abrangendo a área dos Sítios da Rede Natura 2000 “Serras da Freita e Arada” e “Serra de Montemuro”, que por sua vez correspondem ao território da alcateia da Arada e das alcateias de Cinfães e Montemuro, respetivamente.

De forma geral, a monitorização do lobo tem como finalidade a identificação, avaliação e análise dos seguintes aspetos:

- i) Ocorrência e confirmação de reprodução;
- ii) Dinâmica social;
- iii) Conetividade e fluxo genético;
- iv) Tamanho dos grupos;
- v) Utilização do espaço, identificando-se os centros de atividade, isto é, áreas com maior intensidade de utilização associadas à reprodução e/ou refúgio.

Mais especificamente, os objetivos do PMLSD-O para a componente de monitorização populacional são:

- ✓ Efetuar a caracterização populacional do lobo-ibérico na área relativamente à sua distribuição, utilização do espaço, organização social e efetivo populacional;
- ✓ Analisar, para os parâmetros ecológicos referidos no ponto anterior, a influência gerada pela presença dos PEs, tanto na fase de construção, como de exploração.

Atendendo a que a recolha de excrementos no campo é passível de erro, uma vez que no campo é, por vezes, difícil distinguir efetivamente a origem do excremento (lobo-ibérico, cão ou raposa), é fundamental recorrer-se à análise genética afim de se confirmar se a origem do excremento é efetivamente lobo-ibérico ou não. Assim, no respeitante à componente de análise genética os objetivos específicos são:

- ✓ Estimar a percentagem de sucesso de extração de DNA de amostras não-invasivas;
- ✓ Confirmar a origem dos excrementos (lobo vs. outros carnívoros).

Os objetivos enunciados anteriormente, tornam-se vitais, uma vez que: 1) estimativas repetidas do tamanho populacional, ou de outros índices, são fundamentais para se determinar, a médio-longo prazo, a tendência populacional; 2) essas estimativas são essenciais para se avaliar o sucesso ou insucesso de estratégias de gestão e 3) a interpretação de resultados científicos sem estimativas de densidade populacional tornam-se difíceis.

Assim, o presente relatório corresponde ao Ano IV do “Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro - zona Oeste” (PMLSD-O), que reporta os resultados de monitorização do lobo-ibérico no 4º ano de monitorização, na área que abrange o Sítio “Serras da Freita e Arada” e do Sítio “Serra de Montemuro”, no período compreendido entre outubro de 2014 e setembro de 2015. Adicionalmente, o presente relatório irá apresentar uma análise global dos resultados obtidos desde outubro 2011 a setembro 2015, que incluiu os seguintes períodos temporais:

-Ano I: outubro de 2011 a setembro de 2012 (Torres et al. 2013);

-Ano II: outubro de 2012 a setembro de 2013 (Torres et al. 2015a);

-Ano III: outubro de 2013 a setembro de 2014 (Torres et al. 2015b);

-Ano IV: outubro de 2014 a setembro de 2015 (cuja análise é incluída no presente relatório).

1.3. Espécie alvo de monitorização: o lobo-ibérico

O lobo era o mamífero com maior distribuição no mundo (Mech & Boitani 2010) até ao séc. XIX. A partir dessa altura, este carnívoro começou a desaparecer por quase toda a Europa, em resultado da fragmentação do *habitat*, da perseguição direta por parte do Homem e da caça excessiva das suas presas selvagens. Ainda que extinto na maioria dos países europeus tem-se assistido, nos últimos 20-30 anos, à recuperação das populações de lobo pela sua área de distribuição histórica e à sua recolonização em países onde tinha desaparecido (Boitani 2000). Este facto deve-se, em grande medida, às recentes mudanças socioeconómicas (i.e. êxodo rural com conseqüente abandono das práticas agrícolas e renaturalização dos *habitats*, promovendo o aumento dos ungulados selvagens) e políticas de proteção mais conservadoras e exigentes. Assim, atualmente, esta espécie apresenta o estatuto de Pouco Preocupante (LC – “Least Concern”) a nível mundial, uma vez que apresenta, no geral, populações relativamente estáveis (Mech e Boitani 2010). Contudo, o cenário é diferente a nível

Ibérico, onde ocorre uma subespécie - o lobo-ibérico (*Canis lupus signatus*): em Espanha apresenta um estatuto de *Vulnerável* (VU – “Vulnerable”) (Blanco et al. 1992) e em Portugal apresenta um estatuto de *Em perigo* (EN – “Endangered”) (Cabral et al. 2005). Apesar de a nível Ibérico o lobo se encontrar, localmente, em expansão, as suas populações estão sujeitas a vários fatores de ameaça, tais como a fragmentação do *habitat*, a ausência de planos de recuperação e a ocorrência de ameaças imprevisíveis de origem antropogénica (envenenamentos, abates ilegais, fogos florestais, etc.). O lobo está incluído no Anexo II da CITES e no Anexo II da Convenção de Berna. A nível da União Europeia, o lobo é considerado uma espécie prioritária segundo a Directiva Habitats (Directiva 92/43/CEE do Conselho de 21/05).

Em Portugal, no início do século passado, a população lupina ocupava quase todo o território continental. No entanto, a partir dos anos 1920 – 1930, sofreu uma brusca regressão na sua área de distribuição (Bessa-Gomes e Petrucci-Fonseca 2003) (figura 1).

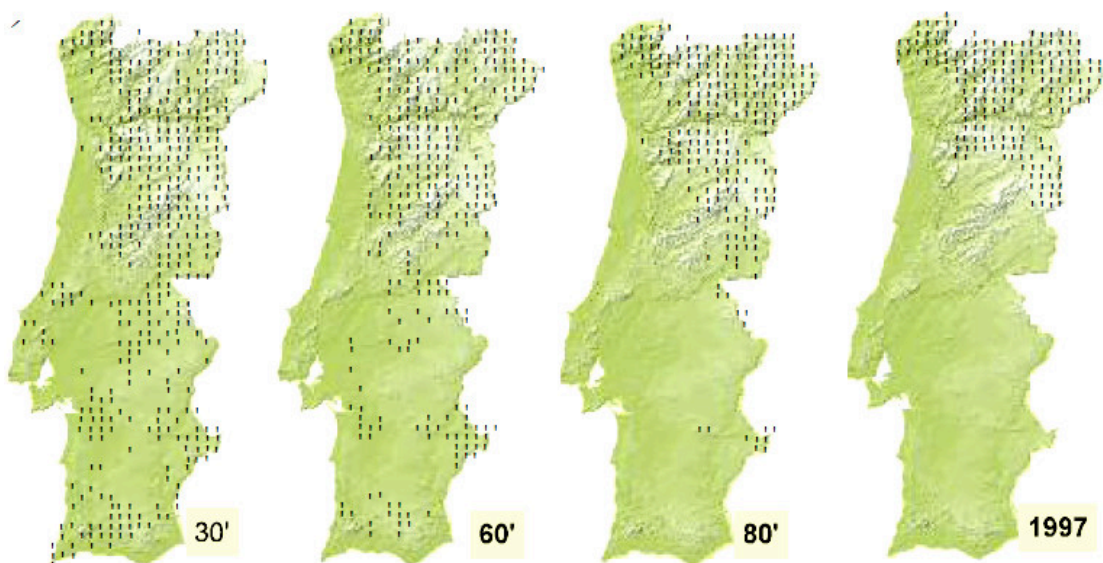


Figura 1. Evolução da distribuição de lobo-ibérico em Portugal durante o século XX (adaptado de Petrucci-Fonseca 1990).

De acordo com o Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal (Cabral et al. 2005), o lobo-ibérico está classificado como “*Em Perigo*” (“*Endangered*”), com cerca de 30% da sua área de distribuição situada na Rede Nacional de Áreas Protegidas ou em Sítios da Rede Natura 2000 (Cabral et al. 2005). É, desde 1988, estritamente protegido por legislação nacional específica (Lei de Proteção do Lobo ibérico: Lei nº 90/88 de 13 de Agosto, regulamentada pelo Decreto-Lei nº 139/90 de

27 de Abril), sendo proibido o seu abate ou captura, a destruição ou deterioração do seu *habitat* e a sua perturbação, em especial durante os períodos de reprodução e dependência das crias. Desde que o lobo-ibérico foi considerado estritamente protegido em Portugal, a sua população tem-se mantido estável, ocorrendo extinções locais em algumas zonas do país (Bessa-Gomes e Petrucci-Fonseca 2003). A população lupina tem vindo a regredir ao longo do século XX de sul para norte e de oeste para este (Alexandre et al. 2000). Essa regressão é, conforme já referido, mais acentuada a sul do rio Douro, o que torna a situação do lobo muito delicada nesta região.

Relativamente à organização social, cada alcateia vive numa área relativamente grande, que utiliza ao longo de todo o ano nas suas deslocações normais – área vital – cujo tamanho, para as populações portuguesas, varia entre 100 e 300 Km², situando-se entre as mais pequenas descritas para a espécie (Blanco 2011, SIPNAT 2012). Cada alcateia é constituída por 3 a 5 indivíduos no fim do Inverno, e 7 a 10 no verão, após o nascimento das crias (SIPNAT 2012). Em cada área vital, existe uma zona que é ativamente usada pela alcateia, à qual se chama território e no qual se insere(m) o(s) centro(s) de atividade onde a alcateia concentra uma parte significativa da sua atividade e que pode ser usado como local de reprodução. A tranquilidade destas áreas é de crucial importância para a conservação das alcateias (Roque et al. 2001; Pimenta et al. 2005) e qualquer tipo de perturbação ou destruição do *habitat*, deverá ser evitado no centro de atividade, tal como definido na Lei de Proteção do lobo-ibérico. Estes, situam-se em locais tranquilos, com vegetação arbustiva ou arbórea densa, próximos de linhas de água e longe de áreas de presença ou atividade regular por parte do Homem (Roque et al. 2001).

Relativamente à sua dieta, as populações de lobo nos países mediterrânicos (Portugal, Espanha, Itália, Grécia), têm necessidade de se adaptar às baixas densidades das suas presas selvagens (e.g. javali, corço, veado) e ao elevado grau de antropomorfização do meio, persistindo muitas vezes à base de ungulados domésticos (e.g. ovelha, cabra, vacas e cavalo) e/ou lixeiras próximas de povoações, onde também são depositados animais mortos, como já foi demonstrado em vários estudos de dieta (e.g. Cuesta et al. 1991; Migli et al. 2005; Pimenta 1998; SIPNAT 2012).

Em Portugal, o primeiro censo de lobo-ibérico decorreu no âmbito de um Programa LIFE, entre 1994 e 1996, e revelou a existência de duas populações aparentemente isoladas, uma a norte e outra a sul do rio Douro. O último Censo Nacional do Lobo realizado em 2002/03 (Pimenta et al. 2005), aponta para uma população entre os 200 a 400 indivíduos, espalhados pelas mesmas duas

subpopulações supostamente isoladas (figura 2): uma a norte do rio Douro, mais estável e em contacto com a população espanhola, formada por três núcleos populacionais (Alvão-Padrela, Peneda-Gerês e Bragança) e outro núcleo a sul do rio Douro, mais instável e fragmentada (Pimenta et al. 2005).



Figura 2. Distribuição do lobo-ibérico na Península Ibérica (© Pimenta et al. 2005).

De acordo com o Censo Nacional do Lobo de 2002/03 (Pimenta et al. 2005), a subpopulação a sul do rio Douro é composta por um reduzido número de grupos reprodutores não possuindo mais de 9 alcateias (6 confirmadas: Arada, Montemuro, Cinfães, Lapa, Trancoso e Leomil e 3 prováveis: Pisco, Jarmelo e Sabugal) (figura 3), apresenta um elevado nível de fragmentação, uma baixa diversidade genética e encontra-se aparentemente isolada da restante população Ibérica (Grilo et al. 2002; Pimenta et al. 2005; Godinho et al. 2007), evidenciando perigo de extinção (Roque et al. 2005). Para além disso, possui uma elevada dependência da presença de ungulados domésticos, que constituem 75% da sua dieta (Grilo et al. 2002). Entre as 6 alcateias confirmadas, encontram-se as três alcateias abrangidas pelo presente PMLSD-O: a alcateia da Arada, a alcateia de Montemuro e a alcateia de Cinfães.

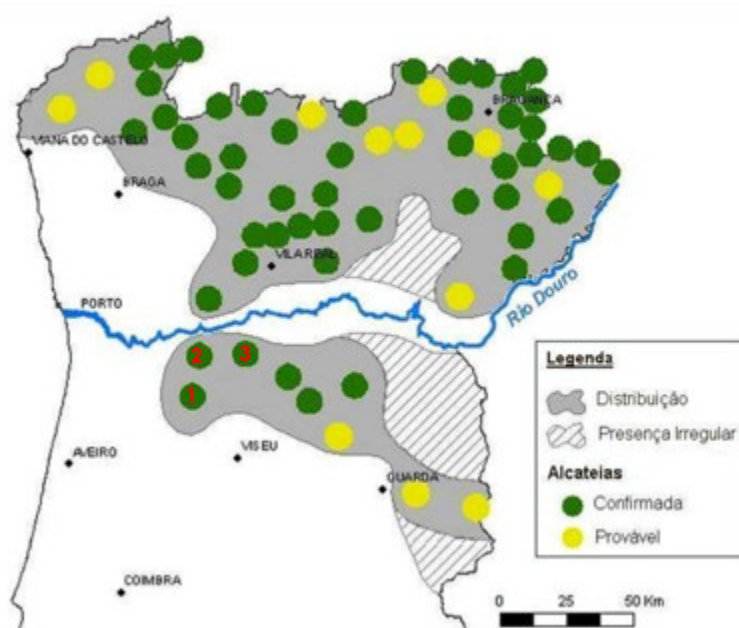


Figura 3. Distribuição do lobo-ibérico em Portugal (1 – alcateia da Arada; 2 – alcateia de Cinfães; 3 – alcateia de Montemuro) (© Pimenta et al. 2005).

1.4. A subpopulação a sul do rio Douro – zona Oeste

A subpopulação a sul do rio Douro é, na generalidade, um núcleo caracterizado por uma grande instabilidade e fragilidade populacional. É importante realçar que a presença do lobo-ibérico a sul do Douro foi umas das razões para a inclusão de parte da sua área de distribuição (zona oeste) em dois Sítios da Rede Natura 2000 (Sítio “Serras da Freita e Arada” e Sítio “Serra de Montemuro”). As orientações de gestão definidas para estes dois Sítios são dirigidas prioritariamente para a conservação do lobo-ibérico (ver Plano Sectorial da Rede Natura 2000).

As principais ameaças que podem levar à regressão do lobo nesta região são a escassez de presas naturais, a regressão da criação de gado em regime extensivo, alteração/destruição do *habitat* (e.g. sobretudo da vegetação autóctone), florestação/desflorestação, implantação de infraestruturas, incêndios, isolamento geográfico, abertura de novas vias de comunicação e existência de cães vadios ou assilvestrados que aumentam a aversão das populações locais ao lobo-ibérico. Um outro factor que poderá estar a ameaçar estas alcateias é o aparente isolamento geográfico desta subpopulação, com consequências em termos genéticos e demográficos. Existem também outras ameaças, como por exemplo o furtivismo, a ausência de medidas que venham a fomentar uma proteção mais eficaz dos animais domésticos e os atrasos no pagamento dos prejuízos causados por ataques de lobo (Cabral et al. 2005; ICN 2006; SIPNAT 2012).

Os efeitos cumulativos resultantes destas ameaças são potencialmente graves. A subpopulação de lobo-ibérico a sul do rio Douro apresenta uma elevada dependência de ungulados domésticos, que constituem 75% da sua dieta (Grilo et al. 2002). A população em estudo é composta por três grupos familiares confirmados (i.e. alcateias Arada, Cinfães e Montemuro).

Segue-se uma descrição de cada alcateia no que se refere ao território ocupado, ocorrência de reprodução e principais ameaças.

1.4.1. Alcateia da Arada

Ocupa um território que corresponde à serra da Arada, localizada a norte de São Pedro do Sul, prolongando-se até à serra da Freita, situada a sul de Arouca.

A reprodução desta alcateia foi detetada em 1996, entre 2001 e 2005, em 2012, 2013 e 2014, e foi considerada como provável em 2009, o que faz desta alcateia uma das mais estáveis na subpopulação lupina a sul do rio Douro (ver Tabela 1), inclusive a nível reprodutor (Roque et al. 2011; Torres et al. 2013; Torres et al. 2015).

As principais ameaças à sobrevivência desta alcateia são a degradação e elevada fragmentação do *habitat*, perseguição direta pelo Homem, assim como a posição marginal que ocupa em relação à população lupina a sul do rio Douro (Roque et al. 2005; 2008).

1.4.2. Alcateia de Montemuro

Ocupa uma área que abrange a parte este da serra de Montemuro, localizada a sudoeste e sul de Lamego, com uma altitude máxima de 1381 metros. A ocorrência de reprodução foi confirmada de 1996 a 1998, em 2005, 2006 e 2008. Esta alcateia foi considerada estável por Pimenta et al. (2005) e instável por Roque et al. (2005) e Torres et al. (2013), sem confirmação de reprodução desde 2009 (ver Tabela 1).

A fragmentação do *habitat*, devido à A24 (o território ocupado por esta alcateia é atravessado por esta autoestrada) e o elevado número de incêndios que se verificam na serra de Montemuro todos os anos, assim como a circulação rodoviária que tem causado mortalidade por atropelamento, constituem as principais ameaças que este grupo familiar enfrenta (Roque et al. 2005).

1.4.3. Alcateia de Cinfães

Ocupa a parte oeste da serra de Montemuro, localizada a sul de Cinfães. Roque et al. (2011) referem que a alcateia de Cinfães é a que apresenta maior

instabilidade de todas as alcateias confirmadas da subpopulação a sul do rio Douro, sem evidências de reprodução em todos os anos de monitorização (ver Tabela 1).

As principais ameaças a esta alcateia são a fragmentação do *habitat*, principalmente devido ao elevado número de incêndios florestais que todos os anos se verificam nesta região (taxa de superfície florestal ardida de 11%, em 2010, em Cinfães: INE 2010).

A tabela 1 sumaria a informação que tem vindo a ser recolhida ao longo dos últimos anos para as três alcateias abrangidas pelo presente PMLSD-O, relativamente à ocorrência de reprodução.

Tabela 1. Ocorrência de reprodução nas alcateias ao longo dos anos de monitorização 1996-2014 (os critérios de avaliação utilizados são os descritos em Roque et al. 2011).

	ARADA	MONTEMURO	CINFÃES	REFERÊNCIA
1996	CONFIRMADA	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	ICN 1997
1997	PROVÁVEL	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	Grilo et al. 2002
1998	NÃO DETETADA	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	
1999	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	
2000	<i>Sem informação</i>	<i>Sem informação</i>	<i>Sem informação</i>	Bastos 2001
2001	PROVÁVEL	PROVÁVEL	<i>Sem informação</i>	Roque et al. 2005
2002	PROVÁVEL	PROVÁVEL	NÃO DETETADA	Pimenta et al. 2005
2003	PROVÁVEL	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	
2004	PROVÁVEL	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	Álvares et al. 2005
2005	PROVÁVEL	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	Álvares et al. 2005
2006	NÃO DETETADA	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	
2007	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	Roque et al. 2009
2008	NÃO DETETADA	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	
2009	PROVÁVEL	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	Roque et al. 2011
2010	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	
2011	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	
2012	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	Torres et al. 2013

2013	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	Torres et al. 2015a
2014	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA	Torres et al. 2015b

1.5. Área de estudo: sul do rio Douro - oeste

A área de estudo (figura 4) abrange dois Sítios de Interesse Comunitário (SIC) constantes da lista de Sítios definidos no Plano Sectorial da Rede Natura 2000, sendo estes o Sítio “Serras da Freita e Arada” (PTCON0047) e o Sítio “Serra de Montemuro” (PTCON0025), estando esta última também classificada como Biótopo CORINE sob a designação de “Serra do Montemuro/Bigorne”. A classificação destes locais baseou-se na presença de uma comunidade rica de vertebrados e na existência de *habitats* e de espécies de elevado valor conservacionista, de entre as quais se destaca a presença da população de lobo-ibérico. Entre estes dois Sítios, localiza-se o Sítio “Rio Paiva” (PTCON0059) que pode constituir uma importante zona de passagem para o lobo-ibérico, permitindo a ligação entre as alcateias das serra de Montemuro, Freita e Arada e as da restante subpopulação.

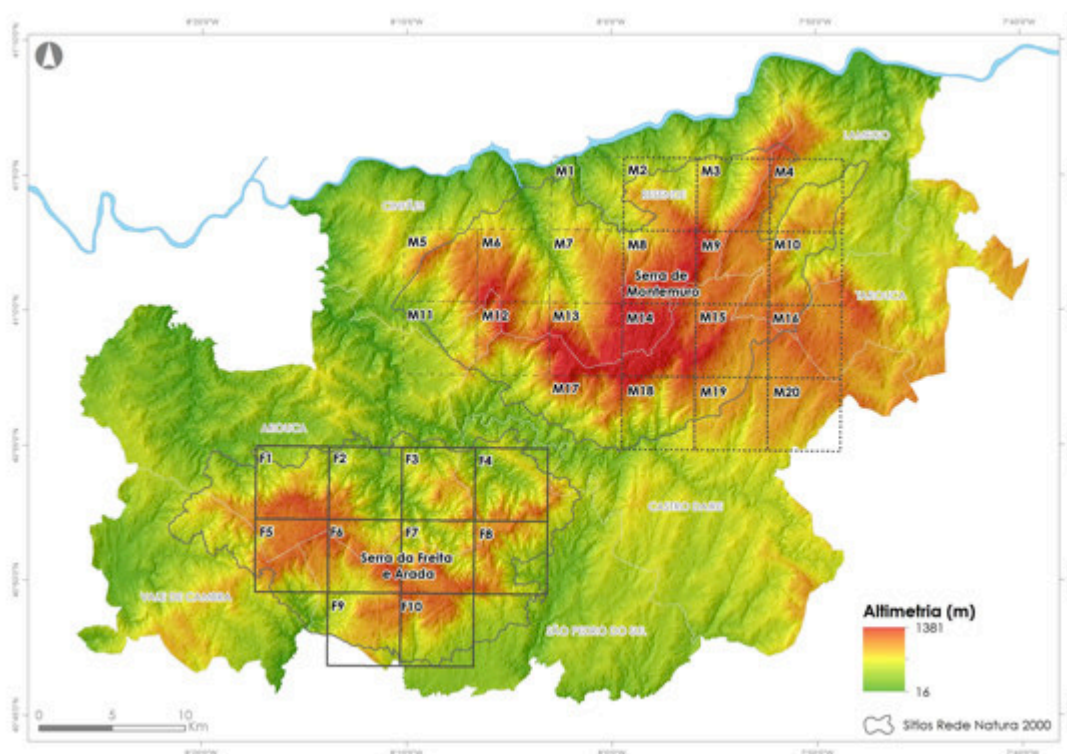


Figura 4. Localização da área de estudo nos sítios da Rede Natura 2000 (SIC da serra da Freita e Arada: quadrículas F1-F10; SIC da serra de Montemuro: quadrículas M1-M20).

A área de estudo é constituída por 30 quadrículas UTM 5x5 Km, abrangendo 750 Km². É de salientar que a seleção das quadrículas que constituem a presente área de trabalho, foi realizada aquando do início da monitorização das alcateias da Arada, Montemuro e Cinfães, no âmbito de anteriores PML, de forma a permitir uma análise comparativa (e.g. PML Ano I, II, III e IV). A área de trabalho encontra-se assim, dividida em duas zonas correspondentes a distintos maciços montanhosos: i) a serra da Arada e Freita, abrangendo parte dos distritos de Aveiro e Viseu, nomeadamente parte dos concelhos de Arouca, Vale de Cambra, Oliveira de Frades e São Pedro do Sul, numa área total de 250 Km² (10 quadrículas UTM 5x5 km: F1 a F10) e ii) a serra de Montemuro, que abrange parte do distrito de Viseu, nomeadamente dos concelhos de Arouca, Castro Daire, Cinfães, Lamego e Resende), numa área total de 500 Km² (20 quadrículas UTM 5x5 km: M1 a M20).

1.5.1. Serras da Arada e Freita

As serras da Arada (figura 5) e Freita (figura 6) caracterizam-se por serem elevações de média montanha, com relevos vigorosos e zonas de falha, e que, em conjunto com as serras do Arestal, compõem o Maciço da Gralheira, uma região com declives acentuados e altitudes médias de 800 – 900 m, sendo a altitude máxima de 1102 m no planalto central da Freita (ICN 2006). São zonas que se encontram sob influência oceânica, apresentando elevados índices de pluviosidade. Situam-se na zona de transição entre os territórios biogeográficos atlântico e mediterrânico sendo repositório de diversas espécies raras e constituindo o limite da área de distribuição geográfica de muitas espécies (ICN 2006). Os rios Paivô, Caima e Teixeira são alguns dos que constituem a rede hidrográfica da zona.



Figura 5. Serra da Arada.



Figura 6. Serra da Freita.

Em termos de flora, assumem especial significado as ocorrências de comunidades turfosas permanentes e de charnecas húmidas, algumas classificadas como *habitats* prioritários (Turfeiras altas ativas e as Turfeiras de cobertura das terras baixas - considerados prioritários no Anexo I da Diretiva “Habitats”). São de igual importância os bosques dominados por amieiros, carvalhais de carvalho-roble (*Quercus robur*) e/ou carvalho-negral (*Quercus pyrenaica*) e sardoais. Contudo, as espécies vegetais arbóreas mais comuns nestas serras correspondem a pequenos povoamentos de eucalipto *Eucalyptus* spp., pinheiro-bravo *Pinus pinaster*, pinheiro-silvestre *Pinus sylvestris* e bétula *Betula pubescens*, geralmente associada a linhas de água. Porém, é nos vales mais estreitos, íngremes e de difícil acesso, que ainda é possível encontrar alguns resquícios da floresta primitiva de carvalhos e castanheiros (*Castanea sativa*) (Cândido & Álvares 2003). De forma geral, os espaços florestais têm uma considerável representatividade, sendo os usos agrícolas diminutos. Os matos ocupam mais de metade da área do Sítio e os povoamentos florestais são dominados por pinheiro-bravo e eucalipto.

Nestas serras, o Homem ainda subsiste da agricultura e pastorícia, predominando a polípecuária com a produção animal de bovinos e de pequenos ruminantes. O povoamento é disperso pelos vales, em aldeias de pequena dimensão com dezenas ou poucas centenas de habitantes, traduzindo-se numa reduzida densidade populacional.

1.5.2. Serra de Montemuro

A serra de Montemuro (figura 7 e 8) é uma região montanhosa, com declives acentuados. Existem também extensas áreas de planaltos de altitude. O SIC é

dominado pelo maciço montanhoso, cuja plataforma se desenvolve entre os 1200 e os 1300 m e situa-se na região biogeográfica Mediterrânica. A rede hidrográfica da zona é ampla e rica, abarcando, por exemplo, os rios Paivô, Paiva, Bestança, Cabrum e Balsemão. Possui áreas naturais em bom estado de conservação, que mantêm uma grande diversidade biológica, nomeadamente no que respeita aos *habitats*. Possui duas áreas interessantes de turfeira e podem observar-se importantes manchas de carvalho-negral (ICN 2006).



Figura 7. Serra de Montemuro.

O território caracteriza-se por um uso predominantemente florestal com uma representação muito significativa de zonas arbustivas (e.g. giesta *Cytisus* spp., carqueja *Pterospartum tridentatum*, tojo *Ulex* spp., urze *Erica* spp. e sargaço *Halimium alyssoides*, sendo que as formações arbustivas são resultantes, na sua maioria, da desflorestação por ação do Homem (e.g. agricultura, pastorícia, incêndios). É também de salientar, como unidade paisagística da serra da Montemuro, os lameiros. Os lameiros são prados semi-naturais mantidos pelo Homem para fornecer pasto ao gado, encontram-se geralmente ladeados por sebes, constituídas por diferentes espécies arbóreas, destacando-se os carvalho-negral e o freixo *Fraxinus angustifolia*. No uso pastorício predomina a polipecuária extensiva de bovinos autóctones e pequenos ruminantes, com vasto recurso a terrenos baldios. Nesta região, as práticas agrícola e pecuária encontram-se ajustadas às condições hostis de orografia (declives acentuados) e clima, verificando-se, contudo, uma tendência para o abandono desta prática. O povoamento é disperso pelos vales, em aldeias de pequena dimensão com dezenas ou poucas centenas de habitantes, traduzindo-se numa baixa densidade populacional.



Figura 8. Serra de Montemuro – área da alcateia de Cinfães.

Tabela 2. Todos os PEs e SubPEs presentes na área de estudo e quais contribuíram para o PMLSD-O em cada ano.

PARQUE OU SUBPARQUE EÓLICO	ZONA DE ESTUDO	PML ANO I	PML ANO II	PML ANO III	PML ANO IV
Alto do Coto ²³	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Alto Talefe ⁴	Montemuro	Não	Não	Não	Não
SobAveloso ⁹	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Bigorne ¹⁹	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Bustelo ²¹	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Cabril ⁵	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Canda ³¹	Freita/Arada	Não	Não	Não	Não
Carvalhosa ²⁷	Freita/Arada	Sim	Sim	Sim	Sim
Casais ¹⁶	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Cinfães ²²	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Coelheira ³²	Freita/Arada	Não	Não	Não	Não
Fonte da Mesa I ²⁰	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Fonte da Mesa II ²⁴	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Fonte da Quelha ²	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Freita I ¹⁷	Freita/Arada	Sim	Sim	Sim	Sim
Freita II ¹⁷	Freita/Arada	Não	Não	Não	Não
Lagoa D. João e Feirão ¹⁴	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Lameira ¹¹	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Manhouce ⁸	Freita/Arada	Sim	Sim	Sim	Sim
Meadas ¹²	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Picão ¹⁰	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Pinheiro ³	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Ribabelide ¹³	Montemuro	Não	Não	Não	Não
S. Cristóvão ²⁵	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Santa Cruz da Trapa ⁷	Freita/Arada	Sim	Sim	Sim	Sim
São Macário II ⁶	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Não
São Macário I ¹⁵	Freita/Arada	Sim	Sim	Sim	Sim
São Pedro ¹	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Sobrado ²⁸	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Não
Sra. Castelo I e II ²⁶	Montemuro	Não	Não	Não	Não
Tendais ²⁹	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Testos I ¹⁸	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Testos II ³³	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim
Vila Lobos ³⁰	Montemuro	Não	Não	Não	Sim
Sob.Arada/Montemuro fase ¹³	Arada	Sim	Sim	Sim	Sim
Sob. São Pedro ³⁵	Montemuro	Sim	Sim	Sim	Sim

Tabela 3. PEs do PMLSD-O ao longo dos 4 anos e as suas principais características.

PARQUE EÓLICO	ZONA DE ESTUDO	PROMOTOR	Nº AEROG.	MW Mega watt	FASES (ANOS)
					Construção
Aveloso (SubPE)	Montemuro	EÓLICA DA ARADA	3	6,0	<u>Início:</u> Maio/2007 <u>Final:</u> Março/2009
Bustelo (SubPE)	Montemuro	EÓLICA DO ALTO DA TEIXOSA	9	18,0	<u>Início:</u> Abril/2009 <u>Final:</u> Dezembro/2009
Carvalhosa (SubPE)	Montemuro	EÓLICA DA ARADA	17	34,0	<u>Início:</u> Maio/2007 <u>Final:</u> Março/2009
Casais	Montemuro	EÓLICA DE TENDAS	1	2,0	<u>Início:</u> Fevereiro/2007 <u>Final:</u> Setembro/2007
Cinfães (SubPE)	Montemuro	EÓLICA DO ALTO DA TEIXOSA	4	8,0	<u>Início:</u> Abril/2009 <u>Final:</u> Dezembro/2009
Fonte da Mesa II	Montemuro	EÓLICA DO ALTO DOURO	5	10,0	<u>Início:</u> Julho/2009 <u>Final:</u> Maio/2010
Freita I	Freita/Arada	IBERWIND II	9	18,0	<u>Início:</u> Agosto/2005 <u>Final:</u> Novembro/2006
Manhouce (Núcleo do SubPE Arada)	Freita/Arada	EÓLICA DA ARADA	15	30,0	<u>Início:</u> Maio/2007 <u>Final:</u> Março/2009
Picão (SubPE)	Montemuro	EÓLICA DA ARADA	11	22,0	<u>Início:</u> Maio/2007 <u>Final:</u> Março/2009
Sta Cruz Trapa (Núcleo do SubPE Arada)	Freita/Arada	EÓLICA DA ARADA	10	20,0	<u>Início:</u> Maio/2007 <u>Final:</u> Março/2009
São Macário I	Freita/Arada	IBERWIND II	5	11,5	<u>Início:</u> Dezembro/2006 <u>Final:</u> Dezembro/2007
São Macário II*	Freita/Arada	VENTOS PROPÍCIOS	10	23,0	<u>Início:</u> Junho/2010 <u>Final:</u> Julho/2011
São Pedro	Montemuro	EÓLICA DE MONTEMURO	5	10,0	<u>Início:</u> Junho/2005 <u>Final:</u> Março/2006
Sobrado*	Montemuro	ENERGIEKONTOR	4	8,0	<u>Início:</u> Março/2008 <u>Final:</u> Junho/2009
Tendas	Montemuro	ENERBIGORNE	6	10,0	<u>Início:</u> Maio/2007 <u>Final:</u> Abril/2008
Testos I	Montemuro	EDP RENOVÁVEIS	12	24,0	<u>Início:</u> Janeiro/2007 <u>Final:</u> Setembro/2008
Testos II	Montemuro	EÓLICA DO ALTO DOURO	22	44,0	<u>Início:</u> Maio/2010 <u>Final:</u> Junho/2011
Arada-Montemuro fase I (sobre)	Arada	EÓLICA DA ARADA	4	9,2	<u>Início:</u> Janeiro/2014 <u>Final:</u> Fevereiro/2015
S. Pedro (sobre)	Montemuro	EÓLICA DE MONTEMURO	1	2	<u>Início:</u> Janeiro/2014 <u>Final:</u> Dezembro/2014
Vila Lobos – repowering	Montemuro	IBERWIND	5	10	<u>Em projeto</u>

* no ano IV, já não foram abrangidos pelo PMLSD-O

1.7. Enquadramento legal

O presente relatório referente ao PMLSD-O Ano IV foi elaborado dando cumprimento ao exposto na legislação em vigor, designadamente o DL n.º 151-B/2013, de 31 de Outubro, alterado pelo DL n.º 47/2014, de 24 de Março e a Portaria n.º 395/2015 de 4 de Novembro.

1.8. Estrutura do relatório

O relatório encontra-se organizado de acordo com o formato de seguida apresentado:

- 1. Introdução** – onde são apresentados as considerações gerais/âmbito e objetivos do trabalho bem como o enquadramento legal do PMLSD-O, caracterização da espécie-alvo e da área de trabalho (incluindo os PEs abrangidos) e, por fim, a equipa técnica envolvida;
- 2. Antecedentes** – onde o atual PMLSD-O é enquadrado nos processos de AIA dos PEs por ele abrangidos;
- 3. Metodologia** – onde é feito um enquadramento da metodologia utilizada, parâmetros utilizados, amostragem e tratamento de dados (monitorização da população, análise genética e onde é descrita a metodologia para avaliação dos impactes resultantes dos PEs);
- 4. Resultados e discussão** – onde são apresentados e discutidos os resultados obtidos ao longo do ano IV do PMLSD-O: monitorização populacional e análise genética (outubro de 2014 a setembro de 2015); são também analisados os impactes dos PE e a eficácia das medidas mitigadoras;
- 5. Análise integrativa dos resultados** - onde é feita uma síntese integrativa dos resultados de monitorização obtidos desde 2011 a 2015;
- 6. Avaliação de impactes resultantes da presença de PEs** - onde são analisados os principais impactes dos PEs;
- 7. Conclusões** – são feitas algumas considerações sobre os principais resultados obtidos ao longo de todo o PMLSD-O e especificamente aos resultados relativos ao ano IV. São também analisados os principais impactes dos PEs e propostas medidas mitigadoras;
- 8. Referências bibliográficas** – onde é referenciada toda a documentação usada para a elaboração deste documento;
- 9. Anexos** – onde são incluídas as tabelas referentes aos antecedentes (Anexo I) e dois trabalhos complementares: 1) "Fatores que predispõem o gado aos ataques de lobo" cujo objetivo foi perceber melhor a distribuição espacial

dos ataques, e 2) “A dieta do lobo ibérico num ecossistema humanizado” – artigo científico já publicado (Anexo II).

1.9. Autoria técnica do relatório

O relatório apresentado corresponde ao Relatório Final do PMLSD-O (Ano IV), tendo sido elaborado por elementos da UVS, do Departamento de Biologia & CESAM, da Universidade de Aveiro (DBIO - UA). A coordenação geral foi assegurada pela ACHLI. São, de seguida, apresentados todos os técnicos envolvidos na realização das diferentes tarefas do trabalho:

Coordenação Geral:

Associação de Conservação do *Habitat* do Lobo Ibérico:

Gonçalo Brotas

Lígia Mendes

Coordenação

Carlos Fonseca

Biólogo, Professor Auxiliar com Agregação

Departamento de Biologia & CESAM, Universidade de Aveiro

Equipa Técnica

Rita Tinoco Torres | Prospecção de campo, tratamento de dados, elaboração do relatório

Bióloga

Departamento de Biologia & CESAM, Universidade de Aveiro

Eduardo Ferreira, Tânia Barros | Análises genéticas, tratamento de dados, elaboração do relatório

Biólogo

Departamento de Biologia & CESAM, Universidade de Aveiro

João Carvalho | Elaboração dos mapas

Biólogo

Departamento de Biologia & CESAM, Universidade de Aveiro

Rita Vale, Lucia Oliveira, Ana Figueiredo, Raquel Martins | Prospecção de campo
Estagiárias de Biologia

Departamento de Biologia & CESAM, Universidade de Aveiro

SECÇÃO II ANTECEDENTES

O presente relatório de monitorização dá continuidade ao PML integrado que foi desenvolvido para as serras de Montemuro, Freita, Arada e Leomil, o qual teve uma duração de 4 anos. Esse PML integrado surgiu na sequência da exigência de vários planos de monitorização sobre o lobo, cuja área de incidência se sobrepunha.

Ao longo dos 4 anos que durou o PML integrado, foram sendo gradualmente abrangidos novos PEs, tendo a área de trabalho sido alargada, ainda que alguns PEs mais antigos tenham deixado de participar o plano. Nos últimos anos foram exigidos estudos de monitorização do lobo-ibérico para PEs localizados mais a nascente o que levou mais uma vez ao alargamento da área de estudo.

Tendo em consideração a grande dimensão da área de estudo, optou-se por a dividir em duas áreas geográficas, nomeadamente a zona este, que abrange a área de distribuição das alcateias das serras de Leomil, Lapa e Trancoso, e a zona oeste, que abrange a área de distribuição das alcateias da Arada, Cinfães e Montemuro.

As características de vários dos PEs localizados na área abrangida por este PMLSD-O, em conjunto com a sua localização em áreas de elevado valor ambiental, integradas na Rede Natura 2000 (Sítios *Serra de Montemuro* e *Serras da Freita e Arada*), levou a que os mesmos fossem sujeitos a Procedimento de AIA, ao abrigo da legislação então em vigor, para cuja instrução se elaboraram os respetivos EIA. Na sequência dos Procedimentos de AIA, resultou, para cada um dos PEs, a emissão da respetiva Declaração de Impacte Ambiental (DIA) favorável à sua construção, condicionada (entre outros aspetos) à realização de um Plano de Monitorização do Lobo. Dentro dos PEs sujeitos a estes procedimentos, os que integraram o presente PMLSD-O nos 4 anos são: São Pedro (PA nº 117), Serra da Freita I (PA nº 120), São Macário I (PA nº 166), Casais (PA nº 175), Arada-Montemuro (processo de Pós-Avaliação (PA) nº 199), Bustelo e Cinfães (PA nº 290), Fonte de Mesa II (PA nº 290) e Testos II (PA nº 340). Os PEs Sobreequipamento do Parque Eólico de Arada-Montemuro – 1ª fase (PA nº 502) e Sobreequipamento do Parque Eólico de São Pedro (PA nº 505) integraram o PMLSD-O nos anos III e IV. O Projeto de remodelação do Parque Eólico de Vila Lobo (Processo de AIA 2667) integrou o PMLSD-O no ano IV. Os PEs Sobrado (PA nº 217) e São Macário II (PA nº 278), também foram sujeitos aos referidos procedimentos e integraram este Plano de Monitorização durante os 3 anos iniciais, não integrando no ano IV. Os PEs Tendais e Testos I foram

isentos de Processo de AIA pelas suas características e/ou localização. No entanto, foram sujeitos a Processos de AIA, tendo para o efeito sido elaborados os respetivos Estudos de Incidências Ambientais, na sequência dos quais ficou definido a obrigatoriedade de elaboração de PML na área de influência dos referidos projetos. Estes PEs também integraram o presente PMLSD-O durante os 4 anos. No Anexo I apresenta-se a informação detalhada do acima exposta.

Para estes quinze PEs foram exigidas medidas de minimização e para alguns (doze) foram também exigidas medidas de compensação. As medidas de minimização e compensação são descritas no Anexo I.

Alguns PEs mais antigos (Cabril, Pinheiro, Alto do Talefe e Fonte da Quelha) também tiveram a obrigatoriedade da elaboração de Planos de Monitorização, onde se incluía a monitorização do lobo. Estes planos de monitorização foram concluídos, mas uma vez que estes PEs se localizam na área de estudo e têm um acompanhamento contínuo desde 2003, foram incluídos na análise.

Tendo em consideração as indicações constantes nos documentos emitidos pelas autoridades ambientais no âmbito dos processos de AIA, e especificamente no que diz respeito ao período de monitorização, alguns promotores consideraram que já tinham cumprido com o exigido, tendo deixado de participar financeiramente o plano agora em curso. No entanto, uma vez que se situam na área de trabalho do presente PMLSD-O, considerou-se importante a sua inclusão na análise efetuada pois podem ter influência no comportamento do lobo na região. Na região existem também outros PEs para os quais não foram exigidos PML e outros em que foram exigidos mas que por opção executaram os PML de forma independente e que por isso nunca participaram financeiramente o PML integrado, mas pelas razões já descritas, estes também foram integrados na análise efetuada, sempre que foi considerado pertinente.

Na figura 9 e Tabela 2 são indicados todos os PEs localizados na área de estudo. Na Tabela 3 são descritos todos os PEs que participam este PML nos diferentes anos, as suas características técnicas e as fases de construção.

É, neste contexto, que foi desenvolvido o presente relatório, que se refere ao ano IV do Plano que abrange a zona oeste – PMLSD – O, o qual é articulado com o Plano de Monitorização do Lobo a Sul do Rio Douro que abrange a Zona Este, sendo utilizadas as mesmas metodologias de trabalho.

SECÇÃO III

METODOLOGIA

3.1. Distribuição, utilização do espaço, organização social e efetivo populacional do lobo-ibérico

3.1.1. Monitorização populacional

3.1.1.1. Considerações gerais

A monitorização pode ser definida como o processo de recolha de informações sobre determinadas variáveis de alguns sistemas, como uma população, em diferentes pontos no tempo e espaço, para assim caracterizar o seu estado (Yoccoz et al. 2001). A densidade e a distribuição de uma população são considerados parâmetros fundamentais para a conservação e gestão da maioria das espécies animais (Wilson & Delahay 2001).

Os grandes carnívoros são exemplos de mamíferos raros, ilusivos, noturnos e tímidos, que são vulneráveis ou ameaçados de extinção (Gittleman & Gomper 2001). As baixas densidades que geralmente exibem e a dificuldade de os observar, tornam a sua monitorização um processo difícil (Linnell et al. 1998). Embora existam vários métodos disponíveis para a monitorização deste grupo (Schwarz & Seber 1999), muitos destes métodos são caros ou não são adequados para a monitorização de grandes áreas, pelo menos de uma forma regular (Zhou & Griffiths 2007). A seleção do método adequado de monitorização depende de vários fatores, tais como: i) objetivos da investigação; ii) disponibilidade de recursos humanos e financeiros; iii) tamanho aproximado da população-alvo, e iv) outras limitações logísticas (Linnell et al. 1998).

A observação direta do lobo-ibérico em liberdade é bastante difícil. Assim, é necessário a utilização de métodos indiretos, que se baseiam nos indícios de presença que o lobo-ibérico deixa à sua passagem. A prospeção dos indícios de presença (excrementos, rastros na neve, pegadas, ataques a gado doméstico, esgravatadelas) permite estimar a distribuição desta espécie dentro da área de trabalho mas também a sua quantificação através de Índices Quilométricos de Abundância (I.Q.A.), que se baseiam no número de indícios de presença (e. g. excrementos) encontrados por quilómetro prospetado.

Este método permite identificar áreas de maior utilização pelo lobo-

ibérico, detetar e individualizar diferentes alcateias (caraterizar a organização social), identificar os seus centros de atividade e os locais de reprodução (Álvares et al. 2000; Mech & Boitani 2003). Posteriormente, nas zonas de maior utilização por parte do lobo-ibérico, são também usados métodos diretos – estações de espera para observação direta de indivíduos e estações de escuta para indução de uivos –, com o objetivo de localizar indivíduos, confirmar alcateias e confirmar a existência de reprodução.

Nos últimos anos, a monitorização da distribuição e demografia da população lupina na área de trabalho tem vindo a utilizar a metodologia acima descrita (Roque et al. 2011).

Atualmente, são utilizadas metodologias não-invasivas (e.g. técnicas de genética molecular) que complementam os métodos tradicionais descritos previamente, e que possuem grande potencialidade para monitorizar e estimar o tamanho das populações lupinas.

3.1.1.2. Parâmetros de amostragem

O trabalho de campo realizado no âmbito desta monitorização foi direcionado para a avaliação de quatro parâmetros ecológicos do lobo na região:

- ✓ Distribuição
- ✓ Utilização do espaço
- ✓ Organização Social
- ✓ Ocorrência de Reprodução

3.1.1.3. Calendarização do trabalho

O trabalho de campo foi realizado durante saídas mensais de cerca de 10-15 dias de duração, espaçadas entre si de 15 dias, e os resultados foram divididos em períodos sazonais definidos por: outono (outubro a dezembro), inverno (janeiro a março), primavera (abril a junho) e verão (julho a setembro). O início do período de monitorização a que reporta o presente relatório do PMLSD-O corresponde a outubro de 2014 e o seu final corresponde a setembro de 2015 (12 meses de monitorização), num período considerado como Ano IV. Adicionalmente, sempre que se justificar, tendo em conta a síntese integrativa, será também reportado o esforço de amostragem feito ao longo de todo o PMLSD-O (2011-2015).

3.1.1.4. Métodos de recolha e armazenamento dos dados

3.1.1.4.1. Métodos de deteção indireta de lobo-ibérico

✓ **Procura de indícios de presença:** foram percorridos transeptos em estradas de terra batida e caminhos florestais, em locais potencialmente propícios à ocorrência de lobo (cumeadas das serras, manchas florestais, matagais e cabeceiras de linhas de água) (figura 10). Os transeptos foram realizados em veículo todo-o-terreno (velocidade máxima de 10 km/h) e/ou a pé, sendo os cruzamentos prospetados sempre a pé até uma distância de cerca de 50 metros em cada direção, dada a maior probabilidade de se encontrarem excrementos nestas zonas (Pimenta et al. 2005). No campo, todos os indícios de presença de lobo-ibérico foram registados e os excrementos foram identificados como sendo de lobo-ibérico através da análise do seu tamanho, aspeto morfológico, cor, odor, conteúdo e localização no terreno (Petrucci-Fonseca 1990; Pimenta et al. 2005). Sempre que um excremento era encontrado, preenchia-se uma ficha de campo e procedia-se à sua localização georreferenciando-se com recurso a um navegador GPS (Garmin® eTrex, Legend c) (figura 11). Sempre que o excremento se encontrava fresco, era recolhida uma amostra para análise genética (figura 12) para um tubo de colheita estéril, e conservada em álcool a 95%.

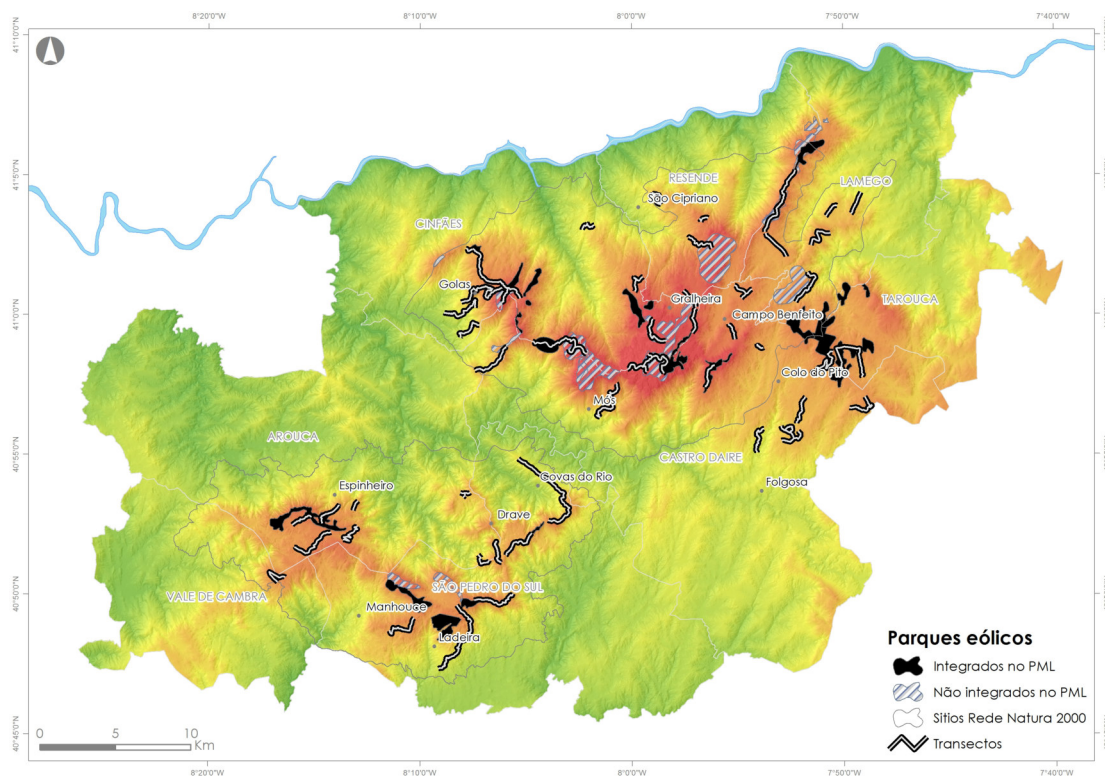


Figura 10. Localização dos percursos definidos para prospeção de indícios de presença de lobo na área de trabalho do PMLSD-O.



Figura 11. Excrementos encontrados no campo.



Figura 12. Recolha de excrementos encontrados no campo para futura análise genética.

Os excrementos identificados como sendo de lobo, foram quantificados em valores sazonais de Índices Quilométricos de Abundância (I.Q.A.). É de salientar que os excrementos encontrados em transeptos extra (transeptos efetuados para além dos pré-definidos) não foram quantificados em I.Q.A., nem na análise da utilização sazonal do espaço. Contudo, os mesmos foram utilizados para confirmar a presença da espécie.

Na tabela seguinte é apresentado o esforço de amostragem efetuado para a prospeção de indícios de presença ao longo dos 4 anos do PMLSD-O.

Tabela 4. Número de transeptos e respetiva distância percorrida por quadrícula UTM 5x5 km na área de trabalho (Sítio "Serras da Freita e Arada" e Sítio "Serra de Montemuro").

Quadrícula	Percurso	Distância (km)	Sítio
F1	PA01	1,6	Serras da Freita e Arada
F1	PA02	2,0	
F2	PA03	0,7	
F3	PA04	1,1	
F4	PA05	7,4	
F5	PA06	3,4	
F5	PA015	2,1	
F6	PA08	2,8	
F7	PA09	1,4	
F8	PA010	3,3	

F8	PA011	1,8	
F8	PA012	2,8	
F9	PA013	2,8	
F10	PA014	6,3	
M1	PC8	1,2	Serra de Montemuro
M2	PM01	1,4	
M2	PM02	0,9	
M3	PM03	5,1	
M4	PM04	1,1	
M4	PM05	1,6	
M5	PC6	5,7	
M5	PC9	3,4	
M6	PC11	3,9	
M7	PC12	1,7	
M8	PM06	2,3	
M8	PM07	1,5	
M9	PM08	2,1	
M9	PM09	2,0	
M10	PM010	2,4	
M10	PM011	3,1	
M11	PC7	3,5	
M11	PC13	2,2	
M12	PC14	2,9	
M12	PC15	5,5	
M14	PM012	5,8	Serra de Montemuro
M14	PM013	2,4	
M14	PM014	1,8	
M14	PM026	1,8	
M15	PM016	1,2	
M15	PM017	0,6	
M16	PM018	3,9	
M16	PM019	5,3	
M17	PC16	4,0	
M19	PM021	2,4	
M19	PM022	4,3	
M20	PM023	2,7	
M20	PM025	1,2	
TOTAL		130,4 km	

- ✓ **Procura e seguimento de rastos de lobo-ibérico na neve:** esta metodologia só é realizada quando as condições atmosféricas são propícias à acumulação de neve, permitindo a contagem das pegadas de lobo-ibérico na neve. Este método, muito usado na Europa central para estimar a densidade de lobo (Jędrzejewska et al. 1996; Smietana & Wajda 1997), permite determinar padrões de uso de espaço e o efetivo mínimo das alcateias (número de animais que se deslocam em grupo).

Contudo, como a realização desta metodologia está dependente da acumulação de neve, não foi possível realizá-la em todos os anos de monitorização. Assim sendo, apenas foi realizada no ano III e ano IV, mas em nenhum dos anos foram encontrados quaisquer indícios de presença do lobo.

✓ **Identificação de zonas de maior atividade:** as zonas de maior atividade foram identificadas em função da distribuição espacial dos excrementos de lobo-ibérico encontrados na área de trabalho, através do Método de Kernel Adaptativo (Worton 1989), recorrendo à extensão *Animal Movement*, no *ArcMap* 10.0. Assim, foram identificadas áreas de uso intenso (95% de probabilidade do animal usar a área), regular (áreas de uso moderado: de 51% a 94% de probabilidade), e irregular (áreas utilizadas de forma não regular: abaixo de 50% de probabilidade). As áreas com um uso intenso e constante por parte do lobo-ibérico, foram consideradas como zonas de maior atividade das alcateias. Para o cálculo das zonas de atividade, usou-se o valor de 100 km² como área vital do lobo-ibérico. Este valor foi calculado com base nos valores de áreas vitais que foram apresentadas anteriormente para a população de lobo a sul do rio Douro (Bastos 2001, Grilo et al. 2002). O Método do *Kernel* Adaptativo, proposto por Worton (1989), foi um grande aperfeiçoamento das funções probabilísticas de densidade, sendo considerado atualmente o melhor método disponível para análises de utilização de espaço através da “distribuição de utilização” (Powell 2000; Kernohan et al. 2001). É um método probabilístico não paramétrico para estimação de curvas de densidades onde cada observação é ponderada pela distância em relação a um valor central - o núcleo (Worton 1989). Este método utiliza um grupo de funções de probabilidade de densidade, *kernels*, que são representadas graficamente por pequenas “manchas” arredondadas, associados a cada uma das localizações dos excrementos. Pode-se assim definir contornos de probabilidade de uso de uma determinada área com base na percentagem desejada desta distribuição de utilização (Worton 1989; Seaman & Powell 1996; Powell 2000; Kernohan et al. 2001). Devido às baixas densidades de lobo-ibérico na área de trabalho e, conseqüentemente, ao reduzido número de excrementos, este método foi aplicado ao número total de excrementos encontrados em cada alcateia, não tendo sido usado na análise sazonal. No interior, ou nas proximidades das zonas de maior atividade obtidas pelo Método de *Kernel* Adaptativo, foram ainda identificados com maior precisão (ao nível de uma ou mais quadrículas UTM 1x1km) os centros de atividade, com base nos seguintes pressupostos: i) existência de *habitat* propício à ocorrência de reprodução/abrigo/repouso: vegetação arbustiva e/ou arbórea

densa, com linhas de água na proximidade e ii) conhecimento de ocorrência de reprodução e/ou de locais de abrigo/repouso determinados neste PMLSD-O e em trabalhos de anos anteriores. Este método assume uma independência estatística entre as observações (Harris et al. 1990). O problema da autocorrelação temporal foi resolvido através de uma amostragem com um intervalo de tempo apropriado (Harris et al. 1990).

✓ **Recolha de informação relativa a ataques ao gado atribuíveis ao lobo-ibérico** (com posterior avaliação da sua distribuição espacial e intensidade): em áreas onde os grandes carnívoros ocorrem em simpatria com gado (e.g. ovelhas, cabras, vacas e cavalos) é natural que ocorra predação (Linnell et al. 1996). Em quase todos os países Europeus, é paga uma indemnização pelo animal morto, após averiguação e confirmação da sua morte pelo lobo. Desta forma, é possível recolher dados sobre a predação dos grandes carnívoros a gado doméstico, sendo uma ferramenta extra para a análise de distribuição da espécie. Adicionalmente, a predação de gado por parte do lobo-ibérico, é uma prova inequívoca da presença do lobo-ibérico num determinado local, considerando-se um complemento à prospeção de campo na identificação das áreas de presença de lobo-ibérico. Os dados apresentados, relativos ao período entre janeiro de 2015 e setembro de 2015, foram obtidos através das estatísticas de prejuízos de lobo, declarados ao ICNF – Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas (não foram fornecidos pelo ICNF os dados relativos a outubro, novembro e dezembro 2014). Todos os anos de monitorização (2011-2015), o ICNF disponibilizou informação relativa a ataques (localização, e mês) ao gado atribuíveis ao lobo-ibérico.

✓ **Recolha de informações junto das populações locais**, de uma forma não sistemática, através de entrevistas/inquéritos, a pessoas que frequentam a serra, principalmente pastores, guardas florestais, bombeiros, proprietários e caçadores. Este é um método simples de recolha de informações numa determinada área onde as pessoas locais estão familiarizadas com o lobo. Este método tem sido bastante utilizado na Europa e América do Norte (Blanco et al. 1992; Ionescu 1993; Vila et al. 1993; Mertzanis 1994). Os inquéritos têm como objetivo a recolha de informações sobre a existência de lobos adultos, de crias (reprodução), predação no gado doméstico e de eventuais lobos mortos. Na seguinte tabela é apresentado o esforço de amostragem efetuado para recolher informações junto das populações locais.

Tabela 5. Esforço de amostragem efetuado para recolher informações junto das populações locais.

Alcateia	Inquéritos informais				Pessoa inquirida
	Ano I	Ano II	Ano III	Ano IV	
Arada	5	2	9	18	Pastores/Bombeiros/Trabalhadores dos PEs
Montemuro	3	2	7	5	Pastores/ Bombeiros/Veterinário/ Trabalhadores dos PEs
Cinfães	2	1	11	16	Pastores/Bombeiros/ Trabalhadores dos PEs
Total	10	5	27	39	

✓ **Compilação de informação e bibliografia:** foi efetuada uma revisão bibliográfica dos relatórios de monitorização dos anos anteriores, elaborados no âmbito do PML, tal como de publicações existentes sobre a população de lobo na área de trabalho, permitindo assim uma análise do estado atual de conhecimentos, nomeadamente no que diz respeito à identificação de locais de reprodução/centros de atividade e de fatores de ameaça nas três alcateias monitorizadas.

3.1.1.4.2. Métodos de deteção direta de lobo-ibérico

Estações de escuta: Muitas espécies de carnívoros sociais, como os lobos, usam o som como forma de comunicação (Jaeger et al. 1996; Rose & Polis 1998). Em muitos casos, uma resposta pode ser provocada pela transmissão de uivos gravados, ou através da simulação de uivos usando a voz humana. Uma resposta por parte do lobo, neste caso, é prova da presença deste carnívoro num determinado local. Há, contudo, um conjunto de fatores, como a época do ano, altura do dia, e a composição do grupo, que podem alterar a frequência natural dos uivos e, por conseguinte, o sucesso da resposta (Jaeger et al. 1996). Várias estações de escuta devem ser estabelecidas para cobrir uma grande área. As estações de escuta consistem em visitas noturnas ao início da noite (1 a 2 horas após o pôr do sol) em locais elevados próximos de zonas que se supõe serem frequentadas pelo grupo familiar (alta concentração de indícios de presença), nos quais se devem emitir 2 a 3 sequências de uivos. Cada sequência é composta por 3 a 6 uivos consecutivos, com uma pausa de 2 a 5 minutos entre cada (Harrington e Mech 1982). Este método

tenta detetar indivíduos e crias de lobo em áreas de maior probabilidade de locais de criação. Como foi referido previamente, a altura do ano condiciona o sucesso das estações de escuta. Assim, o período de realização deste método deve ser entre agosto e outubro, altura em que as crias já poderão responder, permanecendo ainda no local de criação. As condições atmosféricas devem ser as adequadas (ausência de vento e de precipitação) para uma melhor propagação de som. Na Tabela 6, é apresentado o n.º de estações de escuta efetuadas ao longo do PMLSD-O. Entre agosto e outubro de 2015 foi realizado um esforço de amostragem de 24 estações de escuta.

Tabela 6. Número de estações de escuta na área de trabalho por alcateia.

Alcateia	Número de estações de escuta			
	Ano I	Ano II	Ano III	Ano IV
Arada	22	26	6	15
Montemuro	17	2	2	2
Cinfães	5	15	5	7
Total	44	43	13	24

Estações de espera com recurso a telescópios e binóculos, com o objetivo de se observar lobo. As esperas foram realizadas ao nascer e pôr do sol e efetuadas ao longo de todo o ano, mas com uma especial incidência entre agosto e outubro, em plena época de dependência das crias. Este método consiste na observação e contagem direta de animais a partir de locais onde seja possível obter um amplo campo de visão. Na Tabela 7, é apresentado o n.º de estações de espera efetuadas ao longo do PMLSD-O. No ano IV, foi realizado um esforço de amostragem de 12 estações de espera, distribuídas pelas várias alcateias.

Tabela 7. Número de estações de espera na área de trabalho, por alcateia.

Alcateia	Número de estações de escuta			
	Ano I	Ano II	Ano III	Ano IV
Arada	4	5	6	4
Montemuro	3	1	2	2
Cinfães	0	3	5	6
Total	7	9	13	12

Armadilhagem fotográfica (camera trapping): a armadilhagem fotográfica é útil quando se trabalha com mamíferos terrestres elusivos, como o lobo. Em comparação com outros métodos, a armadilhagem fotográfica apresenta consideráveis vantagens devido ao facto de não ser invasiva e poder ser utilizada em grandes áreas por um período de tempo prolongado. Durante o mês de setembro e outubro de 2015, foram colocadas 6 câmaras em locais propícios à ocorrência de lobo, tendo por base as estações de escuta e a concentração de excrementos. As câmaras foram colocadas em locais afetos à alcateia da Arada. Em abril de 2012 (ano I), já haviam sido colocadas 5 câmaras fotográficas na serra da Arada. Contudo, passadas duas semanas da sua colocação, duas foram roubadas, pelo que se retiraram as restantes três, não se tendo obtido qualquer registo de lobo-ibérico nas fotografias registadas. Durante o ano II e o ano III não foram colocadas câmaras fotográficas.

3.1.1.5. Critérios de avaliação dos dados recolhidos

Os critérios utilizados neste PMLSD-O, para determinar a existência de grupos familiares e comprovar a ocorrência de reprodução, são análogos aos critérios utilizados por outros investigadores ibéricos, nomeadamente no Censo Nacional de Lobo, promovido pelo Grupo Lobo/ICN, em 2002 e 2003 (Pimenta et al. 2005) e aos utilizados nos anteriores PML.

> **Distribuição (em cada quadrícula UTM 5x5 km)**

Presença confirmada

- o existência de indícios de presença atribuíveis ao lobo-ibérico (excrementos, prejuízos, pegadas);
- o observação direta de indivíduos através das estações de escuta e espera;

Presença não confirmada

- o não existência de indícios de presença atribuíveis ao lobo-ibérico (excrementos, prejuízos, pegadas);

> **Alcateia**

Alcateia confirmada

- o confirmação da presença de dois ou mais indivíduos, ou de crias/juvenis vivos ou mortos, por observação direta ou de uivos;
- o deteção de elevado número de excrementos \Rightarrow I.Q.A.s elevados a médios (2 – 4 excrementos de lobo-ibérico numa extensão máxima de 2 km).

Alcateia provável

- o deteção de concentrações médias de excrementos \Rightarrow I.Q.A.s médios (1 – 2 excrementos de lobo-ibérico numa extensão máxima de 2 km);
- o ocorrência de reprodução confirmada ou provável nos últimos dois anos;
- o Outros dados credíveis obtidos pela equipa de trabalho durante a monitorização (inquéritos, ataques a gado doméstico, etc).

) Reprodução

Reprodução confirmada

- o observação direta de crias ou de fêmeas adultas com sinais de gestação/aleitamento;
- o deteção da presença de crias através de uivos;
- o recolha de cadáveres de crias/juvenis do ano.

Reprodução provável

- o elevado número de excrementos durante o período reprodutor. I.Q.A.s elevados \Rightarrow entre 3 a 6 excrementos numa extensão máxima de 2 km;
- o recolha de juvenis que tenham morrido entre março e maio;
- o informação fiável recolhida durante a monitorização que confirme a presença de crias e/ou de fêmeas adultas com sinais de gestação/aleitamento;
- o recolha de fêmeas mortas que apresentem cicatrizes placentárias no ano de prospeção, até outubro do mesmo ano.

Reprodução não confirmada

- o zonas onde não existe nenhum tipo de informação que indicie a ocorrência de reprodução durante o período de monitorização.

3.2. Análise genética

3.2.1. Receção e armazenamento de amostras

No período de Outubro de 2014 a Setembro de 2015 foram recolhidas um total de 31 amostras de excrementos para serem submetidos aos procedimentos de análise genética. No ano I, foram recolhidas um total de 71 amostras de excrementos para serem submetidas aos procedimentos de análise genética, no ano II foram recolhidas 16, no ano III foram recolhidas 15 amostras, enquanto que no ano IV foram recolhidas 45.

Todas as amostras foram recebidas e armazenadas na Unidade de Vida Selvagem (UVS), Departamento de Biologia & CESAM, Universidade de Aveiro (Figura 13). Os excrementos, recolhidos e conservados em etanol (95%), foram acondicionados em ambiente refrigerado (-20°C) logo após a sua receção na UVS, pois a sua conservação em ambiente refrigerado está positivamente correlacionada com o grau de conservação das amostras (Murphy et al. 2000). Toda a informação relevante relativa à data e local da recolha da amostra, assim como informação sobre o estado da mesma foi registada numa base de dados criada para o efeito, na UVS.



Figura 13. Técnica a manusear amostras durante os procedimentos de extração de DNA.

3.2.2. Extração de DNA de excrementos

O DNA isolado de amostras não invasivas é mais susceptível a contaminação cruzada entre amostras, por DNA humano ou por amostras com elevada

concentração de DNA (Taberlet et al. 1999). Sendo assim, são necessários cuidados específicos no manuseamento destas amostras. A sua manipulação foi executada num laboratório utilizado exclusivamente para extração de DNA de amostras não invasivas. Durante todo o procedimento foi utilizada bata, luvas, touca e máscara descartáveis, reduzindo-se a possibilidade de contaminação por DNA humano. Foram utilizados consumíveis estéreis e descartáveis, assim como reagentes e equipamentos exclusivamente destinados ao tratamento de amostras não invasivas. A extração de DNA das amostras de excrementos foi efetuada utilizando o kit QiAamp DNAStool da QIAGEN® seguindo o protocolo do fabricante, com algumas modificações. A eficiência deste kit comercial tem sido demonstrada em estudos envolvendo a extração de DNA de excrementos (e.g. Taberlet et al. 1999). Em cada procedimento de extração foram manipuladas um máximo de 10 amostras, incluindo um controlo negativo. A utilização de um controlo negativo durante a extração permitiu certificar a ausência de contaminação entre as amostras e/ou nos reagentes. Posteriormente, as amostras foram submetidas à análise dos marcadores moleculares, de acordo com os procedimentos estabelecidos para o presente estudo, como descrito abaixo.

3.2.3. Verificação da origem da amostra através da determinação da linhagem mitocondrial e do marcador microsatélite DBAR1

A determinação da linhagem mitocondrial foi feita através da amplificação de um fragmento da região controlo (*d-loop*) do DNA mitocondrial. Inicialmente, através de uma reação em cadeia da polimerase (PCR), foi amplificado um fragmento do *d-loop* da região controlo com 442 pares de bases (bp), utilizando os primers Thr-L 15926 e DL-H 16340 (Vilà et al. 1999). Este fragmento é frequentemente utilizado na distinção molecular entre cão e lobo (e.g. Vilà et al. 1999, Godinho & Ferrand, 2007; Godinho et al. 2011), tendo sido também empregue pela equipa anteriormente responsável pela monitorização do lobo nas Serras da Freita, Arada e Montemuro (Roque et al., 2008, 2009). Para a determinação da linhagem mitocondrial, as sequências obtidas foram comparadas com haplótipos previamente descritos para lobo e cão (Vilà et al., 1997), tendo-se utilizado para este efeito um fragmento de apenas 261bp (dos 442 bp sequenciados) correspondente ao fragmento utilizado por estes autores.

As reações de PCR foram preparadas numa sala separada das salas de extração de DNA difícil e de pós-PCR, equipada com uma câmara de PCR com luz ultravioleta. Esta luz foi ligada entre os intervalos de utilização da câmara, destruindo assim as moléculas de DNA e evitando potenciais contaminações. As amplificações

foram realizadas num termociclador com uma temperatura de anelamento de 50°C ao longo de 40 ciclos. Todas as reações de PCR incluíram um controlo negativo para certificar a ausência de contaminação entre as amostras. Após a reação de PCR, os fragmentos foram separados por eletroforese e visualizados à luz-ultra violeta, o que permitiu avaliar o sucesso da reação e se o fragmento mitocondrial foi amplificado. As amostras amplificadas foram purificadas e a deteção da sequência foi feita num sequenciador automático ABIPRISM® 3730-XL DNA Analyser da Applied Biosystems™, com os primers mencionados acima.

A determinação da origem das amostras foi complementada com a genotipagem de todas as amostras utilizando o marcador microssatélite DBAR1, que apresenta um alelo com frequência superior a 95% para o lobo ibérico (Godinho et al. 2011), sendo por isso considerado como diagnóstico para a distinção entre lobo ibérico e cão doméstico. Este marcador foi amplificado utilizando o Qiagen Multiplex Kit™, com uma temperatura de anelamento de 55°C, e seguindo as instruções do fabricante. O tamanho dos alelos foi determinado através de análise de fragmentos em sequenciador automático, como indicado na secção relativa à determinação dos perfis individuais.

3.2.4. Determinação Molecular do Sexo

A determinação molecular do sexo foi efetuada com base na genotipagem do gene da amelogenina. A amelogenina é uma proteína ligada à formação de esmalte em mamíferos (Delgado et al. 2005) e que, no caso dos mamíferos placentários, apresenta duas formas distintas associadas aos cromossomas sexuais (Iwase et al. 2007). A distinção sexual utilizando *primers* específicos tem sido aplicada com sucesso em muitas espécies de animais domésticos – *Ovis aries* (Pfeiffer & Brenig 2005); *Bos taurus* (Ennis & Gallagher 1994) – e selvagens – *Cervus elaphus* (Pfeiffer & Brenig 2005); *C. nippon* (Yamauchi et al. 2000); *Ursus tibetanus* (Yamamoto et al. 2002); felídeos (Pilgrim et al. 2005). No caso do cão, existem atualmente *primers* específicos para amplificação de fragmentos associados ao gene da amelogenina, existindo um marcador para este gene no painel de marcadores Canine Genotypes™ 1.1, utilizado no âmbito da genotipagem com marcadores microssatélites (ver descrição dos métodos aplicados abaixo). Este marcador foi previamente utilizado com sucesso para a sexagem de cães (Steckler 2010) e foi testado pela nossa equipa em amostras de cães de sexo conhecido, com resultados bastante satisfatórios.

3.2.5. Determinação dos perfis individuais

No presente ano de estudo, foram utilizados um total de 26 marcadores para a determinação dos perfis individuais. Destes marcadores, 18 estão incluídos no painel Canine Genotypes™ 1.1, da Finnzymes®. Estes marcadores fazem parte do painel recomendado pela Sociedade Internacional de Genética Animal (ISAG). Entre os 18 marcadores, encontram-se os 15 marcadores sugeridos pela equipa responsável pela monitorização nos anos anteriores, por serem os mais informativos para as alcateias em questão (Raquel Godinho, comunicação pessoal). Após quantificação em espectrofotómetro (Nanodrop®) do DNA total presente nas amostras extraídas, procedeu-se à amplificação das mesmas. Os marcadores incluídos no painel Canine Genotypes™ 1.1 foram amplificados em conjunto (*multiplex*) seguindo as indicações do fabricante. Os restantes marcadores, não incluídos no painel Canine Genotypes™ 1.1, foram também amplificados em conjunto (*multiplex*), mas utilizando o Qiagen Multiplex Kit™ com uma temperatura de anelamento de 56°C, e seguindo as instruções do fabricante. Os produtos de amplificação foram submetidos a electroforese capilar, em sequenciador automático ABIPRISM® 3730-XL DNA Analyser da Applied Biosystems™.

3.2.6. Análise dos dados genéticos

As sequências de DNA mitocondrial foram alinhadas utilizando o algoritmo CLUSTALW (implementado no software MEGA v.5), e posteriormente editadas manualmente. A comparação entre os haplótipos obtidos neste trabalho e os haplótipos de referência (Vilà et al 1997) foi efetuada utilizando o mesmo programa e também o software DnaSP (Librado e Rozas 2009).

Os electroforetogramas foram visualizados utilizando o software Peak Scanner™ Software v1.0, da Applied Biosystems™, e os alelos foram lidos manualmente. Cada marcador foi genotipado um mínimo de três vezes para cada amostra (tendo em vários casos sido amplificados um maior número de vezes). Só foram considerados para a determinação dos perfis individuais os alelos que ocorressem pelo menos em duas das réplicas. Apenas as amostras genotipadas com sucesso para um mínimo de 20 marcadores (dos 26 analisados) foram consideradas para a determinação dos perfis genéticos individuais, desde que apenas três dos marcadores em falta, no máximo, pertencessem ao painel de marcadores recomendados. A taxa média de erro por alelo foi estimada de acordo com Pompanon et al. (2005), através do rácio entre o número de alelos inconsistentes e o número total de alelos replicados. A probabilidade de identidade ($P_{(ID)}$), o grau de parentesco (*relatedness*) entre indivíduos e a presença de alelos privados nas diferentes alcateias foram estimados utilizando o programa GenAlEx 6.501 (Peakall & Smouse, 2006, 2012a). O cálculo da

probabilidade $P_{(ID-SIBS)}$ teve por base uma fórmula de cálculo conservativa (estimada para irmãos – *siblings*) sugerida por Waits et al. (2001) para estudos envolvendo populações de animais selvagens. Este programa foi também utilizado para efetuar testes de atribuição (*assignment*) dos indivíduos às diferentes alcateias e a análise de coordenadas principais (PCoA). O tamanho efetivo da população foi estimado utilizando o programa LDNE 1.31 (Waples and Do, 2008). Os níveis de consanguinidade (FIS), a riqueza alélica e os desvios às condições de equilíbrio de Hardy-Weinberg foram estimados utilizando o programa R 3.2.1 (R Core Team, 2015) e o pacote *diveRsity* (Keenan et al, 2013) Este pacote foi também utilizado para estimar os níveis de migração relativa entre as alcateias. A deteção de híbridos foi efetuada através do programa NEWHYBRIDS 1.0 (Anderson & Thompson, 2002). O programa CERVUS foi utilizado para reconstruir potenciais relações de parentesco entre os indivíduos estudados (Marshall et al, 1998; Kalinowski et al, 2007).

3.3. Avaliação dos impactes resultantes da instalação de parques eólicos

No caso dos PEs em fase de exploração que correspondem a 100% dos aerogeradores em análise neste relatório, a monitorização efetuada foi orientada para a avaliação do estado das três alcateias que têm vindo a ser estudadas, procedendo-se a uma monitorização ecológica que avalia a utilização das áreas ecologicamente sensíveis já identificadas nos anteriores PML, isto é, centros de atividade, locais de criação e áreas vitais.

Deste modo, a avaliação dos impactes resultantes da exploração dos PEs abrangidos pelo PMLSD-O sobre a população de lobo-ibérico das três alcateias em questão, foi feita através da determinação de vários parâmetros ecológicos (distribuição, utilização do espaço e centros de atividade), procurando identificar a existência de relações com a distribuição e a situação dos PEs, por comparação com os resultados obtidos nos PML desenvolvidos anteriormente nesta região.

Adicionalmente, foi feita uma análise integrativa dos últimos anos de monitorização (incluindo os anos prévios ao PMLSD-O, correspondente a Roque et al. 2012 - referido como ano IVi), e os 4 anos de monitorização do PMLSD-O (ano I Torres et al. 2013; ano II Torres et al. 2015a; ano III Torres et al. 2015b e ano IV presente relatório) onde o número de excrementos encontrados no interior e na envolvente dos PEs foi analisado. Convém referir que os PEs Sobrado e São Macário II já não estão abrangidos pelo PMLSD-O no ano IV (mas estavam nos anos anteriores) e que os sobreequipamentos Arada/Montemuro-fase I e São Pedro começaram os trabalhos de construção no ano III, e no ano IV já se encontravam em exploração.

É também analisada a relação dos dados com características do projeto e com o ambiente exógeno.

SECÇÃO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Monitorização populacional do lobo-ibérico: análise genética

No ano IV, foram recolhidas 45 amostras de excrementos, das quais 31 foram sujeitas a análise genética. Comparativamente com os últimos dois anos, houve um aumento do número de amostras sujeitas a análise genética (ano I = 71, ano II = 16, ano III n=15). Este aumento está relacionado com o aumento do número de excrementos encontrados na alcateia de Montemuro neste último ano de monitorização. A seleção das amostras foi efetuada tendo em conta o seu estado de conservação, tendo-se tido o cuidado de incluir amostras de toda a área de estudo. Além das amostras de excrementos, foi processada uma amostra adicional de tecido recolhida de um exemplar juvenil, encontrado morto, na área afectada à alcateia da Arada.

Todas as amostras selecionadas para análise genética foram submetidas à análise de DNA mitocondrial e a confirmação de origem com base no marcador DBAR1. Apenas as amostras para as quais foi possível amplificar o marcador mitocondrial e/ou o marcador DBAR1 foram sujeitas à análise de marcadores microssatélites, com o objetivo de determinar os perfis individuais. O sucesso de extração foi de 87% (27/31), estimado como a percentagem de amostras para as quais foi possível amplificar com sucesso o marcador mitocondrial e/ou obter um perfil genético individual. Além das 32 amostras putativas de lobo (31 de excrementos, mais o juvenil encontrado morto), foram analisadas amostras de pêlo ou de zaragatoa bucal de 34 cães domésticos, recolhidas durante a monitorização na área de estudo. As amostras de cão doméstico foram recolhidas e analisadas com o objetivo de construir uma coleção de referência de cão doméstico da região. Esta coleção permitiu proceder à distinção entre cão doméstico e lobo ibérico e à possível detecção de híbridos de forma mais eficaz. Estas amostras foram analisadas para o mesmo conjunto de marcadores genéticos, seguindo os mesmos passos detalhados para as restantes amostras.

4.1.1. Determinação da origem das amostras através da linhagem mitocondrial e do marcador microssatélite DBAR1

Das 31 amostras (excrementos), putativas de lobo, que foram sujeitas a análise, obtivemos 27 sequências de boa qualidade para o marcador *d-loop* (Tabela 8). A sequenciação do marcador *d-loop* resultou na obtenção de um fragmento de 442 pares de bases (bp), sem ambiguidades. Contudo, para a determinação da

linhagem mitocondrial, foi apenas utilizada uma região desse fragmento correspondente a 261bp. Esta opção foi tomada para permitir a comparação das sequências obtidas para as nossas amostras com as linhagens mitocondriais descritas para lobo e cão por Vilà et al (1997). No entanto, a opção de utilizar um fragmento de menor dimensão não resultou na perda de informação, uma vez que se verificou não existir polimorfismo além dos 261bp analisados para as amostras identificadas como lobo.

Das 27 amostras analisadas com sucesso, 14 corresponderam a uma única linhagem de lobo (denominada por W1 por Vilà et al. 1997), com ocorrência em Portugal e Espanha. O lobo juvenil, encontrado morto, apresentava também este haplótipo. Das 14 amostras de excremento confirmadas como sendo provenientes de lobo, 7 foram amostradas no território da alcateia de Arada, 1 no território da alcateia de Cinfães e 6 no território da alcateia de Montemuro. Foram ainda identificadas 9 amostras correspondentes a linhagens descritas para cão doméstico e 4 amostras identificadas como sendo provenientes de raposa (*Vulpes vulpes*). A análise do marcador DBAR1 permitiu corroborar a identificação de origem com base no marcador mitocondrial, excepto na amostra recolhida do juvenil encontrado morto, para a qual houve dúvidas na identificação com base no marcador DBAR1. Neste caso, um dos alelos detetados correspondia ao alelo mais frequente na população de lobo ibérico, sendo o outro um alelo comum em cães domésticos.

Tabela 8. Número de excrementos, recolhidos no ano IV, submetidos a análise genética com o marcador D-loop (DNA mitocondrial), discriminados por alcateia, com referência ao sucesso de amplificação e aos números de amostras por linhagem mitocondrial.

Alcateia	Excrementos analisados	Amplificados com sucesso (% sucesso)	Lobo-ibérico	Cão	Raposa
Arada	10	9 (90%)	7 (78%)	2 (20%)	-
Cinfães	8	7 (100%)	1 (14%)	3 (43%)	3 (43%)
Montemuro	13	11 (85%)	6 (55%)	4 (36%)	1 (9%)
Total	31	27 (87%)	14 (52%)	9 (32%)	4 (14%)

Considerando os dados do ano IV, a percentagem de excrementos identificados como sendo provenientes de cão doméstico foi superior nos territórios das alcateias de Cinfães (3/7, 43%) e Montemuro (4/11, 36%) do que no da alcateia de Arada (2/9, 22%), seguindo o mesmo padrão observado em anos anteriores (Roque et al. 2010). Relativamente aos anos anteriores, uma maior percentagem de

amostras recolhidas foi identificada como proveniente de cão ou de raposa e, conseqüentemente, uma menor percentagem foi identificada como lobo. Esta redução na percentagem de amostras identificadas como lobo não resultou de uma menor eficiência na identificação no campo dos excrementos, mas sim numa opção metodológica. Este ano optou-se por remeter para análise genética um maior número de excrementos, mesmo aquele que pudessem ter um aspecto mais velho. Esta opção foi tomada no sentido de tentar detetar um maior número absoluto de excrementos de lobo, ainda que sacrificando as taxas de sucesso na identificação de excrementos.

4.1.2. Determinação molecular do sexo

Tal como nos anos anteriores, foi utilizado o método de determinação molecular do sexo utilizando o método de genotipagem do fragmento correspondente ao gene da amelogenina, incluído no painel Canine Genotypes™ 1.1, da Finzymes®. Com base neste método foi possível determinar molecularmente o sexo de apenas 4 das 14 amostras identificadas como sendo de lobo-ibérico (Tabela 9) recolhidas durante o ano IV, mostrando que o marcador da amelogenina foi pouco eficiente. Conseqüentemente, estão a ser testadas alternativas a este método que serão aplicadas de forma retroactiva às amostras dos dois últimos anos.

Tabela 9. Números de excrementos de lobo, recolhidos no ano IV, submetidos a análise genética de perfis individuais e sexagem molecular, agrupados por território da alcateia em que foram encontrados. São apresentados o número de amostras de lobo com perfil individual e quais os perfis de lobo identificados.

Alcateia	Amostras analisadas	Amostras Sexadas (Macho/Fêmea)	Amostras com Perfil Individual	Perfis Individuais (Sexo, Número de Ocorrências)
Arada	10	3 (2,1)	5	Ara1cf (M,2) Ara7 (? , 1) Ara8 (F, 1) Ara9 (M, 1)
Cinfães	8	1 (1,0)	1	Cinf6 (M,1)
Montemuro	13	0	1	Mont5 (? ,1)

Ara1-Mont5 = designações atribuídas a cada um dos genótipos individuais detectados (M/F = sexo determinado molecularmente para cada perfil individual; número de ocorrências de cada perfil nos excrementos analisados).

O sucesso da determinação molecular do sexo foi de 29% (4/14 amostras confirmadas de lobo) para o conjunto das amostras recolhidas no ano IV e de 26% (24/94 amostras confirmadas de lobo) para o conjunto das amostras recolhidas ao longo dos quatro anos de monitorização.

4.2. Monitorização populacional do lobo-ibérico: distribuição, utilização do espaço, organização social e efetivo populacional – Ano IV

Entre outubro 2014 e setembro 2015 foram detetados, nos percursos mensais e em percursos extra realizados nas serras da Freita, Arada e Montemuro, um total de 40 excrementos (Figura 14) considerados com proveniência de lobo-ibérico (Tabela 10). Destes 40, foi possível confirmar a proveniência de 31, ou seja a origem de 9 excrementos não foi confirmada, tendo-se no entanto admitido que estes eram de lobo. Na análise que se segue nesta secção, foram apenas excluídos os excrementos comprovados geneticamente como sendo de cão e raposa (Figura 15).

Tabela 10. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos nas Serras da Freita e Arada e na Serra de Montemuro, nos percursos mensais (percursos mensais e percursos extra).

Alcateias	Nº excrementos	%
Arada	14	35
Montemuro	13	33
Cinfães	13	32
Total	40	

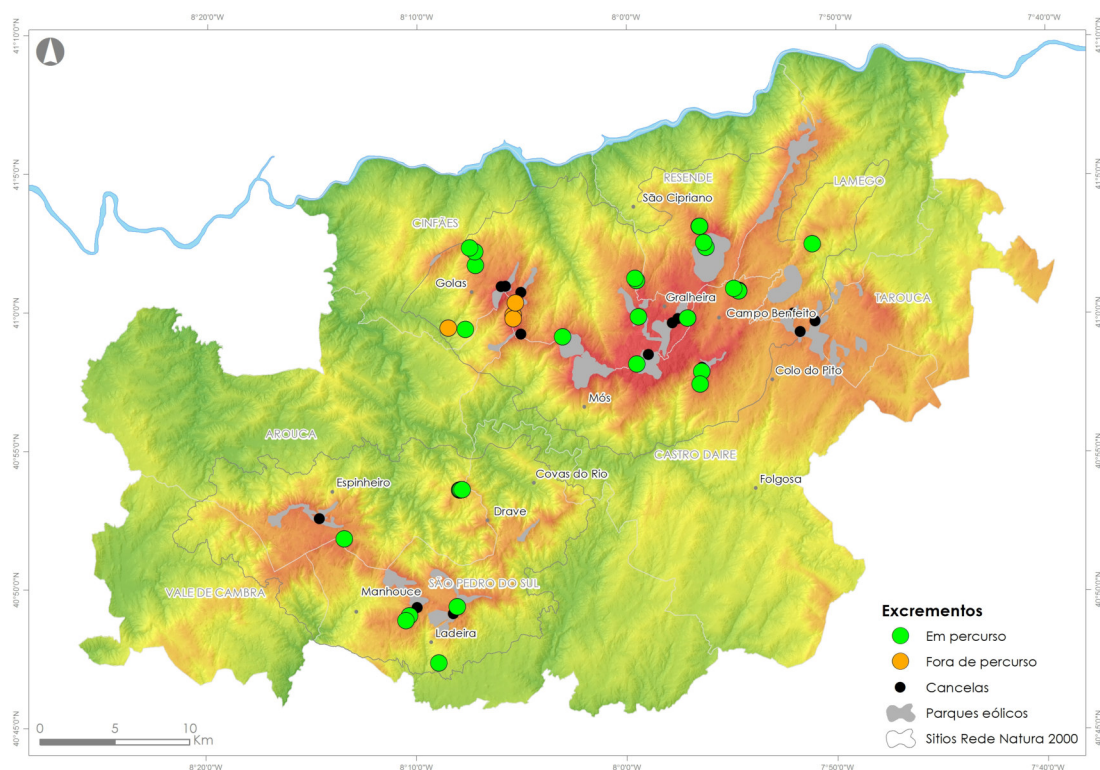


Figura 14. Distribuição espacial dos excrementos recolhidos no campo considerados com proveniência de lobo-ibérico em toda a área abrangida pelo PMLSD-O, entre outubro de 2014 e setembro de 2015.

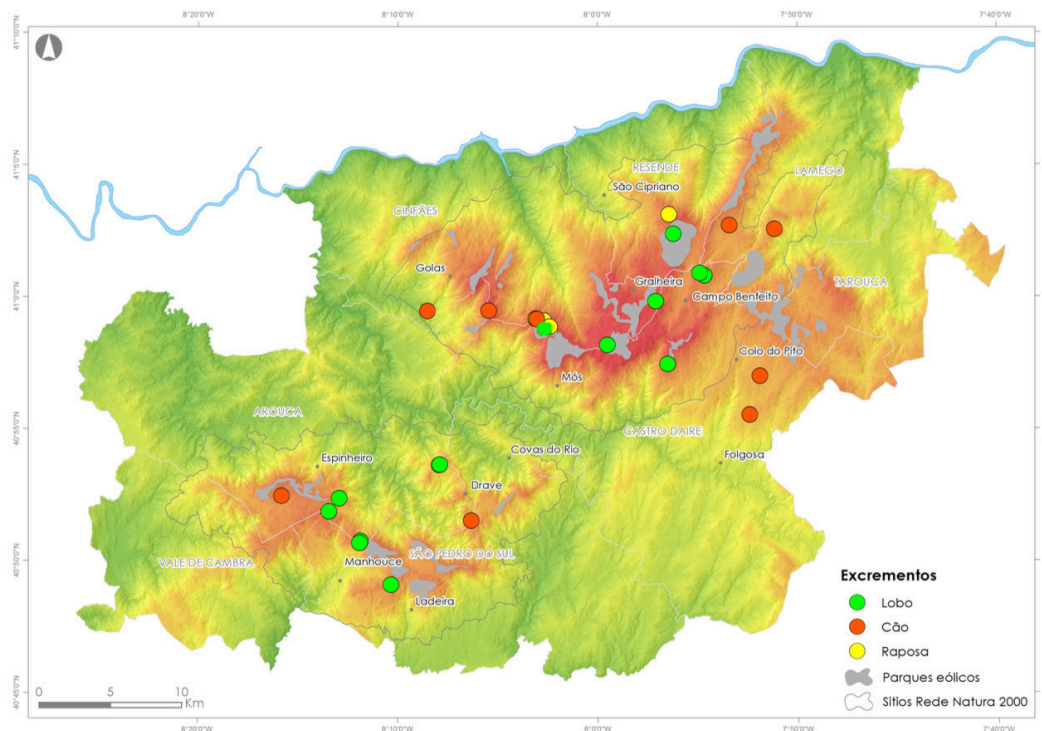


Figura 15. Distribuição espacial dos excrementos comprovados geneticamente como sendo de lobo ibérico, cão e raposa, na área abrangida pelo PMLSD-O, entre outubro de 2014 e setembro de 2015 (os excrementos de cão e raposa foram excluídos da análise).

4.2.1. Serra da Freita e Arada

4.2.1.1. Distribuição

Nas serras da Freita e Arada foram detetados, no total, 14 excrementos. Nos percursos mensais foram encontrados 9 excrementos. Contudo, para além dos percursos mensais foram efetuados 17 percursos extra. Nestes, foram encontrados 5 excrementos. Globalmente, das 10 quadrículas UTM 5x5 km prospetadas mensalmente nas serras da Freita e Arada, os resultados obtidos permitem confirmar a presença de lobo-ibérico em 7 quadrículas (70%) (Tabela 11).

Tabela 11. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos nas serras da Freita e Arada durante o período de monitorização, dentro dos percursos que foram prospetados mensalmente e percursos extra.

Quadrículas UTM	Nº excrementos	%
F2	1	7
F3	4	29
F5	1	7
F6	3	21
F7	1	7
F9	2	14
F10	2	14
Total	14	

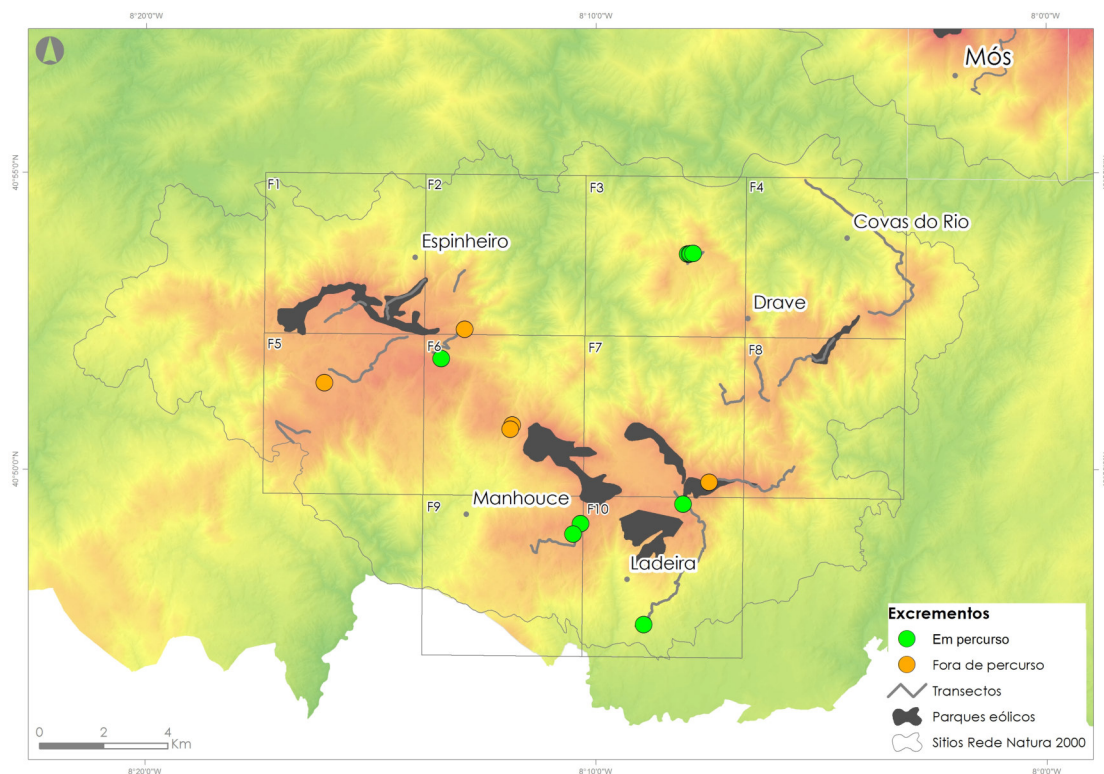


Figura 16. Distribuição espacial dos excrementos encontrados nas serras da Freita e Arada.

A análise do mapa (Figura 16) revela que a distribuição do lobo-ibérico na área de trabalho é relativamente homogénea, distribuindo-se na parte este (correspondente à serra da Arada) 65% dos excrementos detetados nesta alcateia e na parte correspondente à serra da Freita, foram detetados os restantes 35% dos excrementos desta alcateia. Em linha de conta com o que vem a ser comum nos últimos anos, no presente ano de monitorização, a serra da Arada é a área que apresenta maior intensidade e continuidade temporal na ocupação por parte do lobo-ibérico. Contudo, e tal como em anos anteriores, é de salientar o aumento da presença do lobo na zona da serra da Freita: este ano, a sua presença foi detetada em quase todas as quadrículas desta zona: F2, F5 e F6, enquanto que no ano anterior, apenas havia sido deteada a sua presença na quadrícula F5. Entre a serra da Arada e a serra da Freita (F2 e F6) encontraram-se, pela primeira vez desde o início do PMLSD-O, indícios de presença. Contudo, os excrementos encontrados não foram nos percursos de prospeção mensal, mas em transeptos extra. Como havia sido referido em anos anteriores, esta área poderá ter uma ocupação mais regular do que a registada pela deteção de excrementos, uma vez que esta zona está subrepresentada em termos de transeptos, pois trata-se do vale do rio Paivô, o qual é muito encaixado e com poucos acessos. Por este motivo, a baixa deteção de

excrementos nestas quadrículas deverá estar mais relacionada com questões metodológicas. Assim, e para colmatar esta falha, foram realizados 11 percursos extra que pudessem auxiliar na interpretação da utilização do espaço por parte do lobo-ibérico entre estas duas serras, questão fundamental para o conhecimento da dinâmica populacional desta alcateia. Em comparação com o ano anterior, verifica-se que o número de excrementos encontrados foi ligeiramente superior (PMLSD – O ano III = 9 excrementos), e houve um aumento no número de quadrículas usadas: enquanto que no PMLSD – O ano III foram usadas as quadrículas F3, F4, F5 e F8 (4 quadrículas no total), no presente PMLSD (ano IV), foram usadas 7 quadrículas (F2, F3, F5, F6, F7, F9 e F10).

Os resultados obtidos pela prospeção de excrementos estão de acordo com a perceção da população residente, uma vez que todos os inquéritos efetuados referem que o lobo-ibérico é uma espécie raramente observada na serra da Freita e Arada. Aliás, há mesmo habitantes locais que referem que o lobo-ibérico já não existe nesta região. Contudo, ainda há observações de lobo por alguns habitantes/trabalhadores locais.

No que diz respeito à ocorrência de ataques ao gado atribuídos ao lobo-ibérico, com base nas estatísticas disponibilizadas pelo ICNF, foi registado um total de 50 ataques, desde janeiro 2015 a setembro 2015 (o ICNF não forneceu informação relativa a outubro-dezembro 2014, de forma que esses 3 meses não foram incluídos na análise), nas serras da Freita e Arada (figura 17). As freguesias mais afetadas foram as São Martinho das Moitas - Covas do Rio (n=27) e Cabreiros - Albergaria da Serra (n=10) (Tabela 12). Quando se compara a ocorrência de ataques ao gado atribuíveis ao lobo-ibérico com o mapa de distribuição do lobo-ibérico (figura 17), verifica-se que há concordância entre o uso do espaço e os ataques a presas domésticas. Assim, as freguesias onde se registou o maior número de ataques de lobo-ibérico (São Martinho das Moitas - Covas do Rio e Cabreiros - Albergaria da Serra) correspondem às áreas onde a distribuição desta espécie é mais regular. Comparativamente com o ano anterior, verifica-se uma diminuição do número de ataques (PMLSD-O ano III = 99 ataques), mantendo-se a freguesia de São Martinho das Moitas - Covas do Rio como a mais afetada.

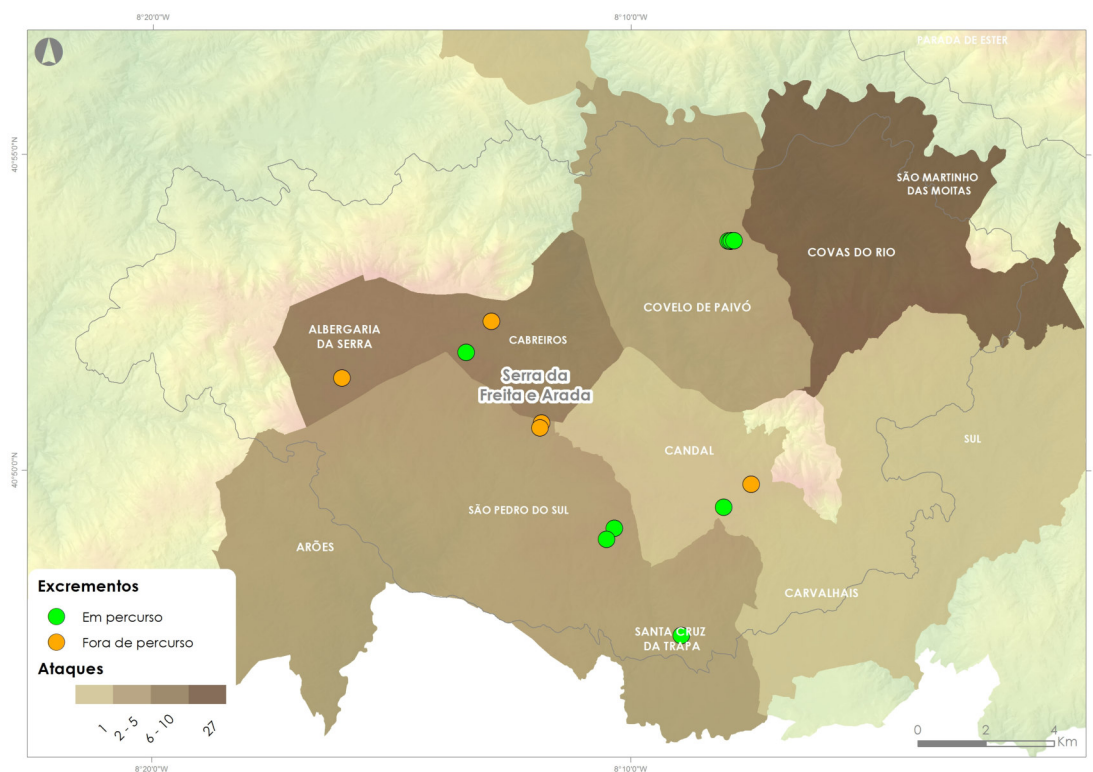


Figura 17. Distribuição e intensidade, por freguesia, dos ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, nas serras da Freita e Arada.

Tabela 12. Número de ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, nas serras da Freita e Arada, distribuídos por freguesias.

Freguesias	Nº ataques
São Martinho das Moitas e Covas do Rio	27
Cabreiros e Albergaria da Serra	10
Arões	3
Manhouce	3
Covelo de Paivô e Janarde	2
Santa Cruz da Trapa e São Cristóvão de Lafões	2
Sul	1
Carvalhais e Candal	1
Canelas e Espiunca	1
Total	50

A figura 18 mostra a distribuição temporal dos ataques de lobo a presas domésticas. Existem diferenças significativas ($\chi^2 = 60,0$, $p < 0,05$) relativamente ao número de ataques de lobo ao gado, ao longo dos diferentes meses do ano. O mês com maior número de ataques é outubro.

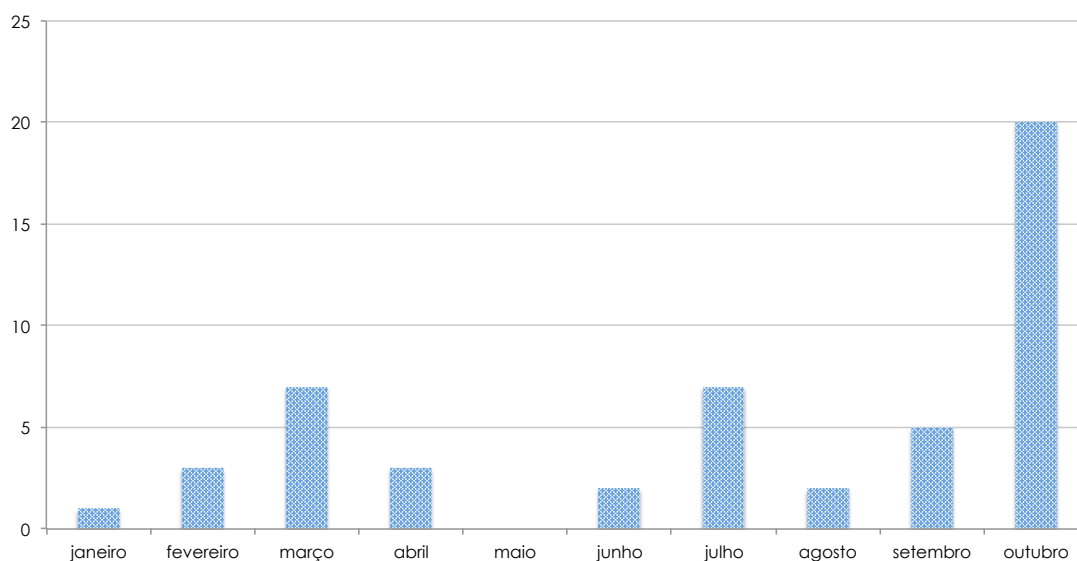


Figura 18. Distribuição temporal de ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, nas serras da Freita e Arada.

4.2.1.2. Utilização sazonal do espaço

Os valores de I.Q.A. (nº de excrementos/km prospetado) calculados para cada quadrícula permitem avaliar a intensidade de utilização do *habitat* por parte do lobo-ibérico e o uso do seu território. Convém referir que para o cálculo dos I.Q.A. apenas foram considerados os excrementos encontrados nos percursos de prospeção mensal e não foram usados os excrementos encontrados nos percursos extra. Nos anos anteriores de monitorização, tem-se verificado que a intensidade de utilização das serras da Freita e Arada, por parte do lobo-ibérico, não é uniforme, sendo a sua presença mais intensa na região este (serra da Arada). Contudo, conforme referido anteriormente, a utilização da serra da Freita por parte do lobo ibérico tem vindo a aumentar nos últimos anos.

No presente ano de monitorização, a quadrícula que apresenta os valores de I.Q.A. mais elevados é a quadrícula F3 (I.Q.A. = 0,303), correspondente à serra da

Arada. Depois, é a quadrícula F9 (serra da Arada) que apresenta os valores de I.Q.A. mais elevados (I.Q.A. = 0,06), seguida das quadrículas F6 e F3, com valores de I.Q.A. semelhantes (I.Q.A. = 0,03 e I.Q.A. = 0,3, respetivamente) (Figura 19).

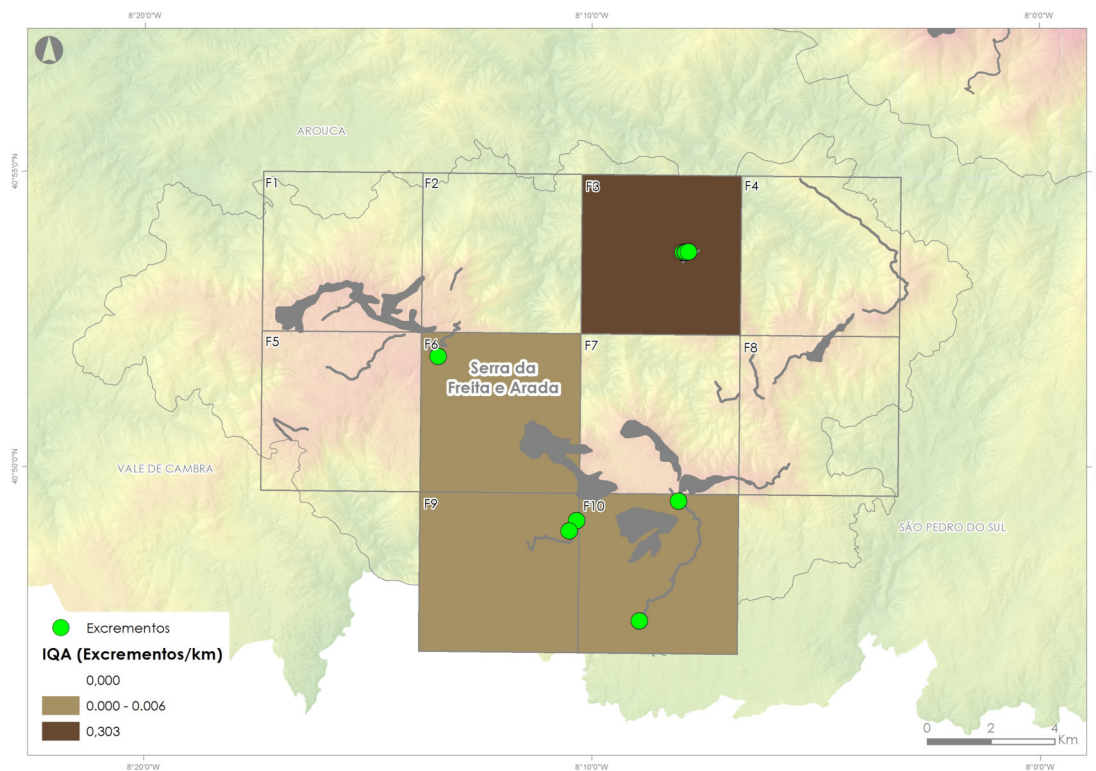


Figura 19. Índices Quilométricos de Abundância (I.Q.A.) médios obtidos para cada quadrícula das serras da Freita e Arada, de outubro de 2014 a setembro de 2015.

Este ano, contabilizando apenas os excrementos encontrados em percursos de prospeção mensal, verificou-se que a serra da Arada continua a ser a zona com maior intensidade de uso por parte do lobo ibérico

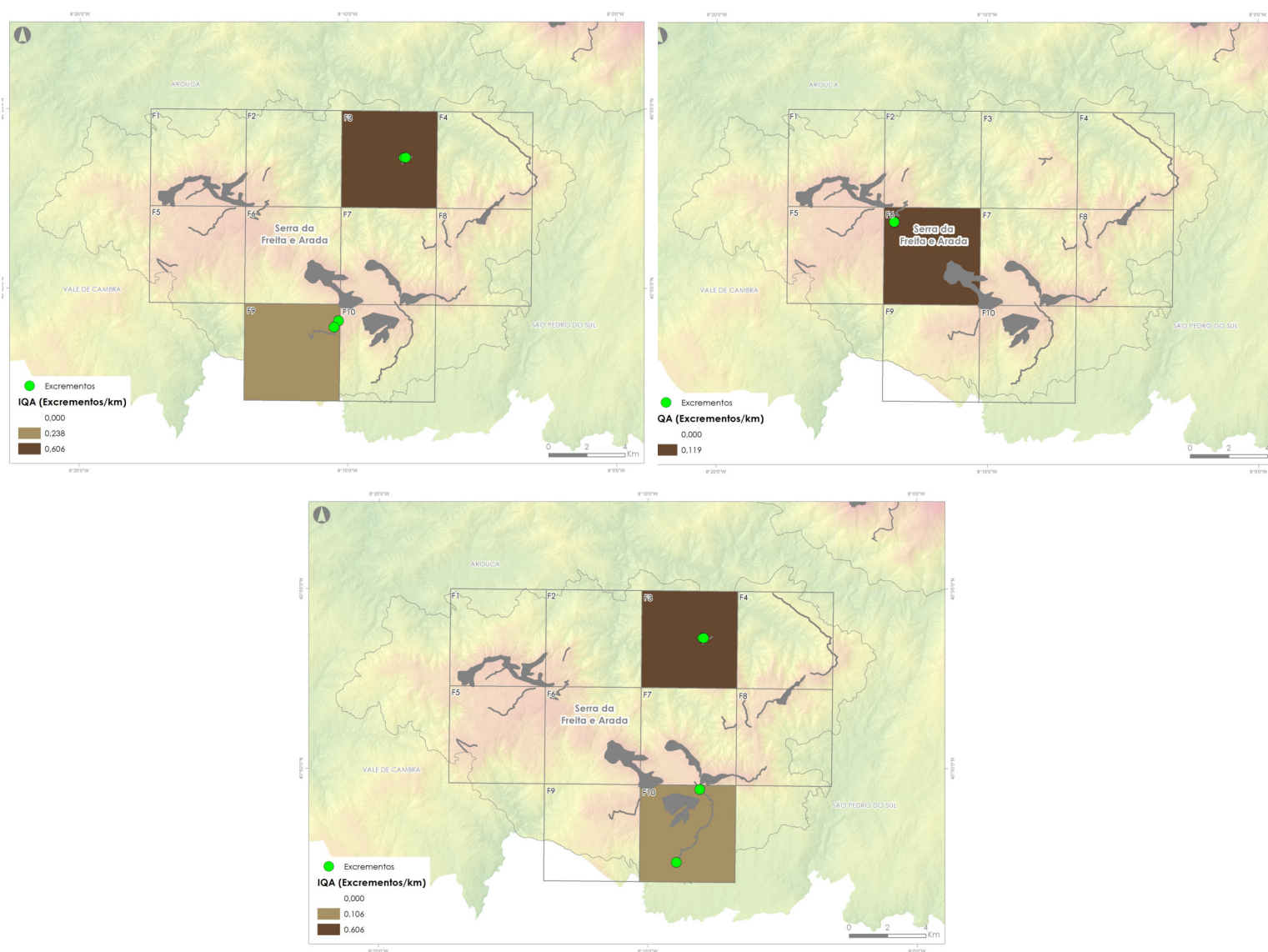


Figura 20. Média sazonal dos Índices Quilométricos de Abundância obtidos em cada quadrícula nas serras da Freita e Arada (outubro 2014 a setembro 2015) (esquerda superior: outono; direita superior: inverno; inferior: verão; não foram encontrados excrementos na primavera).

A figura 20 demonstra que a zona da serra da Freita apenas apresentou excrementos no inverno, enquanto que a serra da Arada apresentou excrementos no outono e no verão. Não foram encontrados excrementos durante a primavera na área afeta a esta alcateia. No ano I (Torres et al. (2013) e no ano II (Torres et al. 2015a), verificou-se que a área de distribuição do lobo-ibérico expandia do outono para o inverno, estação do ano que apresentava um maior número de excrementos e na qual a sua área de distribuição era maior. Contudo, no presente ano de

monitorização e no ano anterior (ano III – Torres et al. 2015b), não se verificou que a intensidade de uso da área de distribuição do lobo-ibérico tenha variado sazonalmente.

4.2.1.3. Tamanho de grupo e ocorrência de reprodução

Em nenhuma das estações de espera efetuadas foi observado lobo. Contudo, numa estação de escuta, localizada na quadrícula F10, obteve-se resposta de um indivíduo adulto. Esta estação de escuta foi direcionada para o centro de atividade de Cabria-Corvo e, tal como nos anos anteriores, revela-se uma importante área de abrigo e repouso para o lobo, assim como um potencial local para a ocorrência de reprodução desta alcateia.

Além dos resultados positivos da estação de escuta, foram efetuados inquéritos informais às populações locais para se obter informação relativa ao efetivo da alcateia da Arada. Um vigilante do PE São Macário, bastante credível, informou a equipa de monitorização de ter avistado 1 lobo juvenil em fins de setembro, início de outubro (2014), na serra da Freita (zona entre as Pedras Boroas e Albergaria da Serra). Esta informação, em conjunto com as evidências de reprodução nos anos anteriores, permite-nos referir que a reprodução da alcateia da Arada é considerada provável no presente ano de monitorização.

Adicionalmente, para confirmar reprodução, foram também colocadas 6 câmaras de armadilhagem fotográfica em locais estratégicos, tendo por base o resultado das estações de escuta e também a concentração de excrementos. Contudo, em nenhuma das câmaras foi detetada a presença de lobo, ainda que uma das fotografias deixa a dúvida, mas não é identificável.

4.2.1.4. Zonas e centros de atividade

Os centros de atividade e as zonas de maior atividade foram definidos através da aplicação do estimador de probabilidade *Kernel* aos excrementos do lobo-ibérico. Na figura 21 apresentam-se os resultados obtidos relativamente à distribuição espacial por parte do lobo-ibérico, observando-se que o lobo-ibérico usa, de forma mais intensa, a zona correspondente à quadrícula F3. É de referir também a utilização regular das quadrículas F5, F6 e F10 e a área entre as quadrículas F3 e F4 (zona limítrofe da zona de utilização intensa). Estes resultados mostram o que já vem vindo a observar-se nos últimos anos de monitorização: uma utilização mais intensa na zona afeta à serra da Arada e adicionalmente uma utilização regular na zona afeta à serra da Freita.

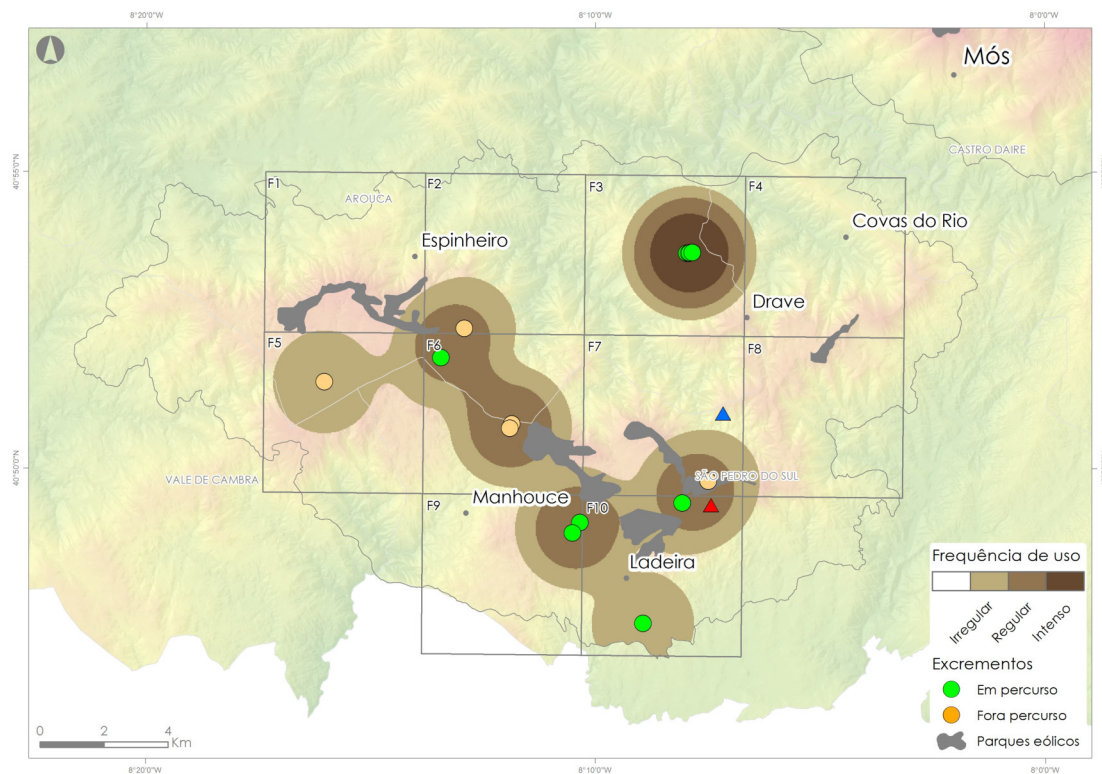


Figura 21. Zonas de maior atividade e centros de atividade de lobo-ibérico (identificados na figura por um triângulo) nas serras da Arada e Freita (centro de atividade "Rio Paivô-Gourim" - representado a azul e centro de atividade "Cabria-Corvo"- representado a vermelho).

Com base nas zonas de maior utilização nos vários anos, nos resultados das estações de escuta, nas condições de *habitat* necessárias para reprodução, refúgio e na informação dos anos anteriores, foram identificados, na alcateia da Arada, dois centros de atividade, sendo eles "Rio Paivô-Gourim" e "Cabria-Corvo":

- ✓ Rio Paivô-Gourim (representado a azul): este local tem constituído um importante centro de atividade em anos anteriores apesar de, nos últimos 12 anos, só se ter confirmado reprodução em 1996 (ICN 1997). É atravessado pelo rio Paivô, que possui uma mancha de bosque ripícola bem conservada. Em termos de coberto vegetal, é composto por uma mancha de eucaliptal e mato denso. Devido à topografia acidentada, este local é de difícil acesso, não possuindo estradas ou povoações, sendo a perturbação humana bastante reduzida. Através das estações de escuta efetuadas junto a esta área, foi possível ouvir resposta de apenas 1 indivíduo adulto. É uma zona pouco acessível, possuindo as condições necessárias para a ocorrência de reprodução desta alcateia;
- ✓ Cabria-Corvo (representado a vermelho): este local foi considerado um centro de atividade secundário em PML anteriores, com uma maior utilização no outono e inverno. No ano I (PMLSD-O), através da estação de

escuta, foi possível confirmar reprodução neste centro, com resposta de crias. Adicionalmente, apresenta condições de habitat propícias à reprodução: em termos de coberto vegetal, é composto por uma mancha de pinhal e mato denso, é atravessado por algumas pequenas linhas de água e é uma zona relativamente pouco acessível. Todos estes fatores promovem que este local seja uma importante área de abrigo e repouso para o lobo, assim como um potencial local para a ocorrência de reprodução desta alcateia.

4.2.1.5. Utilização das áreas relativamente aos Parques Eólicos

No que respeita às zonas utilizadas pelo lobo-ibérico, verifica-se que não ocorreu sobreposição de áreas de uso intenso (quadrícula F3) por parte do lobo-ibérico e a área de Parques Eólicos. Ocorreu, no entanto, sobreposição entre algumas áreas de uso regular e algumas áreas dos PEs, nomeadamente com o sobreequipamento Arada/Manhouce Fase I, com o PE de Candal/Colheira e com o PE Freita I e II. No entanto, importa referir que o sobreequipamento Arada/Montemuro-Fase I, se localiza na zona limítrofe do centro de atividade de Cabria da alcateia da Arada (assumidos como círculos com raio 500m) (figura 22), que foi um centro de reprodução no ano I (Torres et al. 2013).

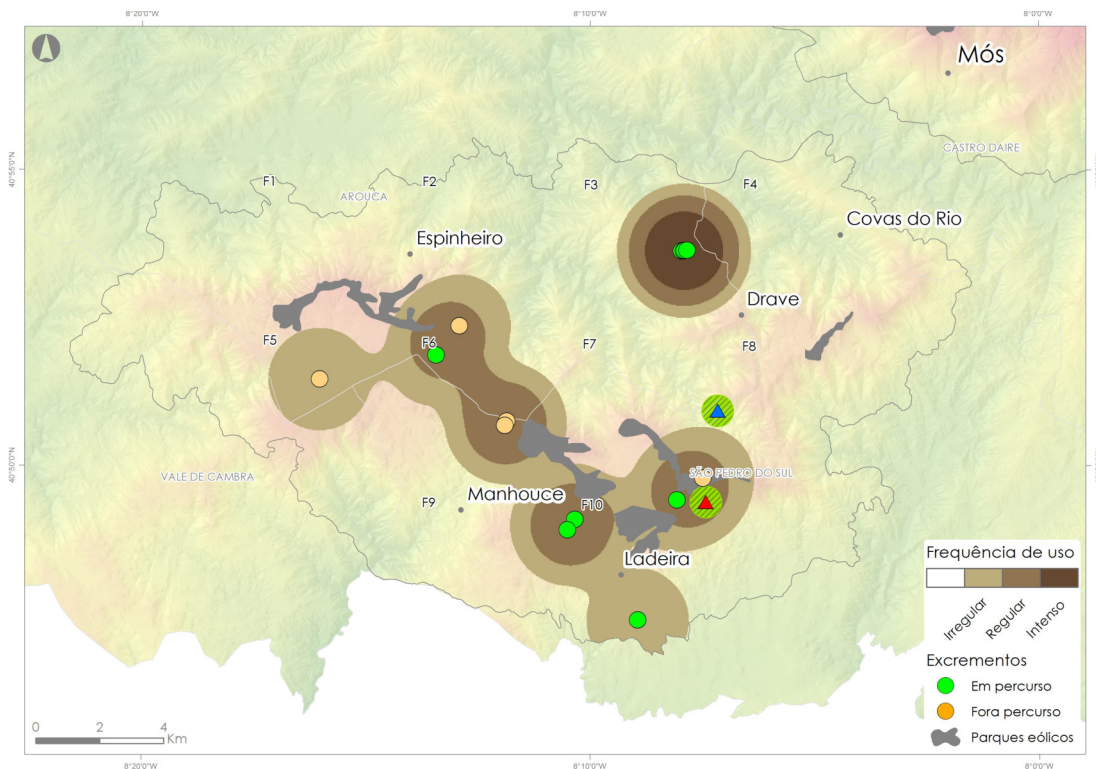


Figura 22. Centros de atividade com um *buffer* de 500 m (centro de atividade "Rio Paivô-Gourim" - representado a azul e centro de atividade "Cabria-Corvo"- representado a vermelho).

4.2.1.6. Mortalidade e ameaças à conservação

Durante o período de monitorização (ano IV), não foi comunicado nem identificado nenhum lobo morto. No ano anterior (setembro de 2014 - PMLSD-O ano III) foi recolhido uma cria de lobo morta (híbrido lobo - cão) na serra da Arada. Contudo, até à presente data, este animal não foi necropsiado, de forma que não é possível saber a causa de morte desta cria.

Não obstante, das ameaças à conservação, destacam-se:

- queimadas feitas pelos pastores com bastante frequência: praticamente durante todo o ano foram observadas queimadas de pequenas dimensões;
- destruição de *habitat* devido a incêndio de médias-grandes dimensões (*): em outubro de 2014, deflagrou um incêndio na União de Freguesias de Cabreiros e Albergaria da Serra, com uma área ardida de 128 ha de matos; em março de 2015 deflagrou outro incêndio em Vale de Cambra/Roge, onde ardeu uma área total de 172 ha, dos quais 100 ha eram povoamentos florestais e 72 ha eram matos. Em abril de 2015, em Arouca/Mansores, ardeu uma área de 305 ha, exclusivamente de povoamentos florestais e em agosto de 2015 ardeu uma área de 170 ha, dos quais 1 ha era povoamento florestal e 169 ha matos. Nenhum dos incêndios ocorreu perto dos centros de atividade "Rio Paivô-Gourim" e "Cabria-Corvo".

(*) apenas são referidos os incêndios com uma área ardida superior a 100 ha.

De referir algumas perturbações pontuais, nomeadamente:

- março: abate de pinheiros junto ao percurso mensal de Covas do Monte;
- abril: o percurso mensal junto à serra de São Macário foi arranjado e neste momento qualquer carro ligeiro consegue transitar, o que aumentou o fluxo de viaturas a esta zona;
- julho: grande afluência de carros (e pessoas) à serra de São Macário devido à tradicional festa popular de São Macário;
- julho: grande afluência de carros (e pessoas - escuteiros) à aldeia de Drave;
- durante todo o ano, foram registados carros nas estradas dos PEs.

De acordo com a metodologia usada no Plano de Monitorização, não é possível aferir, adicionalmente, nenhuma relação entre outros fatores exógenos, para além dos mencionados.

4.2.2. Serra de Montemuro

A Serra de Montemuro compreende o território de duas alcateias: a Alcateia de Montemuro (à qual se atribui as quadrículas M2-M4, M8-M10, M14-M16 e M18-M20) e a Alcateia de Cinfães (à qual se atribui as quadrículas M1, M5-M7, M11-M13 e M17).

4.2.2.1. Distribuição

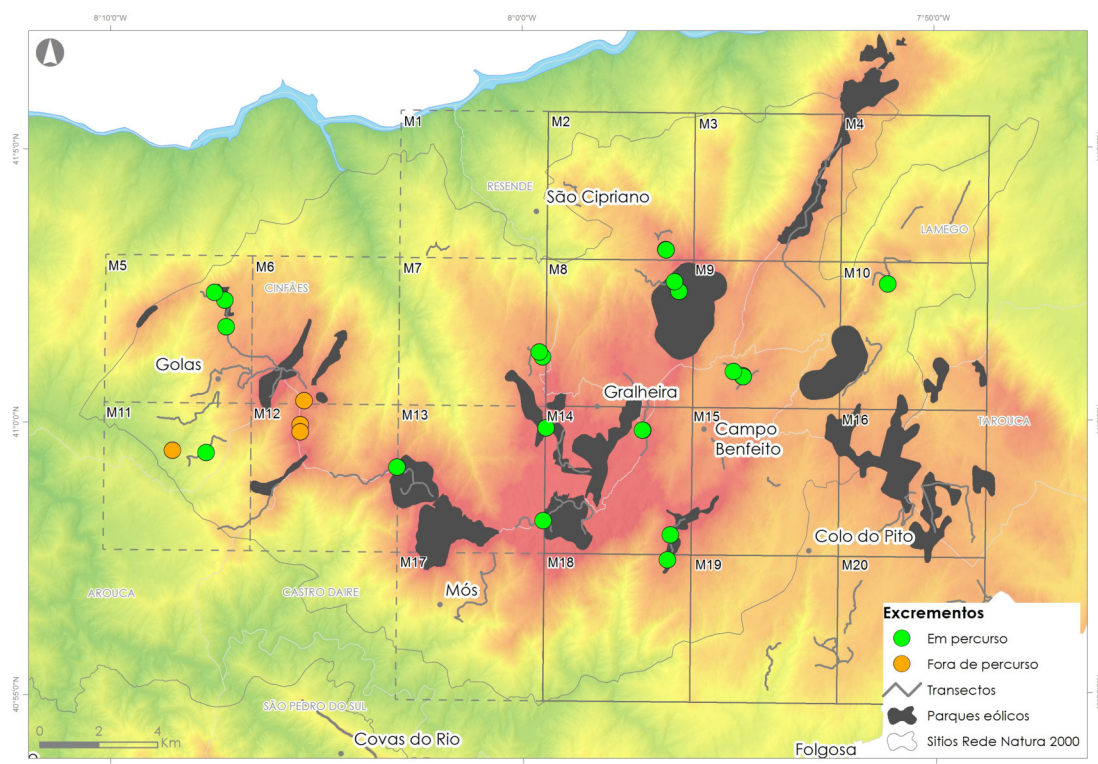


Figura 23. Distribuição espacial dos excrementos encontrados na serra de Montemuro (quadrículas a picotado: alcateia de Cinfães; quadrículas a cheio: alcateia de Montemuro).

Na serra de Montemuro foram detetados um total de 26 excrementos. Para além dos percursos mensais, foram efetuados vários percursos extra. Globalmente, das 20 quadrículas UTM 5x5 km prospetadas mensalmente na serra de Montemuro, os resultados obtidos permitem confirmar a presença de lobo-ibérico em 12 quadrículas (60%) (figura 23).

A análise da figura 23 revela que a distribuição do lobo na área de trabalho não é homogénea.

Relativamente à zona afeta à alcateia de Montemuro (alcateia que utiliza a zona este da serra de Montemuro), foram detetados 13 excrementos. A análise da figura 23 mostra que o lobo-ibérico possui uma presença regular na generalidade da zona este da serra de Montemuro, nomeadamente numa faixa oeste-centro, ainda que com mais intensidade e regularidade em algumas zonas (quadrículas M2, M8, M9 e M14). Relativamente aos anos anteriores, verificou-se uma situação de recuperação uma vez que houve um aumento no número de quadrículas utilizadas e de excrementos encontrados (PMLSD – O ano II n=6; PMLSD – O ano III n=1). Das 12 quadrículas correspondentes a esta alcateia, foram encontrados excrementos em 6 quadrículas (50%) (Tabela 13). Assim, parece que a tendência da diminuição da utilização da área de distribuição da alcateia de Montemuro, que se encontrava bem patente no PMLSD-O Ano II e PMLSD-O Ano III, foi invertida, uma vez que houve um aumento visível do uso desta zona da serra por parte desta alcateia.

Tabela 13. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico recolhidos na serra de Montemuro (alcateia de Montemuro) durante o período de monitorização, dentro dos percursos que foram prospetados mensalmente e em percursos extra.

Quadrículas UTM	Nº excrementos	%
M2	2	15
M8	2	15
M9	4	31
M10	1	8
M14	3	23
M18	1	8
Total	13	

Em relação ao ano anterior, verifica-se:

- aumento na ocupação das quadrículas, no PMLSD – O ano III apenas a quadrícula M15 foi usada;
- utilização das quadrículas M2, M8, M9, M10, M14 e M18;
- o número de excrementos encontrados (PMLSD – ano IV n=13) é bastante superior ao encontrado no ano anterior (PMLSD – ano III n=1).

No que concerne à alcateia de Cinfães, a análise da figura 23 revela que o lobo-ibérico possui uma presença regular na generalidade da zona oeste da serra de Montemuro, nomeadamente numa faixa oeste-centro, ainda que com mais intensidade e regularidade em algumas zonas (quadrículas M5, M7, M11, M12 e

M14). Foram detetados no total 13 excrementos, sendo que 9 foram encontrados em percursos de prospeção mensal e mais 4 excrementos em percursos extra. Ainda assim, não foram detetados indícios de presença na parte nordeste e sudeste (quadrículas M1 e M17) da área de distribuição desta alcateia, como vem sendo comum nos anos anteriores. Nas quadrículas M5, M7, M11, M12 e M13 foram identificados 92% dos excrementos desta alcateia (Tabela 14).

Tabela 14. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos na serra de Montemuro (alcateia de Cinfães) durante o período de monitorização, nos percursos que foram prospectados mensalmente e em percursos extra.

Quadrículas UTM	Nº excrementos	%
M5	3	23
M6	1	8
M7	2	15
M11	2	15
M12	3	23
M13	2	15
Total	13	

Em relação ao ano anterior, verifica-se:

- há continuação da ocupação das quadrículas M5, M6, M11, M12 e M13;
- a quadrícula M7 foi usada, onde foram encontrados 2 excrementos;
- o número de excrementos encontrados (PMLSD – ano IV n=13) é inferior ao encontrado no ano anterior (PMLSD – ano III n=23).

No que diz respeito à ocorrência de ataques ao gado atribuídos ao lobo-ibérico, com base nas estatísticas disponibilizadas pelo ICNF, foi registado um total de 45 ataques, desde outubro 2014 a setembro 2015, na serra de Montemuro (figura 24). As freguesias mais afetadas foram as de Nespereira (n=20) e Parada de Ester (n=3) (Tabela 15). Comparativamente ao ano anterior (PMLSD - O ano III n=78), verifica-se uma redução no número total de ataques, contudo a freguesia mais afetada (Nespereira) foi a mesma que no ano anterior. Estes valores são comparáveis ao número de ataques ao gado atribuíveis ao lobo-ibérico no PMLSD-O ano I (n=57) mas em comparação com o PMLSD-O ano II (n=74) e PMLSD-O ano III (n=78), registou-se um decréscimo no número de ataques ao gado atribuíveis ao lobo-ibérico.

Tal como nos anos anteriores, quando se compara a ocorrência de ataques de lobo-ibérico ao gado com o mapa da área de distribuição do lobo-ibérico,

verifica-se uma grande sobreposição entre o uso regular do espaço por parte do lobo-ibérico e os ataques aos animais domésticos (figura 24). Assim, o maior número de ataques de lobo-ibérico ocorrem em locais onde a distribuição desta espécie é mais estável. Este facto é bem perceptível na freguesia de Nespereira, onde a distribuição de excrementos é maior.

Face aos resultados obtidos, admite-se que a alcateia de Cinfães seja responsável por um maior número de ataques ao gado doméstico comparativamente à alcateia de Montemuro.

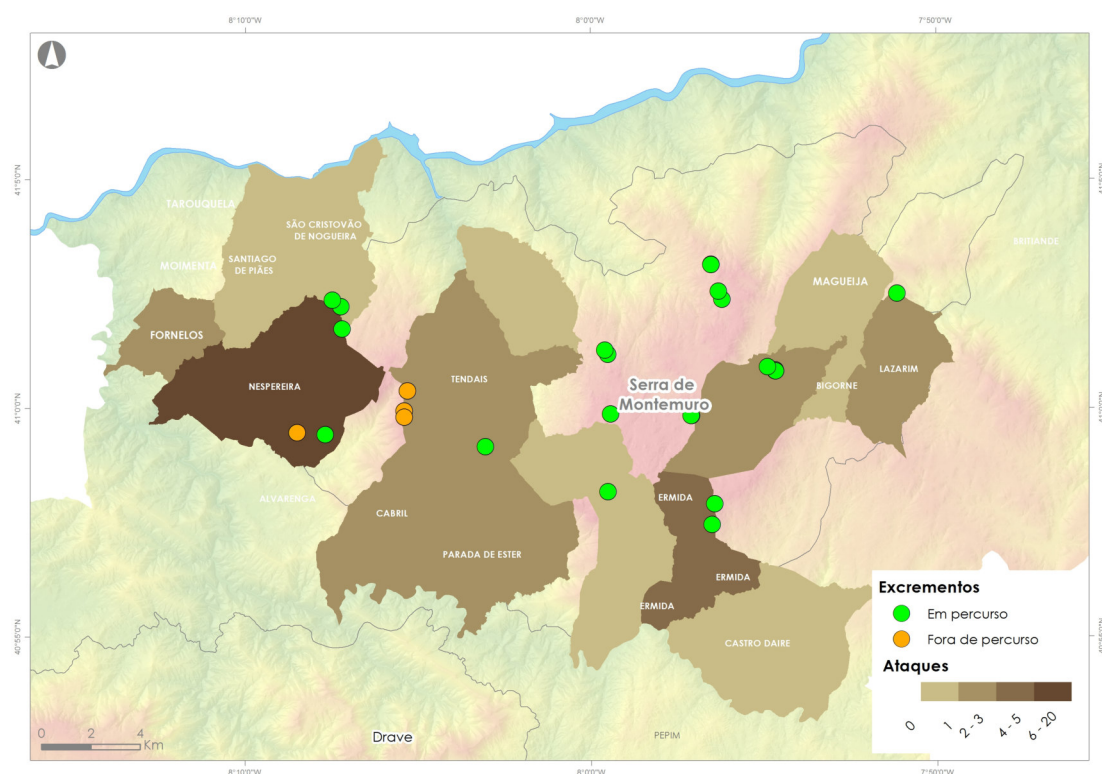


Figura 24. Distribuição e intensidade, por freguesia, dos ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, na serra de Montemuro.

Tabela 15. Número de ataques ao gado atribuídos ao lobo-ibérico, distribuídos por freguesias, na serra de Montemuro.

Freguesias	Nº ataques
Nespereira	20
Parada de Ester	3
UF Picão e Ermida	5
Cabril	2
Fornelos	2
Gosende	2

Lazarim	2
Tendais	2
Pinheiro	1
Alhões	1
Castro Daire	1
Ferreiros de Tendais	1
São Cristovão de Nogueira	1
Santiago de Piães	1
UF Bigorne, Magueja e Pretarouca	1
Total	45

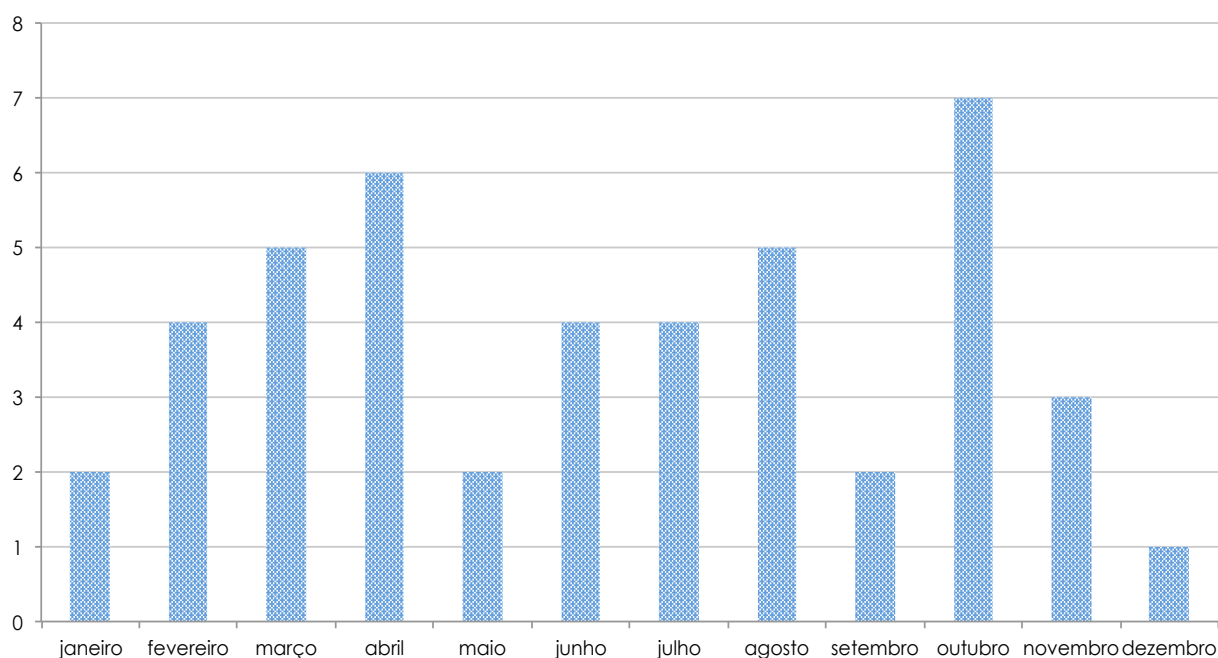


Figura 25. Distribuição temporal de ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, na serra de Montemuro.

A figura 25 mostra a distribuição temporal dos ataques de lobo a presas domésticas. Não existem diferenças significativas ($\chi^2 = 9,67$, $p=0,56$) relativamente ao número de ataques de lobo ao gado, ao longo dos diferentes meses do ano. Os ataques em abril, junho, julho, agosto e outubro poderão estar relacionados com a altura dos nascimentos das crias e de dependência da progenitora.

4.2.2.2. Utilização sazonal do espaço

Os valores de I.Q.A. médios obtidos por quadrícula, ao longo do período de monitorização, são apresentados na figura 26. Salienta-se que, para o cálculo dos valores de I.Q.A. de ambas as alcateias, apenas foram considerados os excrementos encontrados nos transeptos de prospeção mensal e não foram usados os excrementos encontrados nos transeptos extra.

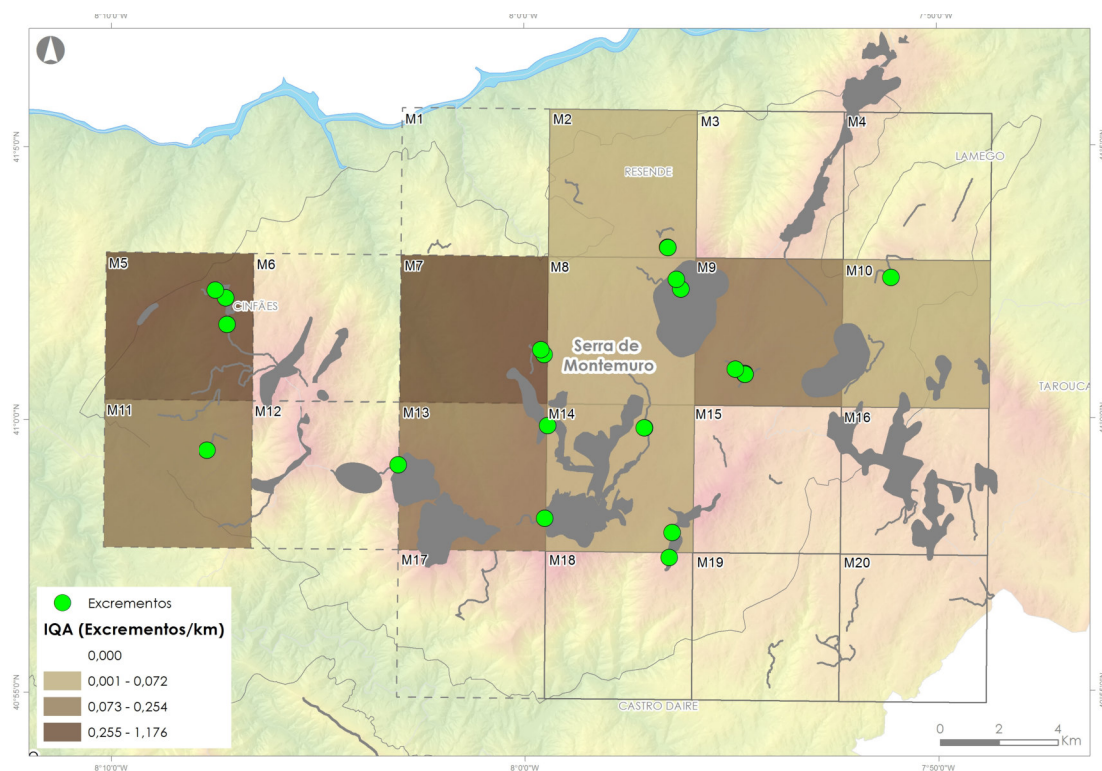


Figura 26. Índices Quilométricos de Abundância (I.Q.A.) médios obtidos para cada quadrícula da serra de Montemuro, de outubro de 2014 a setembro de 2015.

Relativamente à zona afeta à alcateia de Montemuro, verifica-se que, de forma geral, a área de trabalho não apresentou uma intensidade de ocupação homogénea por parte do lobo-ibérico. Na figura 26, verifica-se uma variação dos valores de I.Q.A. entre as quadrículas com uma presença mais intensa na região centro-oeste, onde se obteve quadrículas com valores de I.Q.A. correspondentes a uso intenso, sendo que a quadrícula mais usada foi a quadrícula M9 (I.Q.A. = 0,08), seguida das M2, M8, M14 (com valores de I.Q.A. de 0,07, 0,04 e 0,02 respetivamente). No ano anterior (PMLSD-O ano III), apenas havia sido encontrado 1 excremento na quadrícula M15.

Relativamente à zona afeta à alcateia de Cinfães (Figura 26), verifica-se que a intensidade de utilização do espaço pela alcateia de Cinfães é heterogénea, com variação dos valores de I.Q.A. entre as quadrículas. A sua presença é mais intensa na região centro-este, onde se obteve quadrículas com valores de I.Q.A.

correspondentes a uso intenso, sendo que a quadrícula com valor de I.Q.A. mais elevado foi a M7 (I.Q.A. = 1,18), seguindo-se da M5 (I.Q.A. = 0,33), M13 (I.Q.A. = 0,25) e M11 (I.Q.A. = 0,18). No ano anterior (PMLSD-O ano III), as quadrículas M5 e M12 (com valores de I.Q.A. de 0,082 e 0,050 respetivamente) haviam sido as mais utilizadas. No ano III, a quadrícula M7 como não apresentava excrementos, possuía um I.Q.A. de zero, e no presente ano de monitorização, é a quadrícula com o I.Q.A. mais elevado. A zona noroeste, correspondente à quadrícula M1, continua a não ser utilizada pelo lobo.

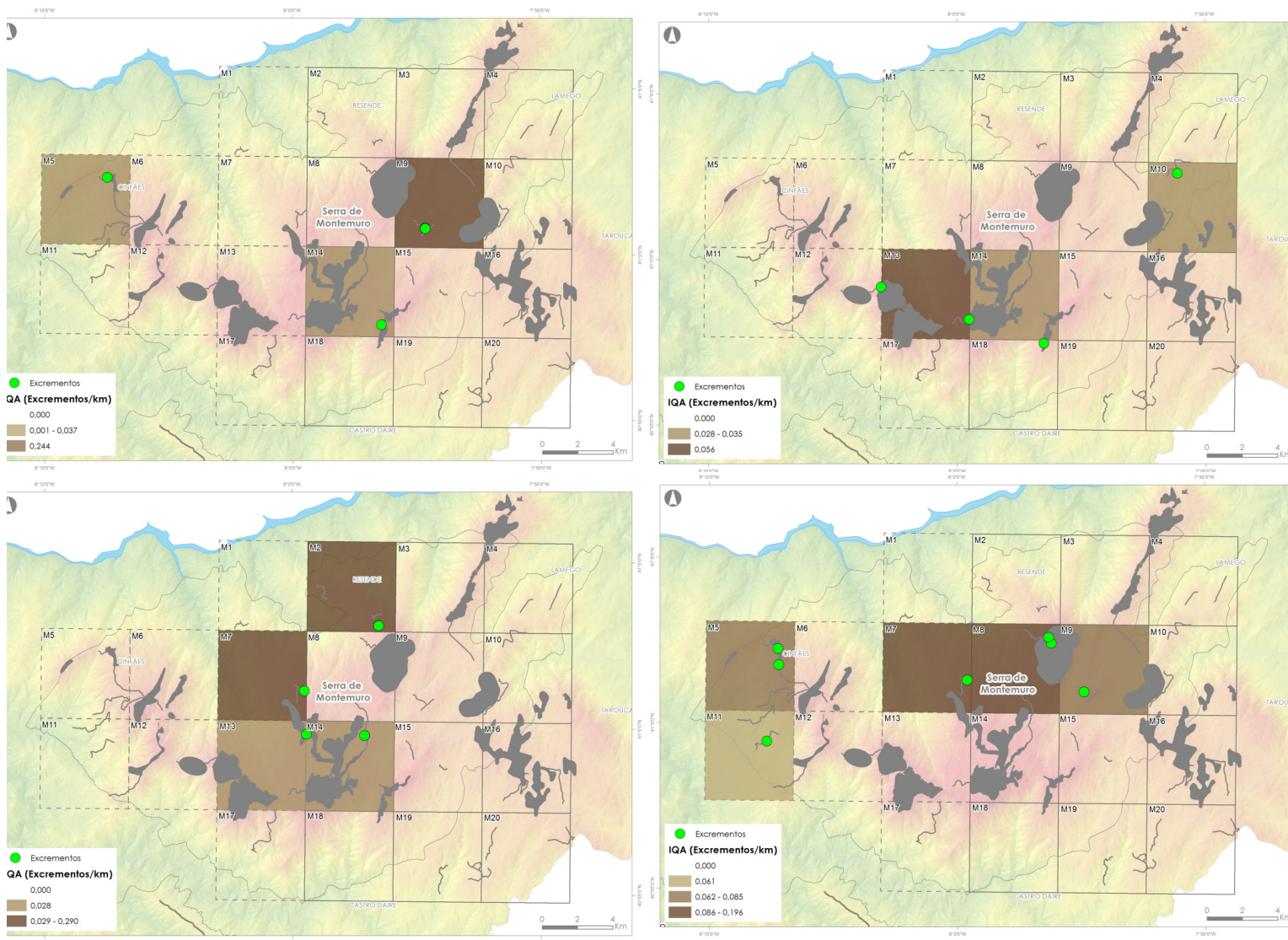


Figura 27. Média sazonal dos Índices Quilométricos de Abundância obtidos em cada quadrícula na serra de Montemuro (alcateia de Cinfaes: quadrículas a pontilhado, alcateia de Montemuro: quadrículas a cheio) (outubro 2014 a setembro 2015) (esquerda superior: outono; direita superior: inverno; esquerda inferior: primavera; direita inferior: verão).

A figura 27 revela que a alcateia de Cinfães alterou sazonalmente o uso da área, sendo que no outono e no inverno apenas usou 1 quadrícula, enquanto que na primavera usou 2 quadrículas e no verão usou 3 quadrículas. Contrariamente aos anos anteriores, onde o inverno foi a estação que apresentou uma maior intensidade de ocupação e de área ocupada pelas alcateias de Cinfães, no presente ano, foi o verão a estação com maior área ocupada.

Relativamente à alcateia de Montemuro, o seu uso do espaço também se alterou ao longo dos meses do ano, sendo que no outono, primavera e verão foram usadas 2 quadrículas enquanto que no inverno apenas foi usada 1 quadrícula.

4.2.2.3. Tamanho de grupo e ocorrência de reprodução

Nas estações de escuta e de espera efetuadas na serra de Montemuro, quer na área afeta à alcateia de Cinfães, quer na área da alcateia de Montemuro, não foi obtida qualquer resposta nas estações de escuta, nem foi avistado qualquer lobo. Em março de 2015, foram avistados pela equipa de monitorização, 2 lobos no percurso de prospeção mensal afeto ao PE de Fonte da Quelha e PE de Cinfães. Os dois indivíduos foram observados durante a tarde (15h) a atravessar a estrada dos referidos Parques Eólicos. Além das estações de escuta e espera, foram efetuados inquéritos informais às populações locais para se obter informação relativa ao efetivo de cada uma das alcateias em estudo. Algumas pessoas referem que agora vêem menos lobos do que costumavam ver. No que diz respeito à ocorrência de reprodução no ano de 2015 (PMLSD-O ano IV) não foi possível obter resultados em nenhuma das alcateias.

4.2.2.4. Zonas e centros de atividade

Os centros de atividade e as zonas de maior atividade foram definidos tendo em conta as condições de habitat necessárias para reprodução, e principalmente tendo em conta os relatórios anteriores. O método *Kernel*, conforme já referido anteriormente, permite identificar quais as áreas mais utilizadas no território de cada alcateia.

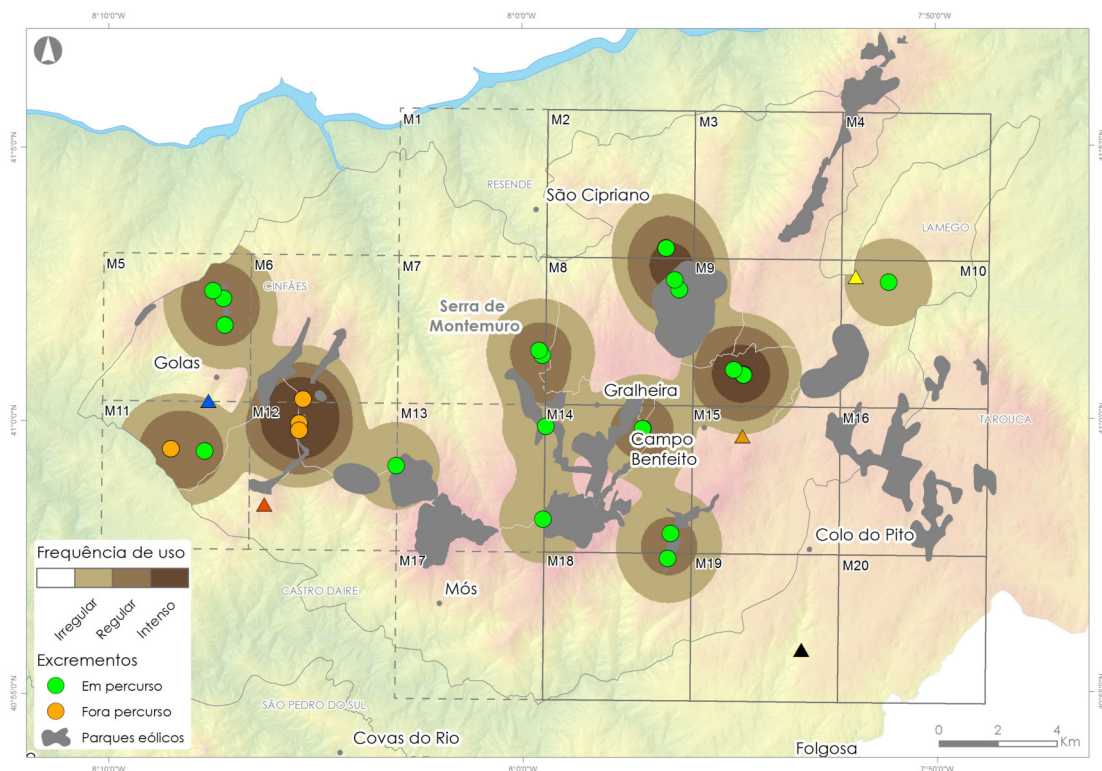


Figura 28. Zonas de maior atividade e centros de atividade (identificados na figura por um triângulo) de lobo-ibérico na serra de Montemuro (alcateia de Cinfães: centro de atividade "Golas" - representado a azul e centro de atividade "Alto do Coto" - representado a vermelho e alcateia de Montemuro: centro de atividade "Balsemão" - representado a amarelo, centro de atividade "Penedo do Nuno" - representado a castanho e centro de atividade "Rio Paivô-Alagoa das Casas" - representado a preto).

A alcateia de Cinfães apresenta áreas de utilização intensa que abrangem a zona fronteira entre a quadrícula M6 e M12 (figura 28). As áreas de uso regular abrangem as quadrículas M5, M6, M11, e M12. Apesar de terem sido identificadas áreas de utilização intensa, não foram identificadas como centro de atividade uma vez que não apresentam as condições de habitat necessárias (ex: áreas de refúgio com linhas de água permanente).

Assim, com base nos resultados que identificam as zonas de maior utilização, e tendo em conta as condições de *habitat* necessárias para reprodução, refúgio e essencialmente a informação relativa à monitorização efetuada nos anos anteriores, foram definidos, na zona afeta à alcateia de Cinfães, dois centros de atividade, sendo eles "Golas" e "Alto do Coto". Estes centros de atividade são os mesmos definidos desde PLMLD – O ano I (definido em anos anteriores p.e. Roque et al. 2009), cuja descrição se apresenta de seguida.

- ✓ Golas (representado a azul) está localizado na parte oeste da serra de Montemuro. Em termos de coberto vegetal, é composto por eucaliptal,

mato denso e densas galerias ripícolas. É atravessado e ladeado por várias linhas de água, sendo a mais representativa o Ribeiro de Lourosa, que possui uma densa mancha de bosque ripícola. A perturbação humana é reduzida (ausência de estradas e povoações). Todos estes fatores promovem que este local seja um importante local de abrigo e repouso, assim como um potencial local para a ocorrência de reprodução desta alcateia;

- ✓ Alto do Coto (representado a vermelho) está localizado também na parte oeste da serra de Montemuro, mas um pouco mais a sul relativamente ao centro de atividade de Golas (a cerca de 3 km), entre as aldeias de Bustelo, Aveloso, Grijó e Moimenta. Em termos de coberto vegetal, é composto por algumas manchas de eucaliptal. Contudo, como a perturbação humana é mais intensa que em Golas (presença de aldeias perto e algumas estradas) e não há um coberto vegetal denso, este centro de atividade é considerado secundário e provavelmente será mais utilizado pelo lobo como local de repouso e não de reprodução.

Relativamente à alcateia de Montemuro, verificou-se um aumento no número de excrementos encontrados (PMLSD-O ano IV n= 13), especialmente quando comparado com os dois anos anteriores (PMLSD-O ano III n= 1; PMLSD-O ano II n= 6). Assim, parece verificar-se, novamente, um aumento no uso do espaço por esta alcateia. Contudo, torna-se vital a continuação da monitorização desta alcateia para se conseguir perceber melhor qual a sua dinâmica. Os centros de atividade desta alcateia foram definidos tendo em conta a informação recolhida nos anos anteriores, assim como as condições de *habitat* necessárias para reprodução e refúgio. Os centros de atividade da alcateia de Montemuro foram os mesmos definidos desde PLMLD – O ano I: centro de atividade de “Balsemão”, do “Penedo do Nuno” e centro de atividade de “rio Paivô-Alagoa das Casas” (definido em anos anteriores p.e. Roque et al. 2009), cuja descrição se apresenta de seguida.

Assim, os centros de atividade da alcateia de Montemuro são:

- ✓ Balsemão (representado a amarelo) está localizado na parte nordeste da serra de Montemuro, entre as aldeias de Magueija, Vila Nova e Sardinho e no vale do rio Balsemão. Em termos de coberto vegetal, é composto por manchas de carvalhal e pinhal, mato denso (principalmente giestas), alguns lameiros e densas galerias ripícolas. É atravessado e ladeado por várias linhas de água, sendo a mais representativa o rio de Balsemão, que possui uma densa mancha de bosque ripícola. A densidade de estradas é reduzida. As condições referidas tornam este centro de atividade um importante local de abrigo, repouso e propício à reprodução, ainda que este centro esteja

localizado perto de um troço da A24. Este centro de atividade foi definido, pela primeira vez, o ano passado devido às elevadas concentrações de excrementos de lobo encontradas em todas as estações, exceto no verão;

- ✓ Penedo do Nuno (representado a castanho) está localizado na parte este da serra de Montemuro, entre as aldeias de Rossão, Moura Morta e Mezio. Em termos de coberto vegetal, é composto por manchas de carvalhal, mato denso (giestas de porte arbóreo) e alguns lameiros abandonados. A densidade de estradas é bastante reduzida, sendo baixa a perturbação humana. Há bastantes linhas de água próximas, fazendo deste centro de atividade um importante local de abrigo, repouso e propício à reprodução. Este local já havia sido local de reprodução em 1996 e voltou a sê-lo em 2008;
- ✓ Rio Paivô-Alagoa das Casas (representado a preto) está localizado entre as aldeias de Monteiras e S. Joaninho, no sul-sudeste da serra de Montemuro. Foi considerado um importante centro de atividade desta alcateia, tendo-se confirmado reprodução em 2005 (Roque et al. 2009). Apesar da sua proximidade à auto-estrada A24 e à zona industrial de Monteiras (ambos a 2 km do centro), é uma zona com reduzidos acessos que permitem circulação de automóveis e com baixa perturbação humana. Em termos de coberto vegetal, é composto por extensas manchas de pinhal, que inclui o vale do rio Paivô e possui densas galerias ripícolas. Há bastantes linhas de água próximas, fazendo deste centro de atividade um importante local de abrigo, repouso e propício à reprodução.

4.2.2.5. Utilização das áreas relativamente aos Parques Eólicos

No que respeita às zonas utilizadas de forma intensa pelo lobo-ibérico relativamente à alcateia de Cinfães, verifica-se que ocorreu sobreposição da sua área de distribuição intensa e a área do PE Casais. Relativamente às áreas de uso regular, ocorreu sobreposição entre estas e a área de 4 PEs (PE Tendais, subPE Cinfães, PE Fonte da Quelha e subPE Aveloso) (figura 29). Relativamente à alcateia de Montemuro, e no que respeita às zonas utilizadas de forma intensa pelo lobo-ibérico, verifica-se que ocorreu sobreposição da sua área de distribuição e a área do PE Lagoa D. João e Feirão. Em relação às áreas de uso regular, ocorreu sobreposição entre estas e a área de 2 PEs: subPE Picão e subPE Bustelo.

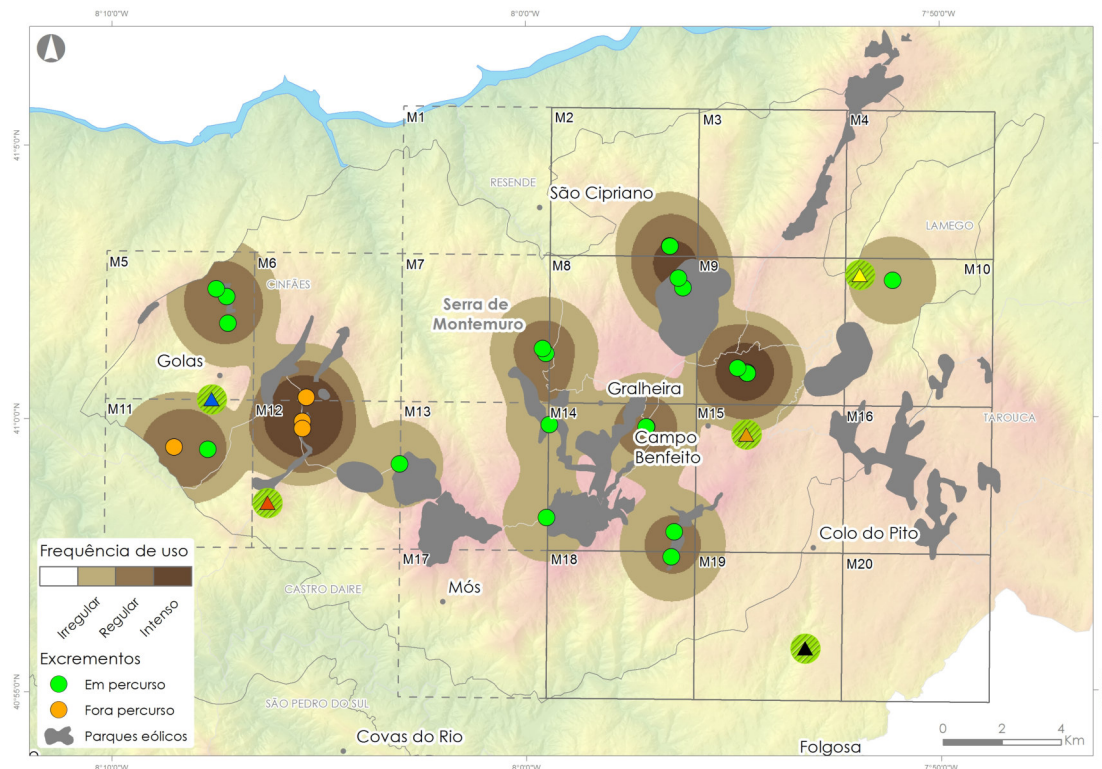


Figura 29. Centros de atividade de lobo-ibérico com um *buffer* de 500 m (alcateia de Cinfães: centro de atividade “Golas” - representado a azul e centro de atividade “Alto do Coto”- representado a vermelho e alcateia de Montemuro: centro de atividade “Balsemão” - representado a amarelo, centro de atividade “Penedo do Nuno”- representado a castanho e centro de atividade “Rio Paivô-Alagoa das Casas”- representado a preto).

4.2.2.6. Mortalidade e ameaças à conservação

Durante o período de monitorização, não foram comunicadas/identificadas situações relativas a lobos mortos na serra de Montemuro.

Das ameaças à conservação, destacam-se:

- queimadas feitas com bastante frequência pelos pastores: praticamente durante todo o ano foram observadas queimadas de pequenas dimensões um pouco por toda a serra;
- durante a monitorização não foram registados incêndios de médias-grandes dimensões (>100 ha) na área afecta à alcateia de Montemuro. Relativamente há área afeta à alcateia de Cinfães, foram registados 3 incêndios de médias-grandes dimensões(*). Em abril de 2015 deflagrou um incêndio na União das Freguesias de Parada de Ester e Ester, com uma área ardida de 115 ha, dos quais 5 ha eram povoamentos florestais e 110 ha eram matos; no mesmo mês deflagrou outro incêndio em São Cristovão de Nogueira, com uma área ardida de 124 ha, dos quais 19 ha eram

povoamentos florestais e 105 ha eram matos, e em agosto deflagrou outro incêndio em Ferreiros de Tendais, onde arderam 170 ha de matos.

(*) nota: só foram considerados fogos com uma área ardida superior a 100 ha.

De referir algumas perturbações, nomeadamente:

- março: obras numa das máquinas dos PEs afetos à área entre Paus e Mangueija;
- junho: o caminho correspondente ao percurso de propeção mensal entre Melcões e São Martinho do Souto foi arranjado;
- junho: o caminho correspondente ao percurso de propeção mensal de Custilhão foi arranjado;
- junho: o caminho correspondente ao percurso de propeção mensal de Nespereira foi arranjado;
- durante todo o ano, foram registados carros nas estradas dos PEs.

De acordo com a metodologia usada no Plano de Monitorização, não é possível aferir, adicionalmente, nenhuma relação entre outros fatores exógenos, para além dos mencionados.

SECÇÃO V

SÍNTESE INTEGRATIVA DO PMLSD-O: 2011-2015

Este capítulo tem como objetivo fazer uma análise integrativa de todos os resultados obtidos nos vários parâmetros estudados nas várias componentes do presente PMLSD-O (secção III – metodologia) durante os 4 anos da sua duração, ou seja, desde outubro 2011 a setembro 2015. Adicionalmente, e sempre que possível, é também feita a comparação com os resultados do PML anterior (Roque et al. 2011).

5.1. Distribuição e grupos familiares

De acordo com os critérios de avaliação dos dados recolhidos para identificação de grupos familiares, estabelecidos no Censo Nacional de Lobo (Pimenta et al. 2005) e utilizados nos anteriores PML, foi possível confirmar, em todos os anos de monitorização, a existência de duas alcateias na área de estudo do PMLSD-O: a alcateia da Arada e a alcateia de Cinfães. Relativamente à alcateia de Montemuro, no ano I e ano II foi considerada uma alcateia confirmada, enquanto que no ano III foi considerada uma alcateia provável (de acordo com os critérios estabelecidos pelo ICNF). Contudo, no ano IV, houve uma recuperação do estatuto desta alcateia para confirmada. Este facto deve-se sobretudo ao regular número de excrementos encontrados (n=13), dos quais 5 foram comprovados geneticamente serem de lobo, e ao constante número de ataques do lobo ao gado. Estes grupos familiares já tinham sido identificados em trabalhos anteriores (e.g., ICN 1997, Grilo et al. 2002, Pimenta et al. 2005, Roque et al. 2005, Roque et al. 2011). No período total do PMLSD-O (2011-2015), foram encontrados um total de 271 excrementos atribuíveis ao lobo, sendo a alcateia de Cinfães aquela onde foram encontrados mais excrementos (n=113, 42%), seguida da alcateia da Arada (n=106, 39%) e em último, a alcateia de Montemuro (n=52, 19%) (figura 30, Tabela 16). Na totalidade dos quatro anos de monitorização, foram encontrados excrementos em 27 (90%) das 30 quadrículas da área de trabalho. Relativamente ao uso da área, a alcateia da Arada e a alcateia de Cinfães revelaram-se como alcateias estáveis, enquanto a alcateia de Montemuro revelou uma presença e uso da área bastante irregular.

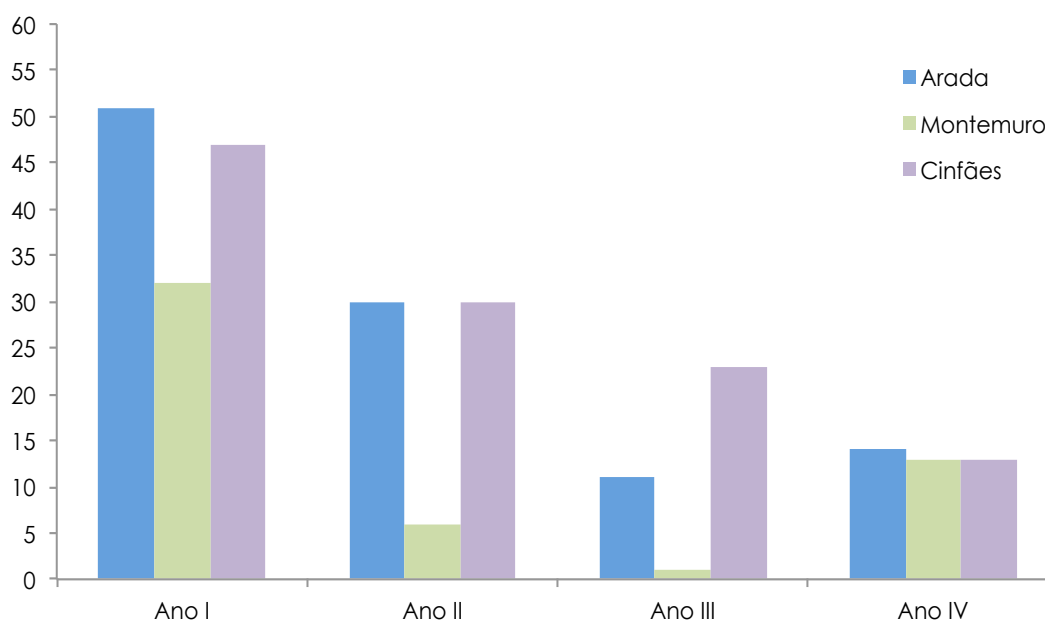


Figura 30. Número total de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos nas Serras da Freita e Arada e na Serra de Montemuro no PMLSD-O (2011-2015).

Tabela 16. Número de excrementos identificados no campo como excrementos de lobo-ibérico, recolhidos nas Serras da Freita e Arada e na Serra de Montemuro, nos percursos mensais e percursos extra.

	Arada	Montemuro	Cinfães	total
Ano I	51	32	47	130
Ano II	30	6	30	66
Ano III	11	1	23	35
Ano IV	14	13	13	40
%	39	19	42	271

O PMLSD-O (2011-2015), e relativamente à alcateia da Arada, mostra que a zona este do seu território (serra da Arada) é a área que apresenta maior intensidade e continuidade temporal na ocupação por parte desta alcateia mas é de salientar o aumento notório da presença de lobo também na zona oeste (serra da Freita) ao longo dos 4 anos de monitorização. Este facto poderá estar relacionado com incursões esporádicas de indivíduos a esta área da serra para se alimentar, uma vez que Albergaria da Serra foi a segunda freguesia (ano I, ano II e ano IV) a reportar mais ataques do lobo ao gado.

Relativamente à alcateia de Cinfães, os excrementos encontrados ao longo do PMLSD-O permitem confirmar a presença de lobo em quase toda a zona este da serra da Montemuro (presença em 7 das 8 quadrículas). Contudo, a presença mais regular do lobo é mantida na faixa centro-oeste da área afeta a esta alcateia.

A alcateia de Montemuro, durante os 4 anos de monitorização, relevou uma elevada irregularidade na utilização da área do seu território (zona oeste da serra de Montemuro). Apesar de no início do PMLSD-O (ano I) terem sido encontrados vários excrementos, durante o ano II e o ano III houve uma diminuição visível do uso desta zona da serra por parte desta alcateia. Para se tentar perceber o que teria acontecido com esta alcateia (e.g., se teria havido uma re-estruturação da alcateia) foi efetuado um grande esforço de amostragem adicional, tendo sido feitos vários percursos extra, mas infrutíferos. Contudo, no ano IV parece ter havido uma recuperação no uso desta área por esta alcateia, uma vez que houve um aumento no número de quadrículas utilizadas e de excrementos encontrados. Assim, parece que a tendência da diminuição da utilização da área de distribuição da alcateia de Montemuro, que se encontrava bem patente no PMLSD-O Ano II e PMLSD-O Ano III, foi invertida, uma vez que houve um aumento visível do uso desta zona da serra por parte desta alcateia. Esta situação reforça a importância da continuação da monitorização desta alcateia para se tentar perceber melhor a sua dinâmica populacional. Salienta-se que foi no ano I onde foram encontrados mais excrementos em todas as alcateias (figura 30). Isto deverá estar relacionado com o facto de ter havido um período de suspensão nos trabalhos de monitorização aquando do fim do PML anterior e o início do PMLSD-O.

Tabela 17. Número de ataques ao gado doméstico atribuíveis ao lobo-ibérico, ao longo do PMLSD-O, para as três alcateias monitorizadas.

	Serra da Arada e Freita (alcateia da Arada)	Serra de Montemuro (alcateia de Cinfães e alcateia Montemuro)	Total
Ano I	47	57	104
Ano II	101	74	175
Ano III	99	78	177
Ano IV	50	45	95
Total	297	254	

De uma forma geral, durante todo o PMLDS-O, os ataques de lobo-ibérico ao gado apresentam concordância com o mapa da área de distribuição do lobo. Assim, o maior número de ataques de lobo-ibérico geralmente ocorreu em locais onde a distribuição desta espécie é mais regular e estável.

Na tabela 17, verifica-se um aumento notório no número de ataques ao gado atribuíveis ao lobo-ibérico nos anos II e III. Este aumento foi generalizado nas três alcateias. Porém, é de realçar que no ano IV houve uma redução no número de ataques nas três alcateias. Tal redução não parece estar relacionado com a presença de lobo. Como não houve conhecimento de uma diminuição acentuada no efetivo de gado na área de trabalho que seja justificativa desta diminuição, esta alteração poderá estar relacionada com a implementação de medidas de proteção do gado, nomeadamente a utilização de cães de gado. Esta medida foi fomentada por uma fiscalização mais rigorosa no âmbito dos ataques de lobo, incentivos agrícolas e distribuição de cães de gado no âmbito do Fundo do Lobo em parceria com o Grupo Lobo. No ano IV, foram distribuídos 18 cães de gado, 10 na área afeta à alcateia da Arada, 7 na área afeta à alcateia de Cinfães e 1 na área da alcateia de Montemuro. Assim, medidas efetivas de proteção do gado, tal como a distribuição dos cães de gado, parecem estar a ser eficientes na redução dos ataques ao gado por parte do lobo ibérico, e como tal devem ser continuadas.

5.2. Efetivo populacional, ocorrência de reprodução e utilização do espaço

De uma forma global, houve concordância entre os resultados obtidos através da monitorização tradicional (estações de escura, estações de espera, avistamentos, inquéritos às populações locais) e a análise genética, pelo menos na perceção da estabilidade das alcateias (tabela 18). A alcateia da Arada foi a alcateia mais estável, pois em todos os anos de monitorização foi possível obter resposta das crias, com exceção do ano IV onde não se obteve resposta de crias mas foi avistado um indivíduo juvenil.

Tabela 18. Efetivo populacional de cada alcateia, estimado através de monitorização tradicional e de análise genética para o período total do PMLSD-O (2011-2015).

	EFETIVO MÍNIMO POPULACIONAL							
	Monitorização tradicional				Análise genética			
	Ano I	Ano II	Ano III	Ano IV	Ano I	Ano II	Ano III	Ano IV
Arada	4	4	4	2	4	2	2	5
Montemuro	1	-	-	-	3	-	1	1
Cinfães	1	-	-	2	3	1	1	1
Total	6	4	4	4	10	3	4	7

Das três alcateias monitorizadas, parece haver uma correspondência entre o tamanho de grupo e evidências de reprodução. A alcateia da Arada apresentou um maior efetivo populacional e foi a única alcateia com evidências de reprodução nos três primeiros anos de monitorização, enquanto que no ano IV a reprodução foi considerada provável. Tanto a alcateia de Montemuro, como a alcateia de Cinfães, revelaram efetivos populacionais reduzidos e em nenhum dos anos de monitorização foi detetada reprodução (Tabela 19).

Tabela 19. Ocorrência de reprodução nas alcateias ao longo do PMLSD-O (2011-2015).

CRITÉRIO		ARADA	MONTEMURO	CINFÃES
Ano I (2011-2012)	Deteção da presença de crias através de uivos	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA
Ano II (2012-2013)	Deteção da presença de crias através de uivos	CONFIRMADA	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA
Ano III (2013-2014)	*recolhida cria morta	CONFIRMADA*	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA
Ano IV (2014-2015)	*avistamento de juvenil	PROVÁVEL*	NÃO DETETADA	NÃO DETETADA

A alcateia da Arada foi aquela que demonstrou o maior sucesso reprodutor (75%), revelando uma produtividade constante. Assim, esta alcateia revela uma estabilidade populacional, tendo a análise genética demonstrado também que

esta é a alcateia com maior número de efetivos. Na alcateia de Montemuro e na alcateia de Cinfães, não foram detetadas evidências diretas (observações, uivos, recolha de crias) em todo PMLSD-O que pudessem confirmar a reprodução dessas alcateias, revelando que o sucesso reprodutor destas alcateias é muito baixo, demonstrando uma reduzida produtividade.

Relativamente à alcateia de Montemuro, e durante o PMLSD-O, houve uma acentuada flutuação no número de excrementos encontrados na área afeta a esta alcateia, o que fundamenta a necessidade de continuação de monitorização para se perceber estas variações de dinâmica populacional. O baixo sucesso reprodutor, e a flutuação no uso de espaço por parte desta alcateia, revelam uma elevada instabilidade e fragilidade populacional.

No que respeita à alcateia de Cinfães, em nenhum dos anos de monitorização foi detetada reprodução, o que revela que o sucesso reprodutor desta alcateia é muito baixo. No entanto, foram observados 2 indivíduos pela equipa de monitorização no ano IV. Em todos os anos de monitorização, o número de excrementos encontrados na área afeta a esta alcateia é elevado, tal como o número de ataques ao gado atribuíveis ao lobo. Assim, e apesar do baixo sucesso reprodutor detetado, considera-se que esta alcateia está numa posição intermédia entre uma situação estável (p.e. alcateia da Arada) e elevada fragilidade populacional (p.e. alcateia de Montemuro).

De uma forma geral, os resultados da monitorização populacional estão de acordo com a análise genética, evidenciando a situação fragilizada e preocupante em que se encontram as três alcateias monitorizadas. Das três alcateias monitorizadas, a alcateia da Arada é a mais estável do ponto de vista reprodutor, conseqüentemente apresenta um maior efetivo populacional ($n= 9$); a alcateia de Montemuro é a alcateia que apresentou mais flutuações no uso do espaço, com uma taxa nula de reprodução, apresentando também o menor número de efetivo populacional ($n= 5$), e a alcateia de Cinfães encontra-se numa posição intermédia, em termos de efetivo populacional, o número de excrementos encontrados é sempre elevado e o número de efetivo populacional é intermédio ($n= 6$) entre a alcateia da Arada e a alcateia de Montemuro.

5.3. Centros de atividade

Desde o início do PMLSD-O, foram identificados 7 centros de atividade para as três alcateias monitorizadas: 2 na alcateia da Arada, 3 na alcateia de Montemuro e 2 na alcateia de Cinfães. À exceção do centro de atividade de Balsemão (alcateia de Montemuro), todos os restantes centros de atividade já haviam sido descritos anteriormente (Roque et al. 2011). Os centros de atividade foram definidos tendo em conta o historial das alcateias (informação relativa à monitorização efetuada nos anos anteriores), assim como as condições de *habitat* necessárias para reprodução e refúgio e ao número de excrementos encontrados.

Os centros de atividade identificados no PMLSD-O são caracterizados por serem zonas com baixa perturbação humana (e.g., reduzida densidade de estradas e de povoações), logo zonas com elevada tranquilidade, com um coberto vegetal desenvolvido e com linhas de água próximas. Contudo, convém mencionar que, por serem também locais localizados em zonas de baixa perturbação, que coincidem com zonas de serra, são também lugares mais susceptíveis a serem afetados pela implementação de PEs. Exemplo disso foi a construção do sobreequipamento do PE de Arada/Montemuro- Fase I (serra da Arada), localizado na zona limítrofe do centro de atividade Cabria-Corvo, que foi utilizado como centro de reprodução no ano I (Torres et al. 2013). A implementação deste sobreequipamento levou, aquando da sua construção, ao maior fluxo de pessoas e viaturas à zona afeta a este projeto.

Durante o PMLSD-O, foram identificados na área afeta à alcateia da Arada dois centros de atividade:

1. Cabria-Corvo: foi considerado um centro de atividade secundário em PML anteriores (Roque et al. 2011), com uma maior utilização no outono e inverno. Apesar da sua utilização ser irregular, através da estação de escuta foi possível confirmar reprodução neste centro, com resposta de crias, no ano I. Adicionalmente, foi possível também obter resposta de adultos (ano I e ano IV). Estes dados mostram que este centro é uma área importante para o lobo e que é essencial a sua manutenção e a continuação da sua monitorização;
2. Rio Paivô-Gourim: constitui um importante centro de atividade de anos anteriores, tendo sido definido como local de reprodução provável em 2009 (Roque et al. 2011) e apenas em 1996 ter sido confirmada reprodução (ICN 1997). Através das estações de escuta efetuadas junto a esta área, foi possível ouvir resposta de crias, confirmando reprodução neste centro, no

ano II e no ano III. Este local é uma zona pouco acessível, e é uma importante área de abrigo e repouso para o lobo, assim como um potencial local para a ocorrência de reprodução desta alcateia, de forma que é essencial a sua manutenção e a continuação da sua monitorização.

Na alcateia de Cinfães, foram identificados dois centros de atividade, mas ambos com padrões muito irregulares de utilização uma vez que nunca houve resposta nas estações de escuta efetuadas, como nunca houve avistamentos nas estações de espera:

1. Golas: devido ao coberto vegetal e reduzida perturbação humana (ausência de estradas e povoações), este local é considerado um importante local de abrigo e repouso, assim como um potencial local para a ocorrência de reprodução desta alcateia;
2. Alto do Coto: apesar de possuir um coberto vegetal representativo, existe alguma perturbação humana (presença de aldeias perto e algumas estradas) o que faz com que este centro de atividade seja considerado secundário e provavelmente será mais utilizado pelo lobo como local de repouso e não de reprodução.

Na alcateia de Montemuro foram identificados três centros de atividade mas, tal como na alcateia de Cinfães, todos os centros de atividade revelaram padrões de utilização muito irregulares, uma vez que nunca houve resposta nas estações de escuta efetuadas, como nunca houve avistamentos nas estações de espera:

1. Penedo do Nuno: este local já havia sido local de reprodução em 1996 e voltou a sê-lo em 2008. A baixa perturbação humana, o coberto vegetal e a proximidade a importantes linhas de água, fazem deste centro de atividade um importante local de abrigo, repouso e propício à reprodução;
2. Balsemão: este é um novo centro de atividade que foi identificado no ano I, sugerido pelas elevadas concentrações de excrementos de lobo encontradas em todas as estações, exceto no verão. Foram também encontrados vestígios de animais mortos/ossos, que possivelmente indicam predação do lobo. Apresenta coberto vegetal significativo, tal como reduzida perturbação humana, contudo localiza-se perto de um troço da A24. Localizando-se nas imediações do rio Balsemão, este centro de atividade é um importante local de abrigo, repouso e propício à reprodução;

3. Rio Paivô-Alagoa das Casas: local de reprodução confirmado em 2005 (Roque et al. 2009). Apresenta um coberto vegetal bem desenvolvido e baixa perturbação humana. Há bastantes linhas de água próximas, fazendo deste centro de atividade um importante local de abrigo, repouso e propício à reprodução, tendo sido considerado por Roque et al (2011) uma área prioritária para a sobrevivência desta alcateia.

5.4. Análise genética

Ao longo dos quatro últimos anos foram submetidos a análise 125 excrementos, dos quais foi possível obter DNA de boa qualidade para 94 amostras (Tabela 20), tendo 65 sido identificados como provenientes de lobo através do marcador mitocondrial *d-loop* e/ou do marcador microssatélite DBAR1. Das 94 amostras para as quais foi possível determinar a origem dos excrementos, 69% (65 amostras) eram de lobo, 26% eram de cão e 5% de raposa.

Tabela 20. Número de excrementos, recolhidos entre 2011 e 2015, submetidos a análise genética com o marcador D-loop (DNA mitocondrial), discriminados por alcateia, com referência ao sucesso de amplificação e aos números de amostras por linhagem mitocondrial.

Alcateia	Excrementos analisados	Amplificados com sucesso (% sucesso)	Lobo-ibérico	Cão	Raposa
Arada	51	38 (76%)	31 (82%)	7 (18%)	-
Cinfães	42	32 (76%)	18 (56%)	10 (31%)	4 (13%)
Montemuro	32	24 (75%)	16 (67%)	7 (29%)	1 (4%)
Total	125	94 (76%)	65 (69%)	24 (26%)	5 (5%)

Com base neste valor é possível estimar um sucesso de extração de pelo menos 76%, para o conjunto dos quatro anos (Tabela 21). Apesar de bastante satisfatória, esta taxa de sucesso poderia ser mais elevada caso tivessem sido excluídos *a priori* excrementos mais antigos ou em pior estado de conservação. Contudo, optou-se por maximizar a quantidade de informação passível de ser obtida, em detrimento das taxas de sucesso. Por essa razão não descartámos, à partida, um conjunto de excrementos com menor probabilidade de sucesso. A taxa de sucesso de extração foi muito semelhante para as três alcateias e pressupõe, no âmbito deste estudo, que foi possível obter informação pelo menos a partir do DNA

mitocondrial.

Tabela 21. Taxas de sucesso (totais e por alcateia) de extração e de determinação de perfis genéticos individuais para o total de 125 amostras analisadas ao longo dos quatro anos de monitorização. A taxa de extração foi estimada tendo por base o número de amostras para as quais foi possível amplificar pelo menos o marcador mitocondrial.

Alcateia	Sucesso de Extração de DNA	Sucesso Determinação Perfil Genético Individual
Arada	38/51 (76%)	18/31 (58%)
Cinfães	32/42 (76%)	8/19 (42%)
Montemuro	24/32 (75%)	5/15 (33%)
Total	94/125 (76%)	31/65 (48%)

Ao contrário da relativa constância nas taxas de extração de DNA obtidas para as diferentes alcateias, a taxa de obtenção de perfis genéticos individuais (PGIs) foi bastante variável. A maior taxa de sucesso foi obtida para a alcateia de Arada (58%) e a menor foi obtida para a alcateia de Montemuro (33%). A variação na taxa de sucesso acompanha a da taxa de deteção de excrementos e apresenta uma tendência inversa à da frequência de identificação de excrementos de cão e raposa. A variação na taxa de obtenção de PGIs (e, portanto, no sucesso de amplificação de DNA nuclear) deverá ser consequência de uma menor abundância de excrementos de lobo e da necessidade de recolha de excrementos, em média, mais antigos e em pior estado de conservação nos territórios das alcateias de Montemuro e Cinfães, comparativamente à de Arada.

5.4.1. Perfis individuais

No conjunto dos quatro anos, para a determinação dos perfis individuais, foram genotipadas as 65 amostras de excremento identificadas como lobo-ibérico e a amostra ARAH (correspondente ao juvenil encontrado morto). A genotipagem foi efetuada utilizando 26 marcadores microssatélites (além do marcador da amelogenina), incluindo os 15 marcadores recomendados pela equipa anterior. A ampliação da genotipagem de amostras recolhidas nos três primeiros anos, para um número maior de marcadores (de 22, no terceiro ano, para 26 no quarto ano) não alterou o número de indivíduos identificados, já que os perfis individuais correspondentes ao mesmo genótipo não diferiram entre si nos restantes

marcadores entretanto genotipados. Foram apenas consideradas amostras genotipadas com sucesso para um mínimo de 20 marcadores dos 26 já analisados (incluindo DBAR1), desde que apenas três dos marcadores em falta fizesse parte do painel de marcadores recomendados, pela equipa anterior, como mais polimórficos para esta população de lobo.

Com base nas amostras recolhidas no ano IV, foi possível detetar a presença de seis indivíduos distribuídos pelas alcateias de Arada, Cinfães e Montemuro (Tabela 22). Na região da alcateia de Arada, para além de duas amostras que deverão ser provenientes do indivíduo Ara1 (a confirmar com uma ronda adicional de análises), foram detetados três novos indivíduos (a fêmea Ara7, o macho Ara9 e o indivíduo de sexo não identificado Ara8). Além destes indivíduos, foi também amostrado no território desta alcateia o indivíduo ARAH correspondente ao juvenil atropelado e constituído o primeiro registo confirmado de hibridação a sul do Douro (ver mais detalhes da análise adiante nesta secção). Foram também amostrados dois novos indivíduos, um na região da alcateia de Cinfães (o macho Cinf6) e outro na região da alcateia de Montemuro (Mont5). Este ano, foi também concluída a genotipagem de uma amostra recolhida no território desta alcateia, em 2014. Esta amostra corresponde também a um indivíduo (Cinf5) que não havia sido amostrado anteriormente.

Tabela 22. Números de excrementos de lobo, recolhido entre 2011 e 2015, submetidos a análise genética de perfis individuais e determinação molecular do sexo, agrupados por ano de amostragem e território da alcateia em que foram encontrados. São apresentados o número de amostras de lobo com perfil individual e quais os perfis de lobo identificados. + - os genótipos Ara4 e Cinf6 correspondem ao mesmo indivíduo. * apenas no ano IV, foi possível identificar o genótipo Cinf5, que correspondia a uma amostra recolhida no ano III

Ano	Alcateia	Amostras analisadas	Amostras Sexadas (Macho/Fêmea)	Amostras com Perfil Individual	Perfis Individuais (Sexo, Número de Ocorrências)
Ano I	Arada	19	8 (7/1)	7	Ara1 (M,2) Ara2 (F,1) Ara3 (M,1) Ara4+ (M,3)
	Cinfães	12	5 (4/1)	5	Cinf1 (M,3) Cinf2+ (M,1) Cinf3 (F,1)
	Montemuro	9	3 (2/1)	3	Mont1 (M,1) Mont2 (F,1) Mont3 (M,1)
Ano II	Arada	4	2 (1/1)	2	Ara1 (M,1) Ara5 (F, 1)
	Cinfães	2	1 (1/0)	1	Cinf4 (M,1)
	Montemuro	3	0	0	-
Ano III	Arada	5	0	3	Ara2 (? , 2) Ara6 (? , 1)
	Cinfães	6	0	1	Cinf5 (? ,1)
	Montemuro	1	1 (1,0)	1	Mont4 (M,1)
Ano IV	Arada	10	3 (2,1)	5	Ara1cf (M,2) Ara7 (? , 1) Ara8 (F, 1) Ara9 (M, 1)
	Cinfães	8	1(1,0)	1	Cinf6 (M,1)
	Montemuro	13	0	1	Mont5 (? ,1)

Com base na totalidade das amostras recolhidas ao longo dos quatro anos, identificámos, até ao momento, 20 genótipos diferentes (Tabela 22). Este número tem já em consideração o genótipo do indivíduo híbrido ARAH e o facto de que os genótipos Ara4 e Cinf2 correspondem ao mesmo indivíduo. Este facto só foi confirmado este ano, através da comparação entre os indivíduos das diferentes alcateias. O indivíduo Ara4-Cinf2 foi amostrado em Fevereiro de 2012 no território da alcateia de Arada e em Agosto do mesmo ano, do outro lado do vale do rio Paiva.

A probabilidade de identidade $P_{(ID-SIBS)}$, correspondente à probabilidade de dois indivíduos (irmãos) tirados ao acaso de uma população partilharem o mesmo genótipo, foi estimada com base em 19 perfis individuais gerados a partir das amostras recolhidas (excepto o híbrido ARAH e o genótipo Cinf2, que é equivalente a Ara4). A probabilidade $P_{(ID-SIBS)}$ estimada de forma conservativa e considerando apenas 20 marcadores foi de $3,6 \times 10^{-6}$, valor este bastante robusto para estudos desta natureza (Waits et al. 2001). Este valor significa que um genótipo idêntico a um qualquer genótipo em específico deverá ocorrer apenas a 1 em cada 277 800 vezes. Contudo, a maior parte dos perfis apresentava dados para pelo menos 22 marcadores, pelo que o valor real será ainda inferior ao estimado. A taxa média de erro de genotipagem por alelo foi estimada em 6,26%. Este valor corresponde aproximadamente à presença de um alelo erroneamente genotipado a cada oito réplicas de genotipagem de um marcador microssatélite, para o mesmo indivíduo.

Tabela 23. Distribuição das amostras de excremento correspondentes a cada um dos genótipos de lobo ibérico amostrados ao longo dos últimos quatro anos, nos territórios das alcateias de Arada, Cinfães e Montemuro. Para cada genótipo, é indicado o sexo (M/F/?) e o número de excrementos detectado por ano. * - o genótipo Cinf2 é idêntico ao genótipo Ara4, pelo que corresponde ao mesmo indivíduo.

	Ano I	Ano II	Ano III	Ano IV
Ara1 (M)	2	1		2
Ara2 (F)	1		2	
Ara3 (M)	1			
Ara4 (M)	3			
Ara5 (F)		1		
Ara6 (?)			1	
Ara7 (?)				1
Ara8 (F)				1
Ara9 (M)				1
AraH (M)				1
Cinf1 (M)	3			
Cinf2* (M)	1*			
Cinf3 (F)	1			
Cinf4 (M)		1		
Cinf5 (?)			1	
Cinf6 (M)				1
Mont1 (M)	1			
Mont2 (F)	1			
Mont3 (M)	1			
Mont4 (M)			1	
Mont5 (?)				1