



PLANO DE MONITORIZAÇÃO DO LOBO

PARQUE EÓLICO DE VILA COVA

ANO 4 (1º DA FASE DE EXPLORAÇÃO) - 2015

Outubro de 2016



ÍNDICE

Índice

Sumário executivo	1
1. Introdução.....	2
1.1. Enquadramento	2
1.2. Objetivos	2
1.3. Âmbito espacial e temporal do plano de monitorização	3
1.4. Equipa técnica	4
2. Antecedentes	8
2.1. Antecedentes relacionados com os processos de AIA e Pós-AIA.....	8
2.2. Antecedentes relacionados com a monitorização do lobo	9
3. Descrição do programa de monitorização.....	10
3.1. Parâmetros avaliados	10
3.2. Locais e frequência de amostragem	11
3.3. Métodos de amostragem e registo dos dados	13
3.4. Análises genéticas.....	15
3.5. Métodos de Tratamento dos dados.....	17
3.6. Relação dos dados com características do projeto ou do ambiente exógeno ao projeto	19
3.7. Critérios de avaliação dos dados.....	20
4. Resultados do programa de monitorização	22
4.1. Dados de base	22
4.2. Esforço de campo.....	23
4.3. Análises genéticas.....	26
4.4. Distribuição	32
4.5. Uso do espaço	38
4.6. Organização social e sucesso reprodutor	41
5. Discussão, interpretação e avaliação de resultados	42
5.1. Comparações plurianuais.....	42
5.2. Avaliação da eficácia das medidas adotadas para prevenir ou reduzir impactes	43
5.3. Comparação com os impactes previstos no EIA.....	44
6. Conclusões e Recomendações.....	45
6.1. Síntese da avaliação dos impactes monitorizados	45
6.2. Proposta ou alteração de medidas de mitigação/compensação	46
6.3. Análise da adequabilidade dos programas de monitorização em curso	46

ÍNDICE

7. Referências bibliográficas	47
-------------------------------------	----

Sumário executivo

O presente relatório reporta-se ao 4º ano do Plano de Monitorização do Lobo no Parque Eólico de Vila Cova, correspondendo ao 1º ano da Fase de Exploração (ano de 2015).

Durante 2015 foram realizadas 12 saídas de campo (36 dias de campo), tendo sido percorridos um total anual de 288km de percursos de amostragem, realizadas 8 estações de escuta e colocadas no terreno 3 câmaras fotográficas com sensores de movimento, duas ativas cerca de 130 dias e uma terceira ativa durante 223 dias.

Na área de estudo e zonas próximas foram recolhidos 29 dejetos potencialmente pertencentes a lobo, dos quais 16 foi possível fazer a extração de ADN para sua validação genética e destes 4 comprovaram-se serem de lobo (*Canis lupus*), três dentro da área de estudo e um na envolvente próxima a norte (já dentro do Parque Natural do Alvão). As análises aos perfis genéticos permitiram confirmar a existência de pelo menos dois animais distintos na área de estudo, tendo sido encontrado o mesmo indivíduo em três zonas distintas da área de estudo, confirmando que tanto a parte Este como a parte Oeste do PE de Vila Cova são utilizadas pelos mesmos animais.

A armadilhagem fotográfica, apesar de ter registado a presença de lobo em várias ocasiões, apenas permitiu observar a presença de um animal adulto isolado. Na zona mais florestada, onde foram colocadas as câmaras fotográficas, foi confirmada a presença regular de corço (*Capreolus capreolus*) e javali (*Sus scrofa*), para além de uma assinalável presença humana.

Em 2015, foram comunicados 68 prejuízos de lobo no interior da área de estudo, distribuídos por 5 das 10 quadrículas UTM 2x2km, apesar da maioria se ter registado na freguesia da Pena (dentro e fora da área de estudo).

Durante ao ano de 2015 não foi possível confirmar nenhum local de reprodução dentro da área de estudo, quer através das estações de escuta realizadas, quer através de armadilhagem fotográfica ou mesmo de informações recebidas.

Os dados até ao momento revelam alterações na dinâmica populacional da alcateia do Vaqueiro, nomeadamente em relação ao número de indivíduos e existência de reprodução na área de estudo, os quais têm oscilado desde o início da situação de referência (3 anos) e que poderão estar mais relacionados com mortalidade de origem humana do que com a presença do parque eólico.

1. Introdução

1.1. ENQUADRAMENTO

O presente documento é referente ao Ano 4 do Plano de Monitorização do lobo-ibérico no âmbito da construção do Parque Eólico de Vila Cova (doravante PE de Vila Cova) nos concelhos de Vila Real e Mondim de Basto, distrito de Vila Real. Este relatório abrange o primeiro ano completo da Fase de Exploração do PE de Vila Cova, correspondendo ao período que mediou entre 1 de janeiro e 31 de dezembro de 2015.

A estrutura e conteúdo do presente relatório de monitorização foi elaborado obedecendo às normas técnicas constantes do Anexo V da Portaria nº395/2015 de 4 de novembro, com as devidas e necessárias adaptações específicas ao plano em questão, cumprindo os requisitos a apresentar nos termos do artigo 26.º do Decreto-Lei n.º 151 -B/2013, de 31 de outubro, alterado pelo Decreto-Lei n.º 47/2014, de 24 de março, e pelo Decreto-Lei n.º 179/2015, de 27 de agosto.

1.2. OBJETIVOS

O presente trabalho visa dar resposta ao disposto na Declaração de Impacte Ambiental (DIA) do PE de Vila Cova sobre o lobo-ibérico (*Canis lupus signatus*), onde consta a necessidade de elaborar um Plano de Monitorização para o Lobo que vise: “... sobretudo a determinação da ocorrência, ou não, e da magnitude dos seguintes efeitos: efeito de exclusão, ou seja a diminuição da frequência de utilização da área de implementação do empreendimento em causa por parte desta espécie; e efeito de barreira, ou seja a criação de um impedimento à dispersão de indivíduos da mesma”.

O plano de monitorização em curso tem como objetivo caracterizar espacial e temporalmente a presença do lobo-ibérico (*Canis lupus signatus*) na área de construção do PE de Vila Cova e zonas envolventes. Especificamente, pretende-se monitorizar a presença da espécie por um período mínimo de 7 anos (fase pré-construção (ano 0), fase de construção e 5 anos de fase de exploração) e determinar a magnitude de possíveis impactes sobre este carnívoro, nomeadamente o efeito de exclusão e alterações nos padrões reprodutivos. Esta avaliação terá por base uma comparação temporal de diversos parâmetros ecológicos da espécie (ver 3.1.), entre a situação de referência (fase anterior à construção) e as fases subsequentes.

1.3. ÂMBITO ESPACIAL E TEMPORAL DO PLANO DE MONITORIZAÇÃO

O PE de Vila Cova, constituído por 15 aerogeradores de 2MW de potência, foi edificado numa zona de cumeada na transição entre as serras do Alvão e do Marão, pertencente ao distrito de Vila Real. Todos os aerogeradores e subestação encontram-se no interior do Sítio Natura 2000 Alvão/Marão (PTCON0003) e a uma distância mínima de 1,5km do limite do Parque Natural do Alvão (Figuras 1 e 2). Face aos amplos territórios que os lobos possuem (em média entre 100 e 300km² na Península Ibérica – Roque *et al.*, 2001), a área de estudo engloba não só a zona de construção do parque eólico, mas também algumas áreas adjacentes, num total de 40km². Em situações pontuais, as prospeções no terreno e metodologias utilizadas podem estender-se um pouco para fora desta área, mediante a obtenção de informações sobre a espécie que possam estar relacionadas com os animais que utilizem a cumeada sul da serra do Alvão (ex: avistamentos, locais de reprodução, concentrações de indícios).

Em termos biogeográficos, as serras do Alvão e do Marão enquadram-se na Província Cantabro-Atlântica da Região Eurosiberiana, caracterizada por um bioclima Supratemperado Hiper-húmido, fortemente influenciado pelo efeito amenizante do Oceano Atlântico (Honrado, 2003). Os bosques típicos destas serras são constituídos por carvalhais orófilos de carvalho-alvarinho (*Quercus robur*) com arando (*Vaccinium myrtillus*) e bosquetes de vidoeiros (*Betula celtiberica*) nas áreas associadas a linhas de água ou zonas húmidas. São também típicos destas paisagens de serra, as pastagens de altitude (cervunais), os urzais higrófilos de urze-dos-brejos (*Erica tetralix*) com genciana (*Gentiana pneumonanthe*), a vegetação de turfeiras atlânticas com arnica (*Arnica montana atlantica*) e orvalhinha (*Drosera rotundifolia*) e os prados e juncais de regadio (os lameiros) (Honrado, 2003).

As manchas de carvalhal autóctone estão muito reduzidas, tendo sido substituídas, por ação humana, por florestas de produção dominadas por espécies exóticas como o pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*). Devido à destruição da floresta climácica primitiva (por ação do sobrepastoreio e dos incêndios), vastas zonas destas serras são predominantemente ocupadas por matos. Nestes destacam-se os urzais-tojais de tojo-molar (*Ulex minor*) e queiró (*Erica umbellata*), os urzais montanos de urze-vermelha (*Erica aragonensis*), os piornais de *Genista polygaliphylla* com giesta-negral (*Cytisus striatus*) e a carqueja (*Chamaespartium tridentatum*) (Honrado, 2003).

INTRODUÇÃO

Atualmente, a área de estudo abrange um grande mosaico de habitats, que vão dos matos de altitude nas regiões da cumeada de implantação dos aerogeradores, passando por zonas de floresta mista de resinosas e de folhosas em encostas da serra, e finalizando nos terrenos agrícolas do vale da Campeã (fotografias 1 a 6).

1.4. EQUIPA TÉCNICA

Seguidamente é apresentada a equipa técnica responsável pelo presente plano de monitorização:

FRANCISCO PETRUCCI-FONSECA
Coordenação científica



Licenciado em Biologia
Doutorado em Ecologia e Sistemática

BARBARA MARTI-DOMKEN
Trabalho de campo



Licenciada em Biologia

GONÇALO FERRÃO DA COSTA
Elaboração do relatório



Licenciado em Biologia Aplicada
aos Recursos Animais – variante
terrestre
Mestre em Sistemas de Informação
Geográfica

CARLA BORGES FRAGOSO
Análises genéticas



Licenciada em Biologia
Mestre em Biotecnologia



INTRODUÇÃO

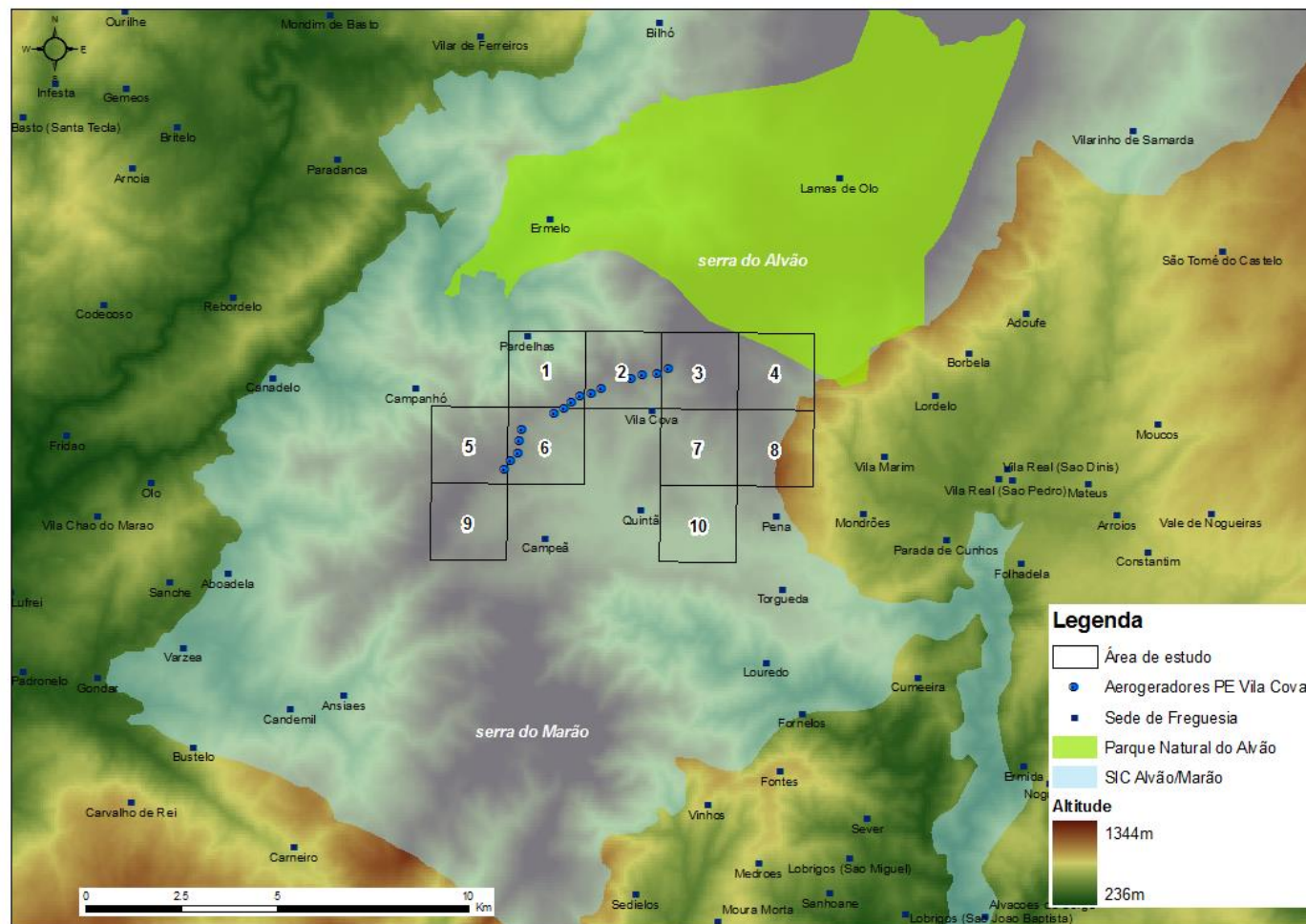


Figura 1. Área do presente plano de monitorização no contexto regional.

INTRODUÇÃO



Fotografias 1 a 6. Imagens da área de estudo do Plano de Monitorização do Lobo no PE de Vila Cova.

2. Antecedentes

2.1. ANTECEDENTES RELACIONADOS COM OS PROCESSOS DE AIA E PÓS-AIA

O PE de Vila Cova, promovido pela empresa Eólica do Velão, S.A. (detida atualmente pela empresa EDPRPT – Parques Eólicos, S.A.) foi sujeito a um procedimento de avaliação de impacto ambiental, do qual decorreu a emissão de uma Declaração de Impacte Ambiental (DIA) a 4 de maio de 2010, tendo sido proferida uma decisão Favorável Condicionada à realização de diferentes estudos, nomeadamente um que permita a monitorização da população lupina na área.

O Plano de Monitorização do Lobo descrito na DIA visa, sobretudo, a determinação da ocorrência, ou não, da espécie, e da magnitude dos seguintes efeitos sobre ela: *“efeito de exclusão, ou seja, a diminuição da frequência de utilização da área de implementação do empreendimento em causa por parte desta espécie; e efeito de barreira, ou seja, a criação de um impedimento à dispersão de indivíduos da mesma”*.

Foram ainda definidas outras condicionantes e medidas de minimização e compensação para o lobo, de modo a que este empreendimento pudesse vir a ter o menor impacte possível na população lupina local. De entre destacam-se:

- A interdição de todos os trabalhos de construção do parque eólico (incluindo acessos) e respetiva linha elétrica, no período compreendido entre março e agosto, inclusive, de cada ano.
- A interdição dos trabalhos de construção durante a noite e período crepuscular, nomeadamente entre uma hora antes do pôr-do-sol e uma hora depois do nascer-do-sol (período circadiano de maior atividade do lobo). A utilização de explosivos e de outras ações ou maquinaria com elevado impacte sonoro, restringida apenas ao período diurno, entre as 10h e as 17h.

Os trabalhos de construção do PE de Vila Cova iniciaram-se em novembro de 2013, tendo-se estendido até dezembro de 2014, com o interregno entre abril e agosto de 2014 devido à época de reprodução das espécies mais sensíveis, nomeadamente o lobo.

Importa referir ainda que dos 17 aerogeradores inicialmente previstos, apenas 15 foram edificados, uma vez que durante inspeções aos caboucos abertos para a execução das fundações dos AG6 e AG7 verificou-se a presença de um maciço rochoso não adequado à construção das

ANTECEDENTES

sapatas dos respetivos aerogeradores. Depois de novas prospeções e face à inexistência de posições alternativas válidas, quer tecnicamente quer ambientalmente, e ainda devido às limitações temporais e meteorológicas associadas à construção, foi decidido abandonar a implantação dos AG6 e AG7 do PE de Vila Cova.

2.2. ANTECEDENTES RELACIONADOS COM A MONITORIZAÇÃO DO LOBO

Em fase de RECAPE (março de 2011), tal como previsto na DIA, foi realizado e entregue um relatório preliminar relativo aos trabalhos do Ano 0, onde foi descrita a metodologia utilizada e analisados os primeiros dados obtidos (Grupo Lobo, 2011). Em janeiro de 2012 foi entregue o relatório completo referente ao Ano 0 (Grupo Lobo, 2012). Em fevereiro de 2013 foi entregue o relatório anual referente à monitorização realizada até ao final de 2012 (Ano 1) (Grupo Lobo, 2013) e incluído no REACPE (março de 2013) e em maio de 2014 foi entregue o relatório referente ao Ano 2 de monitorização (2013) (Grupo Lobo, 2014). Tendo em conta que os trabalhos de construção do PE Vila Cova apenas se iniciaram no final do ano de 2013 e que estiveram parados entre abril e setembro de 2014 (por imposição da DIA), os dados de monitorização do lobo recolhidos entre os Anos 0 e 2 podem ser considerados, e analisados posteriormente, como parte integrante de uma situação de referência alargada, possibilitando uma análise mais robusta a potenciais alterações futuras.

Em março de 2015 foi entregue o relatório referente ao ano 3 da presente monitorização (ano civil de 2014), correspondendo maioritariamente à fase de construção do PE de Vila Cova (novembro de 2013 a dezembro de 2014) (Grupo Lobo, 2015). O presente relatório avalia os trabalhos desenvolvidos entre janeiro e dezembro de 2015, correspondendo ao primeiro ano completo da fase de exploração do PE de Vila Cova.

O relatório atual pretende ainda ir ao encontro dos comentários referidos pela Agência Portuguesa de Ambiente (APA) nos seus ofícios de 04/02/2015 (S009313-201502-DAIA.DPP) e de 01/08/2016 (S043008-201608-DAIA.DPP), corringindo aspetos estruturais e de análise contidos no relatório.

3. Descrição do programa de monitorização

3.1. PARÂMETROS AVALIADOS

Para a realização de estudos de campo sobre o lobo é necessário ter em conta a dificuldade intrínseca que estes envolvem, devido à dificuldade de observação deste carnívoro em liberdade e às baixas densidades em que normalmente ocorre (Mech & Boitani, 2003). Por esta razão, torna-se difícil estimar a totalidade de indivíduos que existem numa determinada região, bem como o seu uso da área, pelo que é necessária a utilização de métodos de deteção indireta que permitam uma aproximação à sua distribuição e aos seus parâmetros ecológicos.

Os métodos de deteção indireta mais utilizados nos estudos ecológicos de lobo em toda a sua área de distribuição e nomeadamente na Península Ibérica envolvem a prospeção de indícios de presença (dejetos, rastos, ataques a animais domésticos e inquéritos) e a sua quantificação (por exemplo em IQA – Índices Quilométricos de Abundância).

Os indícios de presença permitem-nos avaliar a distribuição da espécie ao longo da nossa área de estudo (presença/ausência) e a sua quantificação permite identificar as áreas de maior utilização da espécie e individualizar alcateias (a sua organização social), bem como chegar aos seus centros de atividade (nomeadamente aos seus locais de reprodução) (Mech, 1970; Llaneza *et al.*, 1998; Álvares *et al.*, 2000; Roque *et al.*, 2001; Mech & Boitani, 2003). Nessas áreas de maior concentração de indícios (centros de atividade) poderão ser empregues métodos de deteção direta de lobo, permitindo com maiores taxas de sucesso a observação de indivíduos ou a confirmação de reprodução.

Atualmente existem novas metodologias não-invasivas que podem complementar ou substituir em larga escala a quantificação de indícios de presença da espécie como metodologia para o estudo de diversos parâmetros ecológicos do lobo. Entre as mais promissoras encontram-se as análises genéticas e a armadilhagem fotográfica. Deste modo, o trabalho de campo foi baseado na prospeção de indícios, mas com a validação genética de todos os dejetos recolhidos, uma vez que existem muitos cães de guarda de rebanhos nas redondezas, usando igualmente a armadilhagem fotográfica como metodologia acessória e complementar.

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

O trabalho de campo foi dirigido para avaliar 5 parâmetros importantes da ecologia do lobo na região:

- Distribuição (presença/ausência);
- Uso do espaço;
- Organização social;
- Sucesso reprodutor;
- Potenciais relações de parentesco entre indivíduos (análises genéticas);

A forma como estes parâmetros se possam vir a alterar ao longo do tempo, nomeadamente em comparação com a situação de referência, permitirá retirar conclusões mais fiáveis sobre possíveis impactes decorrentes da construção e implementação deste parque eólico.

3.2. LOCAIS E FREQUÊNCIA DE AMOSTRAGEM

No início do presente estudo (Ano 0) foi criada uma grelha de 9 quadrículas UTM 2x2km cobrindo a área prevista para a construção do PE de Vila Cova. Porém, devido a alterações na disponibilidade e qualidade dos percursos a amostrar, redesenhou-se a área de estudo no presente ano, tendo ela agora 10 quadrículas UTM 2x2km (Figura 3). As amostragens estão a ser realizadas mensalmente, em visitas de 3 dias consecutivos. A grelha de quadrículas UTM 2x2km a monitorizar está dividida em 3 níveis:

- **Nível 1** (impacte potencial elevado): quadrículas que abrangem a área de implantação dos aerogeradores e da subestação;
- **Nível 2** (impacte potencial intermédio): quadrículas sem implantação de aerogeradores, mas contíguas às de Nível 1;
- **Nível 3** (áreas de controlo): quadrículas sem impactos expectáveis do projeto, mas numa área relativamente próxima para que se possa assumir que são utilizadas pelos mesmos animais.

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

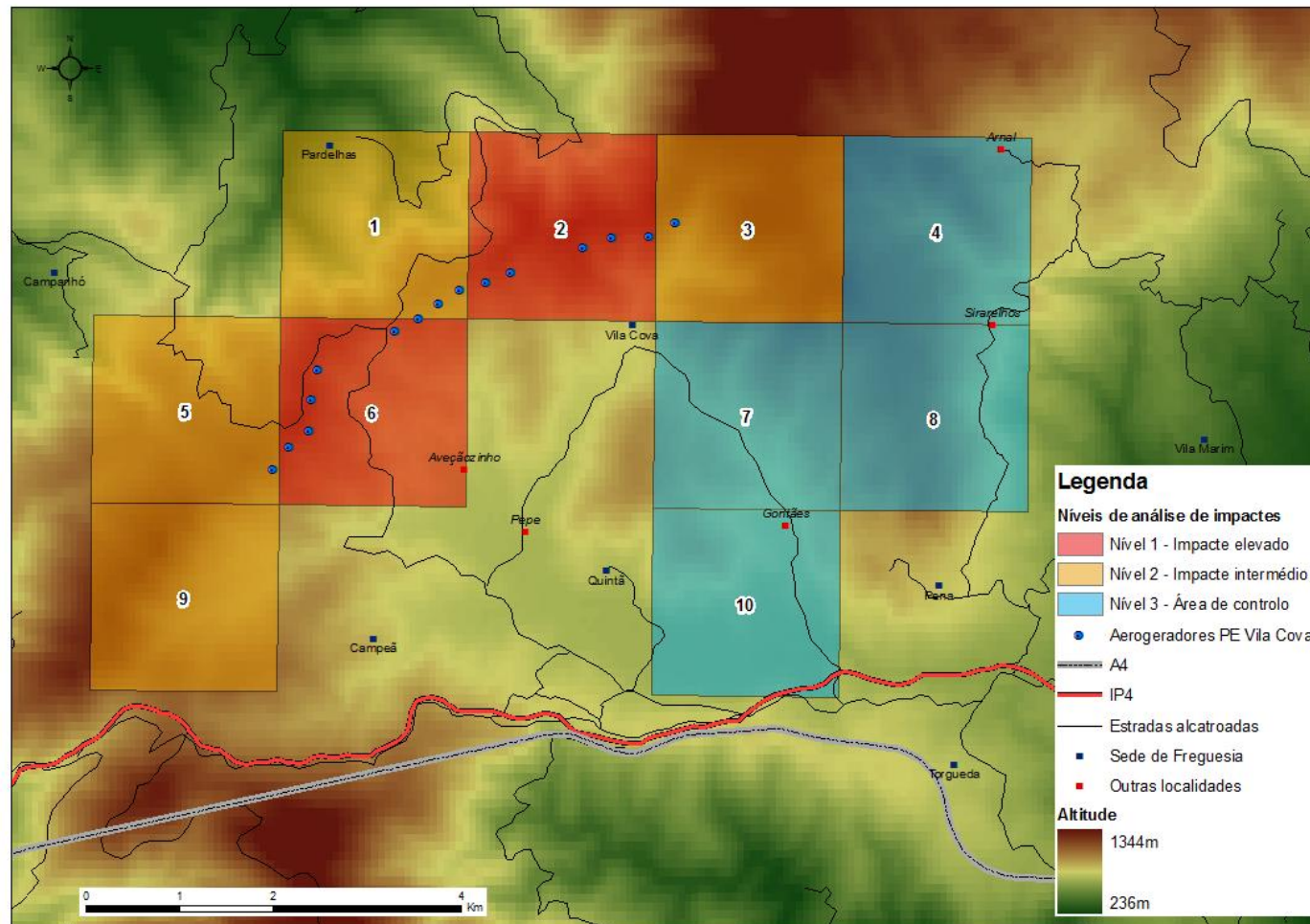


Figura 3. Grelha de quadrículas UTM 2x2km que compõem a área de estudo e respetivos níveis de impactes.

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

3.3. MÉTODOS DE AMOSTRAGEM E REGISTO DOS DADOS

Prospecção de indícios de presença

Em cada quadrícula UTM 2x2km foram realizados percursos mensais para procura de indícios da presença de lobo em locais propícios à ocorrência deste carnívoro e cujo grau de detetabilidade fosse elevado e semelhante (e.g. estradões de cumeadas, orlas florestais). Foi realizado um percurso por quadrícula, nunca perfazendo menos de 1km de prospecção em cada área de 2x2km. Os percursos foram realizados maioritariamente de jipe, a uma velocidade inferior a 10km/h, sendo os cruzamentos prospetados sempre a pé até uma distância de 50m em cada direção. Os dejetos potencialmente pertencentes a lobo foram georreferenciados, recolhidos, catalogados e enviados para o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) para posteriores análises genéticas.

Recolha de informação sobre lobo na área de estudo

Sempre que possível, foram realizados diversos inquéritos orais a habitantes locais que usam as áreas serranas, tais como pastores, caçadores ou guardas-florestais, de modo a se obterem informações credíveis sobre avistamentos recentes da espécie.

Recolha de informação relativa a ataques de lobo no gado

Foi analisada a distribuição dos prejuízos de lobo na área de estudo através da consulta à base de dados de prejuízos de lobo existente no Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF) e sempre que possível os mesmos foram georreferenciados e inseridos num Sistema de Informação Geográfica.

Realização de estações de escuta

As estações de escuta consistem em visitas noturnas, efetuadas de preferência no início da noite (1 a 2 horas após o pôr do Sol), nas quais, a partir de pontos altos próximos do local que se supõe ser frequentado pelo grupo familiar, se emitem 2 a 3 sequências de uivos simulados. Cada sequência é composta por 3 a 6 uivos consecutivos, com uma pausa de 2 a 5 minutos entre cada sequência. As estações de escuta devem ser realizadas apenas com condições atmosféricas adequadas, isto é, quando as condições de propagação de som sejam ótimas (ausência de vento ou vento fraco e ausência de precipitação). O principal objetivo é obter respostas por parte de

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

crias e adultos da alcateia e com isso confirmar o sucesso reprodutor e contabilizar um número mínimo de indivíduos. Podem ser realizadas entre julho e outubro, existindo maior probabilidade de sucesso em agosto e setembro.

Armadilhagem fotográfica

A armadilhagem fotográfica consiste na colocação de câmaras fotográficas com sensores de movimento, de modo a obter o registo fotográfico automático da passagem e presença das espécies. Esta metodologia tem sido utilizada como forma complementar para o registo de lobo e suas presas silvestres, uma vez que a área de estudo é muito heterógena em termos de habitat, existindo áreas arbóreas com bom coberto vegetal (zonas ótimas para a colocação das câmaras) e zonas de altitude onde a vegetação não ultrapassa os escassos centímetros (zonas não indicadas para uso desta metodologia, pela forte propensão para roubos).

As câmaras colocadas no terreno estiveram ativas pelo menos 30 dias consecutivos em cada amostragem.

Foram usadas câmaras Bushnell TrophyCam (<http://bushnell.com/hunting/trail-cameras>) (Figura 4).



Figura 4. Exemplos de câmaras Bushnell TrophyCam utilizadas no presente estudo.

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

3.4. ANÁLISES GENÉTICAS

Dadas as semelhanças entre os dejetos de lobo e os de cães de grande porte (nomeadamente os cães de guarda de rebanhos), e tendo como objetivo validar o trabalho de campo, de modo a que as análises posteriores incluam apenas indícios seguramente atribuíveis a lobo, todos os dejetos recolhidos ao longo dos percursos de amostragem foram analisados, tal como já referido, num laboratório do INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, pela Dra. Carla Borges e sobre coordenação da Dra. Fernanda Simões..

Material biológico

Os dejetos recolhidos ao longo dos percursos de amostragem, com características morfológicas que sugeriam pertencerem a lobo, foram inicialmente analisados à vista, tendo sido atribuída uma classificação de acordo com a sua potencialidade para extração de ADN:

- Dejeito classificado como Bom – Boa visualização de película transparente.
- Dejeito classificado como Razoável - Visualização de película transparente, embora a amostra tenha algum pelo ou terra.
- Dejeito classificado como Mau - Bastante pelo, ou muita terra (não se consegue visualizar a película transparente).

Extração de ADN

Cada um dos dejetos foi manipulado individualmente, em sala de acesso condicionado, de modo a evitar contaminações externas. De cada amostra foi retirada, com um bisturi, uma porção da película transparente que envolve o dejeito e que potencialmente contém células epiteliais do intestino do indivíduo a que os dejetos correspondem. A porção de película foi então colocada em *eppendorf* estéril, fechado e imediatamente guardado congelado até se realizar a extração de ADN. Esta é realizada manipulando um conjunto de 11 amostras de estudo e 1 controlo negativo (ausência de amostra biológica) por cada protocolo de extração completo e sempre em ambiente de acesso condicionado.

A extração do ADN dos dejetos amostrados foi efectuada com o *Kit QIAamp DNA Stool* (QIAGEN) com algumas modificações ao protocolo recomendado, de forma a otimizar a

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

extração. A quantidade de partida de material biológico utilizado variou consoante a qualidade da amostra fecal uma vez que estas expostas a diferentes condições atmosféricas durante tempo indeterminado. O tempo de precipitação de ADN com etanol a -20 °C foi aumentado para várias horas e a eluição do ADN efetuou-se num volume final de 180µL. Foi também utilizado o *Innuprep stool kit* (AnalytiKJena) de acordo com as instruções do fabricante. Todas as amostras de ADN extraído foram armazenadas a -20 °C até á sua utilização.

Amplificação de loci de microssatélites por técnicas de PCR

Para a amplificação do ADN extraído dos dejetos, utilizou-se um conjunto de 19 pares de *primers* de microssatélites marcados, dos quais 5 correspondem a repetições de dinucleotídeos (AHT121, C22.279, CXX.109, CXX.173, e CXX.225), 13 correspondem a repetições de tetranucleotídeos (FH2001, FH2054, FH2247, FH2010, FH2159, FH2611 e PEZ08) (Pires *et al.* 2009), FH2361 (Mellersh *et al.*, 1997), FH4012, FH3210 and REN247M23 (Guyon *et al.*, 2003), PEZ08 e PEZ06, (Neff *et al.*, 1999), C38 (van Asch *et al.*, 2009) e o hexamérico VWF.X (Shibuya *et al.*, 1994). Cada reação de PCR em multiplex foi realizada para um volume final de 10 µL, tendo-se adicionado 5 µL de solução Multiplex PCR Kit (QIAGEN). O volume de oligonucleótidos iniciadores de PCR utilizado para as diferentes reações em multiplex variou entre 0,08-1µL de uma solução de trabalho a 25µM perfazendo-se o volume final com H₂O. A quantidade de solução de ADN extraído para cada reação de PCR pode variar de 1,6 – 1,8uL do eluato da extração. As combinações das reações de multiplex para dejetos são apresentadas no Tabela 1 (uma combinação por linha da tabela).

Tabela 1. Combinações das reações de multiplex para a amplificação dos 19 *loci* de microssatélites.

<i>Combinações das reações de multiplex</i>
CXX.109; FH2010
FH2054; FH2611
CXX.173; CXX.225; FH2159
ATH121; C22.279; FH2247
FH2001; PEZ08
FH4012
FH2361; C38; REN247M23
FH3210; PEZ06; VWF.X

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

As condições de PCR para amplificação dos 19 *loci* acima mencionados foram otimizadas e encontram-se esquematizadas no Tabela 2.

Tabela 2. Programa utilizado para amplificação do ADN genómico com os vários conjuntos de pares de *primers*.

1 Ciclo	95°C	15:00
35 Ciclos	94°C	0:30
	53.5-60°C	1:30
	72°C	1:00
1 Ciclo	60°C	30:00

3.5. MÉTODOS DE TRATAMENTO DOS DADOS

Prospecção de Indícios

Os indícios indiretos de presença de lobo encontrados ao longo dos percursos efetuados, foram utilizados para definir áreas de presença/ausência da espécie e foram contabilizados em Índices Quilométricos de Abundância (IQA). O IQA corresponde à razão entre o número de indícios observados e o total de quilómetros prospectados em cada quadrícula UTM. Este valor foi contabilizado para cada quadrícula ao nível mensal, sazonal e anual. Os valores resultantes mostram o nível de utilização de cada zona de 2x2km, pelo lobo. Importa referir que apenas foram utilizados os dejetos confirmados como sendo de lobo segundo as análises genéticas, e que os IQA foram contabilizados desde que a amostra fosse suficiente para tal.

Mediante a existência de um número suficiente de indícios atribuíveis a lobo, o uso do espaço foi também analisado através de uma estimação de densidade Kernel (Carr & Rodgers, 1998; Quinn & Keough, 2002). O Kernel é um estimador não-paramétrico para determinar densidades de probabilidades a partir de um conjunto de pontos. No contexto do presente trabalho, este método descreve a probabilidade da presença/utilização de lobo num determinado ponto da área de estudo, num determinado período temporal.

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

Este método inicia-se centrando uma função de densidade de probabilidade bivariada - o “kernel” - sobre cada ponto do conjunto (neste caso, dados de presença de lobo – dejetos e/ou prejuízos), com um determinado raio de procura (h). O valor utilizado para o parâmetro (h) foi de 1,41km (metade da diagonal de uma quadrícula 2x2km). Seguidamente, uma grelha regular é sobreposta à área de estudo (no nosso caso em pixéis de 100m) e uma estimativa de densidade é calculada em cada intersecção da grelha. Um estimador de densidade Kernel (i.e., uma “distribuição de utilização”) é calculado para a totalidade da grelha da área de estudo usando as estimativas de densidade em cada intersecção da grelha. O estimador de densidade Kernel resultante terá valores mais altos em zonas com muitos pontos e valores mais baixos em zonas onde existam poucos pontos. Assim, não só os pixéis com indícios de lobo, mas também os existentes na vizinhança terão valores probabilísticos elevados, ilustrando mais fielmente as potenciais áreas de utilização da espécie quando em comparação com os IQA em que os pixéis são de 2x2km.

De referir que a análise de Kernel aqui apresentada não pretende estimar áreas vitais ou territórios da espécie, mas apenas ilustrar mais fielmente o uso do espaço pelo lobo, tendo por base os dados recolhidos durante o trabalho de 2015. Neste estudo foram também realizadas superfícies de densidade de Kernel com os dados dos prejuízos comunicados ao ICNF, de forma a evidenciar as principais áreas de caça da espécie, dado que cerca de 80% da dieta do lobo na região é composta por animais domésticos (Petrucci-Fonseca *et al.*, 2007).

Análises genéticas

Análise de Fragmentos

A genotipagem dos 19 *loci* de microssatélites foi processada em sequenciador automático *Applied Biosystems 3130 Avant*. A análise dos fragmentos detetados foi efetuada utilizando o software *GeneMapper v3.7*.

Análise Estatística

Os parâmetros estatísticos foram obtidos através da análise de genótipos utilizando o software *GenAlex 6.3* (Peakall *et al.*, 2006). A possível relação de parentesco entre os vários genótipos obtidos foi testada utilizando o software *M-L relate* (Kalinowski *et al.*, 2006).

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

A distribuição de genótipos por população foi testada utilizando o software *Structure* 2.3. (Pritchard *et al.*, 2000). Esta análise foi realizada com base nos genótipos individuais obtidos para os dejetos amostrados, em conjunto com uma base de dados de genótipos de cão pertencente ao Grupo Lobo/INIIV, que inclui cães de várias raças, incluindo as raças de cão de gado autóctones portuguesas e um total de 53 genótipos de tecidos de lobo ibérico com proveniência do norte de Portugal. Esta análise utiliza uma metodologia Bayesiana de cálculo e o programa foi executado sem definir previamente a origem específica de cada amostra. Para cada análise, foram efetuadas 10^6 cadeias Markov-Monte Carlo (MCMC) após 10^4 cadeias MCMC.

Sexagem molecular

Todas as amostras de ADN de dejetos foram sujeitas a PCR, de modo a amplificar um fragmento do ADN de cromossoma Y de cerca de 100 bp. A reação de amplificação foi efetuada utilizando os iniciadores de PCR SRYF e SRYF e a mistura de amplificação contendo Taq polimerase ativada por temperatura Immomix (bioline), para um volume final de $25\mu\text{L}$ utilizando 1mM de cada iniciador (concentração final). O programa de amplificação consistiu em 10 min a 94°C , seguido por 10 ciclos de 30s a 94°C , 30s a 58°C , 30s a 72°C , e mais 30 ciclos de 30s a 94°C , 30s a 55°C , 30s a 72°C . Foi ainda incluído um passo final de extensão de 15 min a 72°C . Os produtos de PCR foram analisados por gel de agarose a 1,5%, na presença de brometo de etídeo e a presença de uma banda aos 100 bp foi interpretada como amplificação do fragmento do cromossoma Y e foi atribuída à amostra a classificação de Macho (M).

3.6. RELAÇÃO DOS DADOS COM CARACTERÍSTICAS DO PROJETO OU DO AMBIENTE EXÓGENO AO PROJETO

Tendo em conta a existência de uma situação de referência de 3 anos, os dados obtidos no presente período de amostragem poderão ser comparados tanto no tempo como no espaço (pela existência de quadrículas de controlo em áreas não afetadas pelo projeto), num design experimental do tipo BACI (*Before After Control Impact*).

Dada a grande mobilidade e extensos territórios da espécie, uma miríade de situações podem afetar a sua presença e uso do espaço, tanto fatores indiretos (perturbação humana, destruição de habitat) como fatores diretos (taxas de natalidade e mortalidade). A equipa de trabalho teve em conta a possibilidade de existência de fatores exógenos ao projeto em análise (ex: fogos

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

florestais, novas extrações de inertes, eventos de envenenamento, etc.) na avaliação da presença de lobo, embora à partida não existissem novas macro perturbações na área (ex: novas autoestradas, novos parques eólicos, etc.).

3.7. CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO DOS DADOS

Os critérios utilizados na análise da distribuição do lobo na área de estudo, da existência de grupos familiares, assim como da ocorrência de reprodução são os utilizados no Censo Nacional de Lobo 2002/2003 (Pimenta *et al.* 2005), adaptados para quadrículas UTM de 2x2km:

Distribuição (em cada quadrícula UTM 2x2km)

Presença confirmada

- Observação direta de indícios de presença atribuíveis ao lobo (dejetos) e confirmados geneticamente;
- Observação direta de indivíduos, registos fotográficos da espécie ou escuta de uivos pela equipa de trabalho;
- Existência confirmada de lobos mortos na quadrícula durante o período em estudo.

Presença provável

- Existência apenas de prejuízos atribuíveis ao lobo e declarados ao Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF), sem a obtenção de qualquer outra evidência da presença da espécie (como sejam dejetos ou observação de indivíduos).

Presença não detetada

- Inexistência de indícios de presença atribuíveis ao lobo na quadrícula.

Grupo familiar – Alcateia (apenas em zonas com presença confirmada)

Grupo confirmado

- Concentrações altas de indícios (dejetos e prejuízos seguramente atribuídos ao lobo);

DESCRIÇÃO DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

- Registo fotográfico de 2 ou mais lobos juntos;
- Ocorrência de reprodução num dos dois últimos anos;
- Confirmação de reprodução pela equipa de trabalho (durante o ano corrente).

Grupo provável

- Existência de indícios sem grandes concentrações;
- Informação de reprodução nos últimos 5 anos;
- Outros dados obtidos pela equipa no decurso do trabalho (ex: inquéritos).

Ocorrência de reprodução (só em zonas com grupos confirmados)

Reprodução confirmada

- Detecção da presença de crias através de uivos, registos fotográficos ou observação direta pela equipa de trabalho (referente apenas ao ano da prospeção);
- Recolha de crias mortas.

Reprodução provável

- Existência de concentração elevada de indícios numa determinada zona (IQAs elevados, concentração elevada de prejuízos seguramente atribuídos ao lobo entre maio e outubro);
- Informação que refira a presença de crias e que se considere fiável em função da sua procedência.

Sem evidências de reprodução

- Zona onde se estima a presença de um grupo familiar, mas não se dispõe de nenhum tipo de informação sobre a ocorrência de reprodução durante o período de estudo.

4. Resultados do programa de monitorização

4.1. DADOS DE BASE

De acordo com o último censo nacional de lobo 2002/2003 (Pimenta et al., 2005), a área onde se insere o PE de Vila Cova faz parte do território da denominada alcateia do Vaqueiro (Figura 5).

A alcateia do Vaqueiro ocupa toda a área de estudo, estendendo-se desde o vale da Campeã até ao Rio Olo. Esta área corresponde à transição entre as Serras do Marão e do Alvão, possuindo um mosaico de zonas abertas com matos rasteiros (sobretudo nas cumeadas), com zonas florestais (pinhal, carvalhal, outeiros) ou de matos densos nas cotas mais baixas ou ao longo de linhas de água.

A área de reprodução da alcateia referida foi confirmada pela primeira vez em 2006 (Petrucci-Fonseca et al., 2007) ao abrigo da monitorização dos impactes da A24 e A7. Embora com alteração do local a partir de 2007, após a construção do Parque Eólico do Outeiro (Ferrão da Costa & Álvares, 2008), a reprodução nesta alcateia foi confirmada todos os anos até 2010 (Petrucci-Fonseca et al., 2010). Desde então, e ao abrigo da presente monitorização, a presença da espécie tem sido continuamente confirmada nesta zona (Fotografias 7 e 8), com confirmação de reprodução pontualmente verificada nesta alcateia, localizando-se o último local de reprodução conhecido a cerca de 4km (em linha reta) dos aerogeradores do PE de Vila Cova, entre as localidades de Gontães e da Pena.



Fotografias 7 e 8. Exemplos de registos fotográficos de lobo obtidos na presente monitorização.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

4.2. ESFORÇO DE CAMPO

O trabalho de campo desenvolveu-se entre janeiro e dezembro de 2015. Foram realizadas um total de 12 amostragens (uma por mês), com duração média de 3 dias. Em cada mês foram prospectados cerca de 24km de percursos de amostragem na área de estudo, perfazendo em média 2,6km por quadrícula UTM 2x2km (Figura 6). Os 12 replicados correspondem a um total anual de 288km para toda a área de estudo e cerca de 31,2km em cada quadrícula 2x2km.

Durante o trabalho de campo de 2015 foram observados e recolhidos 29 dejetos que indicavam a presença de lobo dentro da área de estudo e envolvente próxima. Durante o trabalho de campo de 2015 foram realizadas 8 estações de escuta durante os meses de agosto e setembro (Tabela 3).

Relativamente à armadilhagem fotográfica, foram utilizadas 3 câmaras fotográficas com sensores de movimento, 2 delas ativas de maio a setembro de 2015 e a restante ativa ininterruptamente entre maio e dezembro de 2015 (Tabela 4).

Tabela 3. Datas das estações de escuta realizadas no interior da área de estudo e sua envolvente.

Localização das estações de escuta	Data de realização	Hora	Meteorologia	Resposta
E1	18-08-2015	23:01	vento fraco	não
E2	18-08-2015	23:52	vento fraco	não
E3	19-08-2015	00:13	vento fraco	não
E4	22-08-2015	23:12	sem vento	não
E5	22-08-2015	23:44	sem vento	não
E6	15-09-2015	22:53	vento fraco	não
E7	15-09-2015	23:14	vento fraco	não
E8	16-09-2015	00:08	vento fraco	não

Tabela 4. Datas de colocação e retirada das câmaras fotográficas com sensores de movimento.

ID câmaras fotográficas	colocação	retirada	dias ativas
C1	23-05-2015	29-09-2015	130
C2	23-05-2015	31-12-2015	223
C3	23-05-2015	29-09-2015	130

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

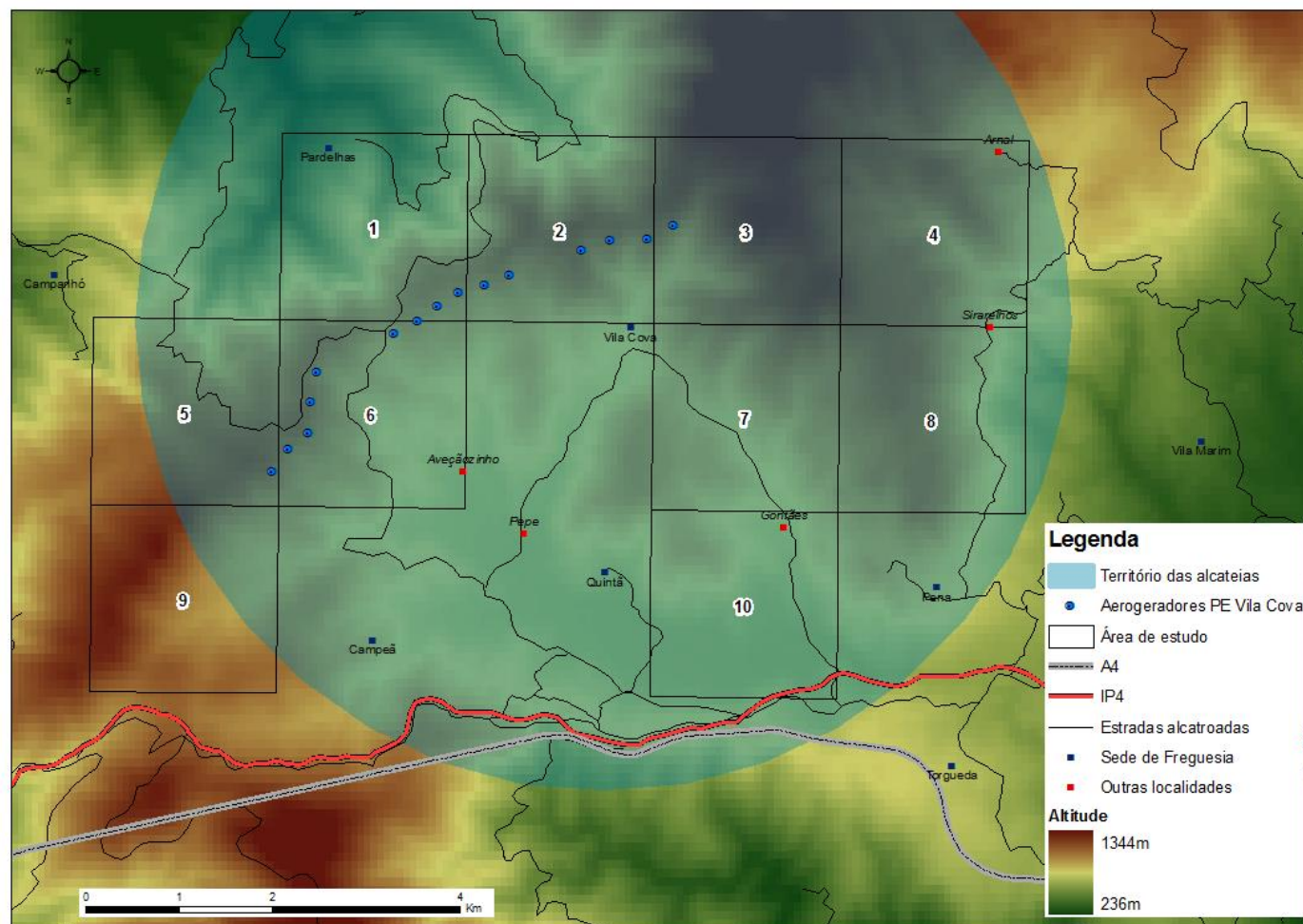


Figura 5. Localização aproximada dos territórios das alcateias identificadas no último Censo Nacional de Lobo: alcateia do Vaqueiro.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

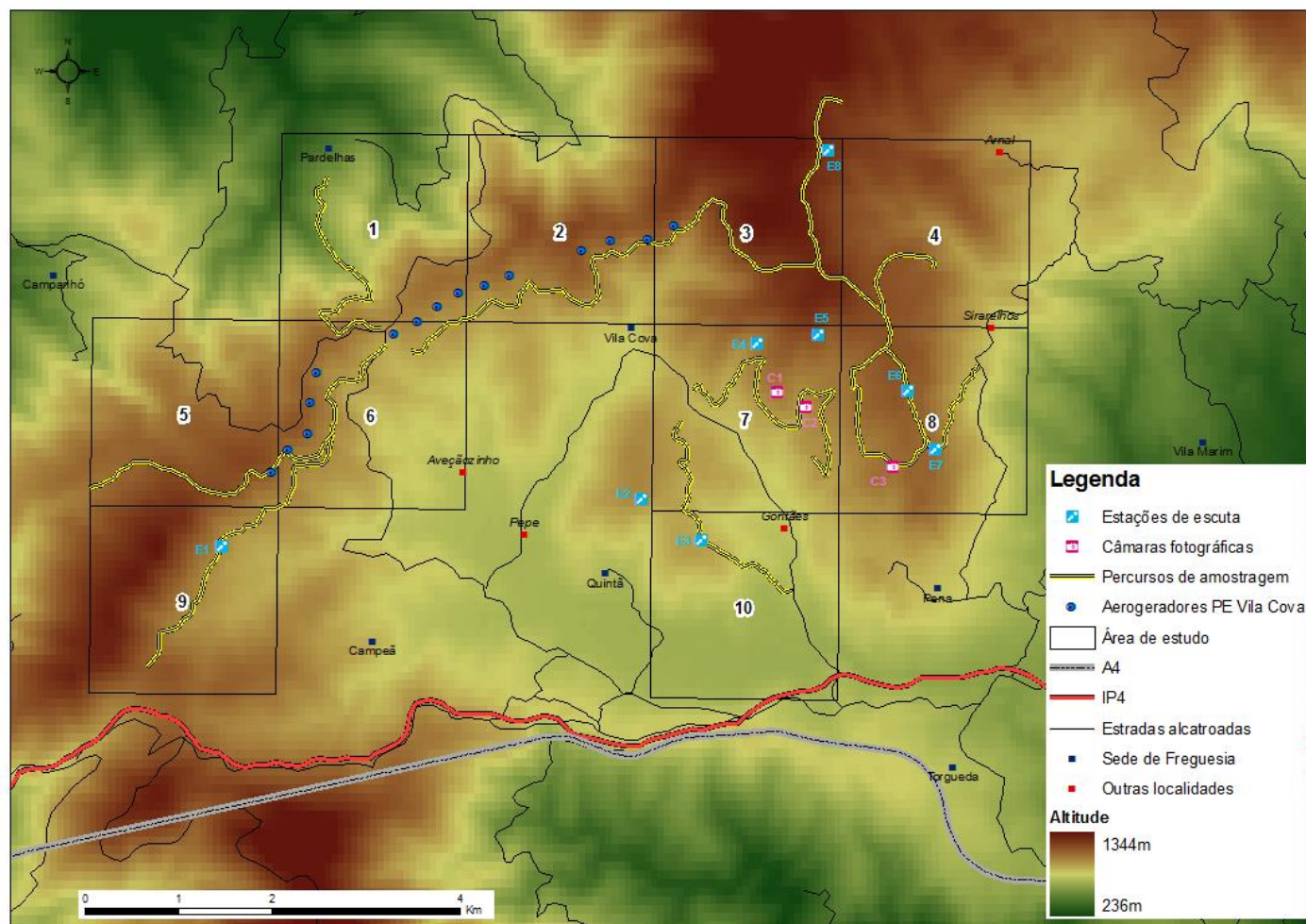


Figura 6. Localização das metodologias de prospeção utilizadas no âmbito do plano de monitorização em 2015.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

4.3. ANÁLISES GENÉTICAS

Do total de 29 amostras de dejetos recolhidos durante o trabalho de campo na área de estudo e envolvente próxima, foram realizadas duas extrações de ADN independentes, e foram efetuadas pelo menos 2-3 reações de PCR para cada eluato de extração. A percentagem de sucesso de amplificação para o conjunto de todas as amostras de acordo com o estado do dejetos é apresentada na Tabela 5.

Tabela 5. Relação das taxas de sucesso de PCR com o estado do dejetos à vista em que PCR1= reações de PCR utilizando o ADN da extração 1 e PCR2 = reações de PCR utilizando o ADN da extração 2.

Nº de amostras totais processadas	Nº de amostras por estado do dejetos	Nº de amostras da Extração 1	% Sucesso do PCR 1	Nº de amostras da Extração 2	% Sucesso do PCR 2
29	Bom - 7	29	100	29	100
	Razoável - 13		69		69
	Mau - 9		0		0

O grau de sucesso nos processos de extração de ADN e amplificação por PCR está diretamente relacionado com o estado físico do dejetos, o qual está dependente das condições atmosféricas a que está sujeito. Como tal, nem sempre o estado do dejetos era o ideal à partida para extração de ADN, mas dado o escasso numero de dejetos recolhidos nos últimos anos, não se quis deixar de fora potenciais indícios da espécie. Assim, dos 29 dejetos recolhidos durante o trabalho de campo, foi possível genotipar 16 amostras, o que representa uma taxa de sucesso de 55%, superior ao obtido em 2014 – 41,6% e 2013 – 37,5% (Figuras 8 e 9).

Os genótipos obtidos foram analisados em conjunto com a base de dados de raças de cães portuguesas para os mesmos *loci* microssatélites (gentilmente cedida pela Dra. Ana Elisabete Pires) utilizando *software* de afiliação para determinar a probabilidade de o dejetos analisado pertencer a uma população canina. Em paralelo, utilizou-se uma base de dados de tecidos de lobos (gentilmente cedida pela Dra. Isabel do Rosário), à qual se adicionaram genótipos de lobos do Centro de Recuperação do Lobo Ibérico (CRLI) (Borges, 2009). Para todas as análises foi construída a respetiva tabela de entrada, considerando 19 *loci* e 3 populações: cão (Dog), lobo (PW), e 130 genótipos de dejetos recolhidos na região do Alvão entre 2014 e 2015 (Alvão), (genótipos que apresentam pelo menos 16 dos 19 *loci* completos).

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

Os parâmetros estatísticos foram obtidos através da análise de genótipos utilizando o *software* GenAlex 6.3 (Peakall *et al.*, 2006). A análise de coordenadas principais é apresentada na Figura 7, verificando-se que 53 dejetos se posicionam no espaço ocupado pelos genótipos da base de dados de tecido de lobo (PW), dos quais 4 pertencem ao conjunto das 16 amostras genotipadas na envolvente à área de estudo do PE de Vila Cova.

A distribuição de genótipos por população de Lobo ou Cão foi igualmente testada utilizando o *software* Structure 2.3 (Pritchard *et al.*, 2000). Com base nos genótipos determinados para os vários *loci* microssatélites, foi analisada a filiação da espécie de cada dejecto. Esta análise foi efetuada sobre um universo de 130 dejetos, contra uma base de dados de tecidos de cão e lobo. A distribuição dos indivíduos por 3 populações revelou que 53 (4 do PE de Vila Cova) dos 130 dejetos analisados foram associados ao agrupamento dos tecidos de lobo. Os restantes 77 (12 do PE de Vila Cova) partilhavam o agrupamento correspondente ao agrupamento dos cães.

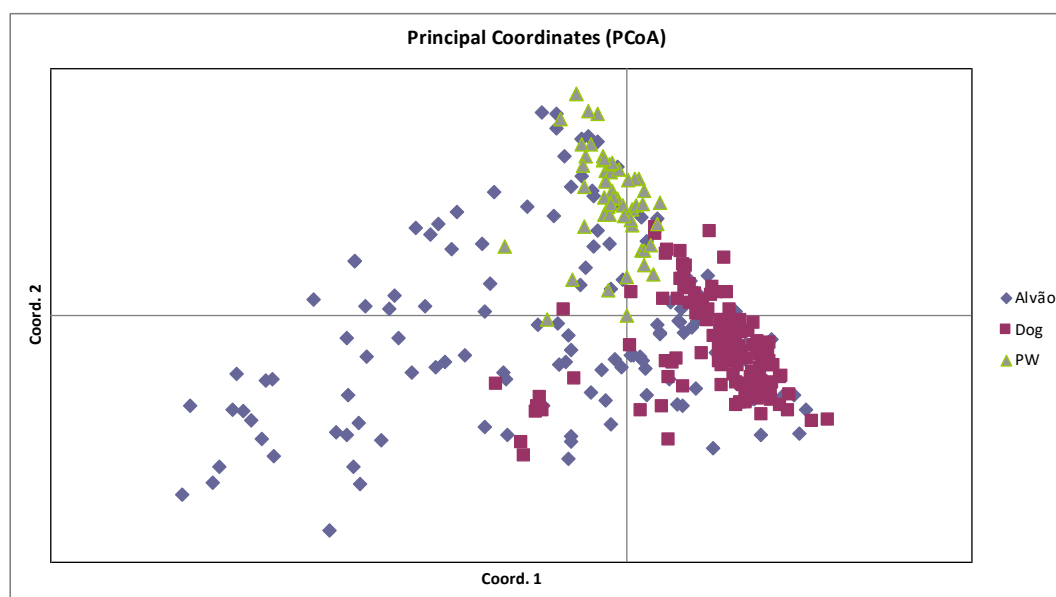


Figura 7. Análise de Coordenadas Principais (PCA) para os dejetos do Alvão, com base em genótipos de 19 *loci* de microssatélites utilizando a base de dados de genótipos para lobo (denominados PW) e dados de genótipos para cães (denominados Dog)

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

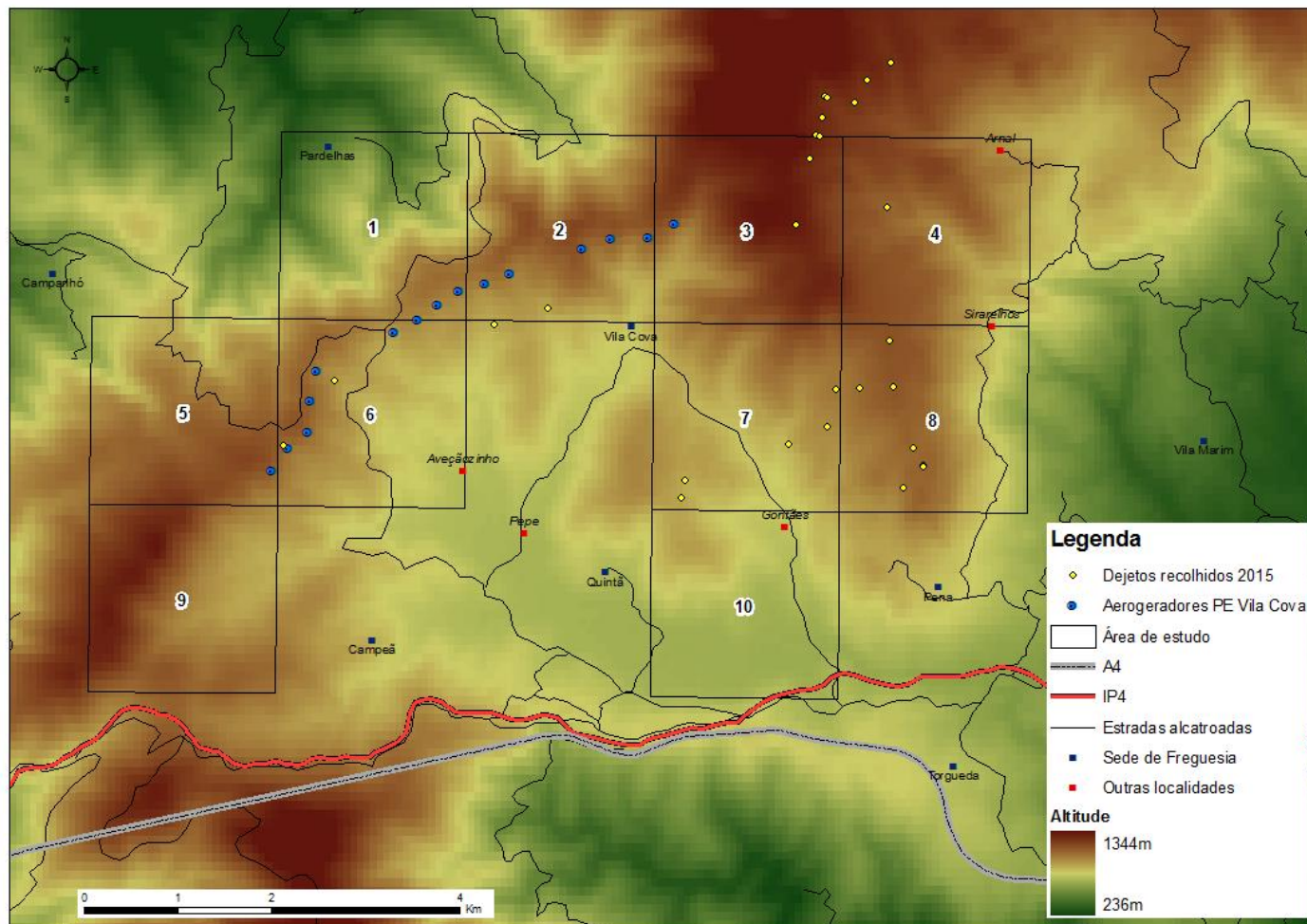


Figura 8. Distribuição espacial dos dejetos recolhidos para análise genética em 2015.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

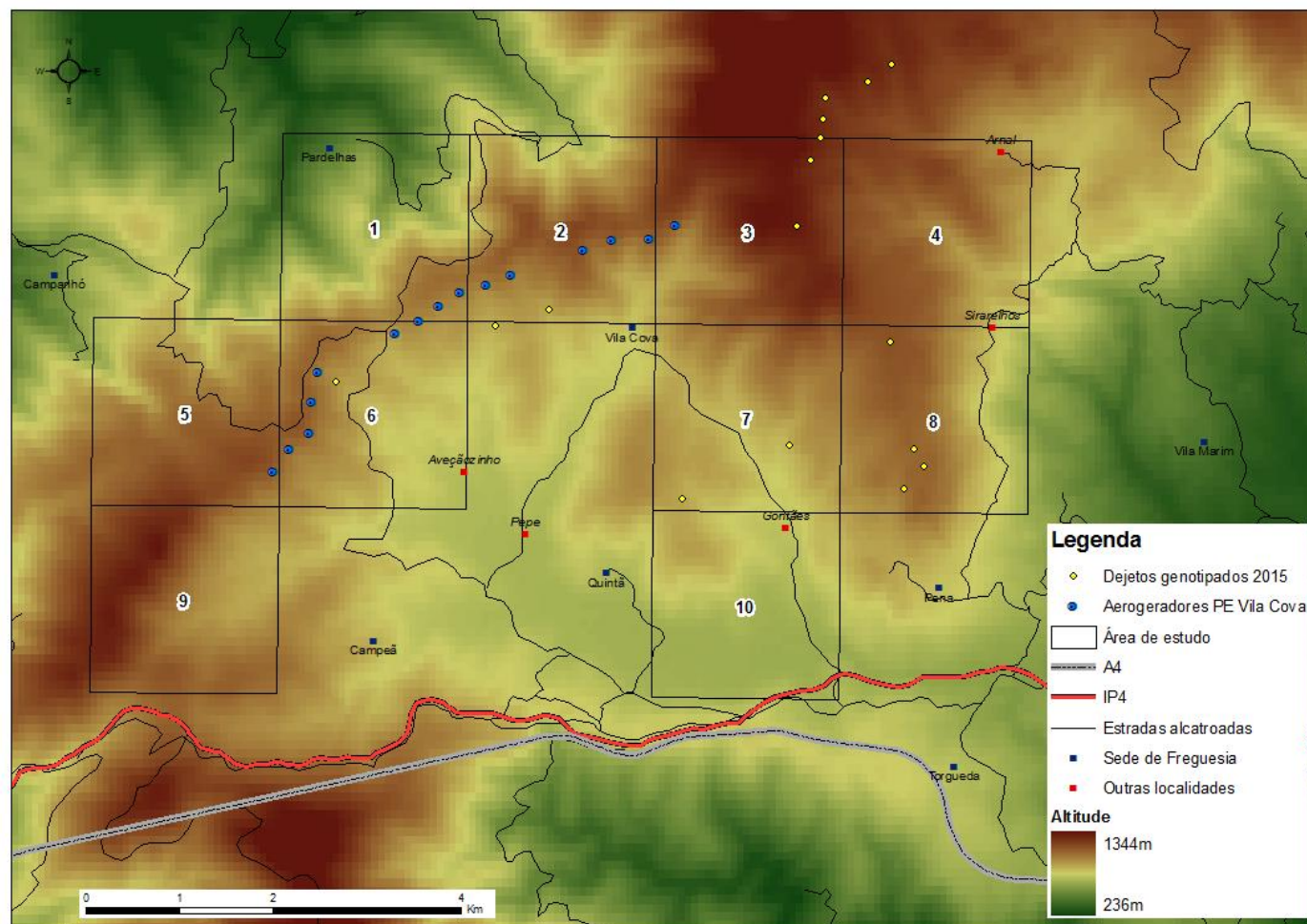


Figura 9. Distribuição espacial dos dejetos de 2015 efetivamente genotipados.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

Para a análise da possível relação de parentesco entre os vários dejetos afiliados em lobos utilizou-se o software M-L relate (Kalinowski *et al.*, 2006).

Os resultados (Tabela 6) revelaram um parentesco de 1º grau entre os dejetos A, B e C, que após uma análise mais aprofundada demonstraram pertencer ao mesmo indivíduo. Este resultado permitiu reforçar a percepção que são os mesmos animais que utilizam todas as diferentes zonas da área de estudo, desde as áreas próximas ao local de reprodução conhecido (quadriculas 7 e 8), como à zona oeste do PE de Vila Cova (quadrícula 6), como a zonas já próximas das barragens da serra do Alvão (norte da quadrícula 4).

Tabela 6. Relação de parentesco entre indivíduos de lobo identificados através do seu perfil genético.

Dejetos	A	B	C	D
A	-			
B	FS	-		
C	FS	FS	-	
D	U	U	U	-

Legenda: U – *unrelated* (sem parentesco); HS – *half sibilings* (parentesco em 2º grau); FS – *full sibilings* (parentesco de 1º grau); PO – *parent/offspring* (descendência direta – pai/filho)

Em suma, das 29 amostras recolhidas durante o trabalho de campo, 16 foram genotipadas e destas, 4 foram consideradas como sendo de lobo.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

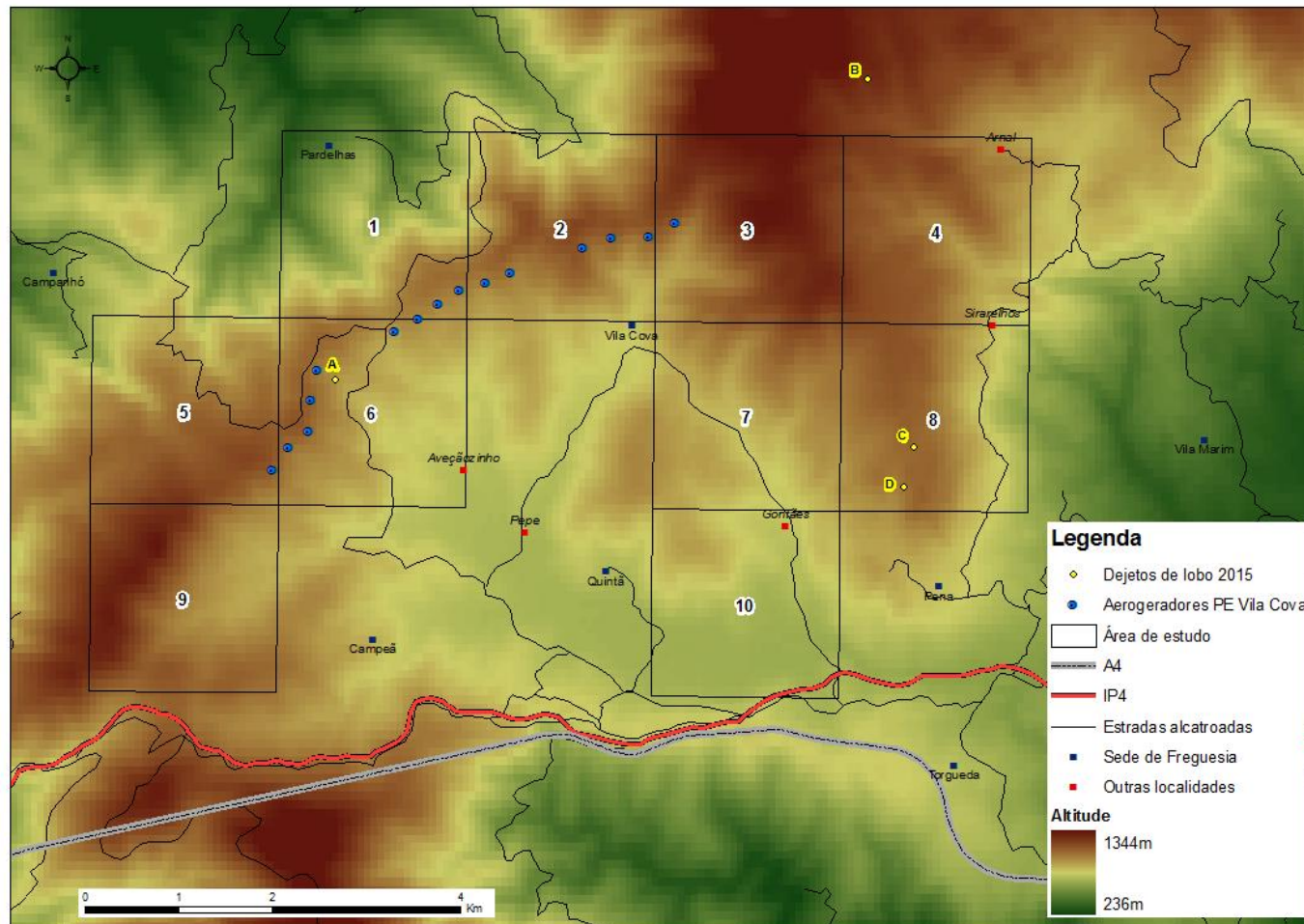


Figura 10. Dejetos de lobo recolhidos na área de estudo e envolvente próxima em 2015.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

4.4. DISTRIBUIÇÃO

Dos 29 dejetos recolhidos em 2015, apenas 4 foram passíveis de serem confirmados geneticamente como sendo de lobo (dois na quadrícula 8, um na quadrícula 6 e um a norte da quadrícula 4), correspondendo a um valor igual ao observado em 2014. Em relação aos prejuízos comunicados ao ICNF, verificou-se uma diminuição do número total de comunicações (49 em 2015 vs 68 em 2014 vs 81 em 2013), valor também refletido se alargarmos o raio da área de estudo em 2km (97 em 2015 vs 104 em 2014 vs 107 em 2013). A grande maioria dos prejuízos concentraram-se na quadrícula 7 (entre Gontães e Vila Cova) e a Sul da quadrícula 8, na região da Pena.

Os resultados da armadilhagem fotográfica realizada em 2015 permitiram registar a presença de lobo, no interior da área de estudo, em 4 eventos distintos, todos na mesma quadrícula (quadrícula 7). Nestes eventos, apenas um lobo isolado foi registado fotograficamente, tendo os registos acontecido a 22 de setembro, 27 de setembro, 15 de outubro e 22 de outubro (Fotografias 9 a 16). Relativamente às presas silvestres do lobo, foram obtidos vários registos de corço e javali nas 3 estações de armadilhagem fotográfica, nomeadamente no local onde foi confirmado a presença de lobo (Fotografias 17 a 20) (Tabela 7).

Tabela 7. Registos fotográficos na área de estudo e valores de IRA (nºregistos/dia) para cada local.

ID câmaras fotográficas	registos de lobo	registos de corço	registos de javali	dias ativas	IRA lobo	IRA corço	IRA javali
C1	0	5	8	130	0	0,038	0,061
C2	4	16	12	223	0,018	0,072	0,054
C3	0	2	6	130	0	0,015	0,046

Com base nos critérios de avaliação de presença da espécie adotados na metodologia, foi possível confirmar a presença de lobo em três quadrícula UTM 2x2km (30% da área), considerá-la como provável noutras três quadrículas da área de estudo (30%) – apesar de em uma delas apenas existir um prejuízo de lobo – não tendo sido detetada a presença da espécie nas restantes quatro quadrículas (40%) (Figura 12).

Na área dos aerogeradores do PE de Vila Cova, a presença de lobo foi confirmada na quadrícula 6, através de um dejetos geneticamente confirmado e considerada provável na quadrícula 2, pela existência de um prejuízo comunicado ao ICNF.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

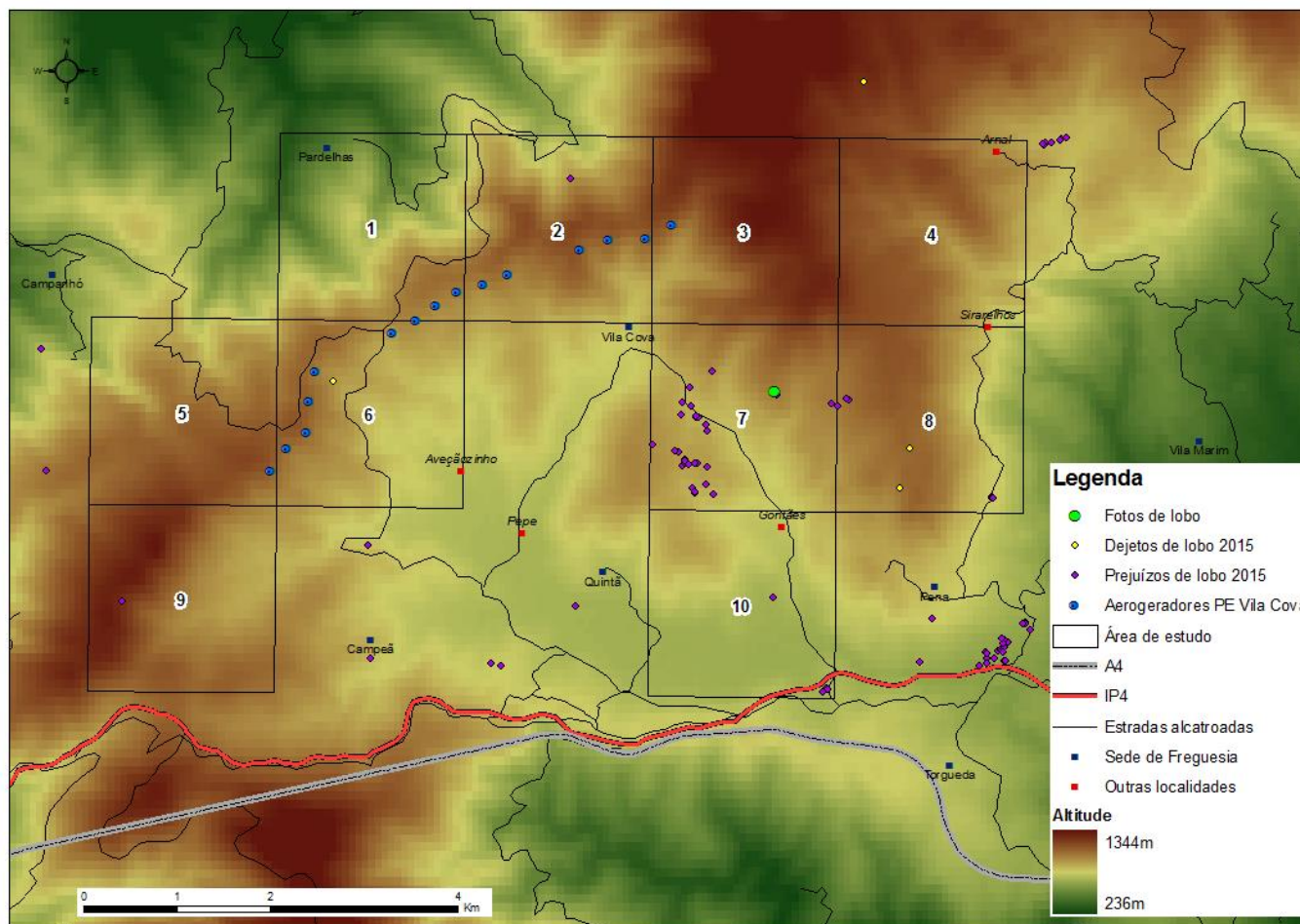


Figura 11. Distribuição espacial dos indícios de lobo recolhidos durante o período em estudo (Ano 4 - 2015).

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

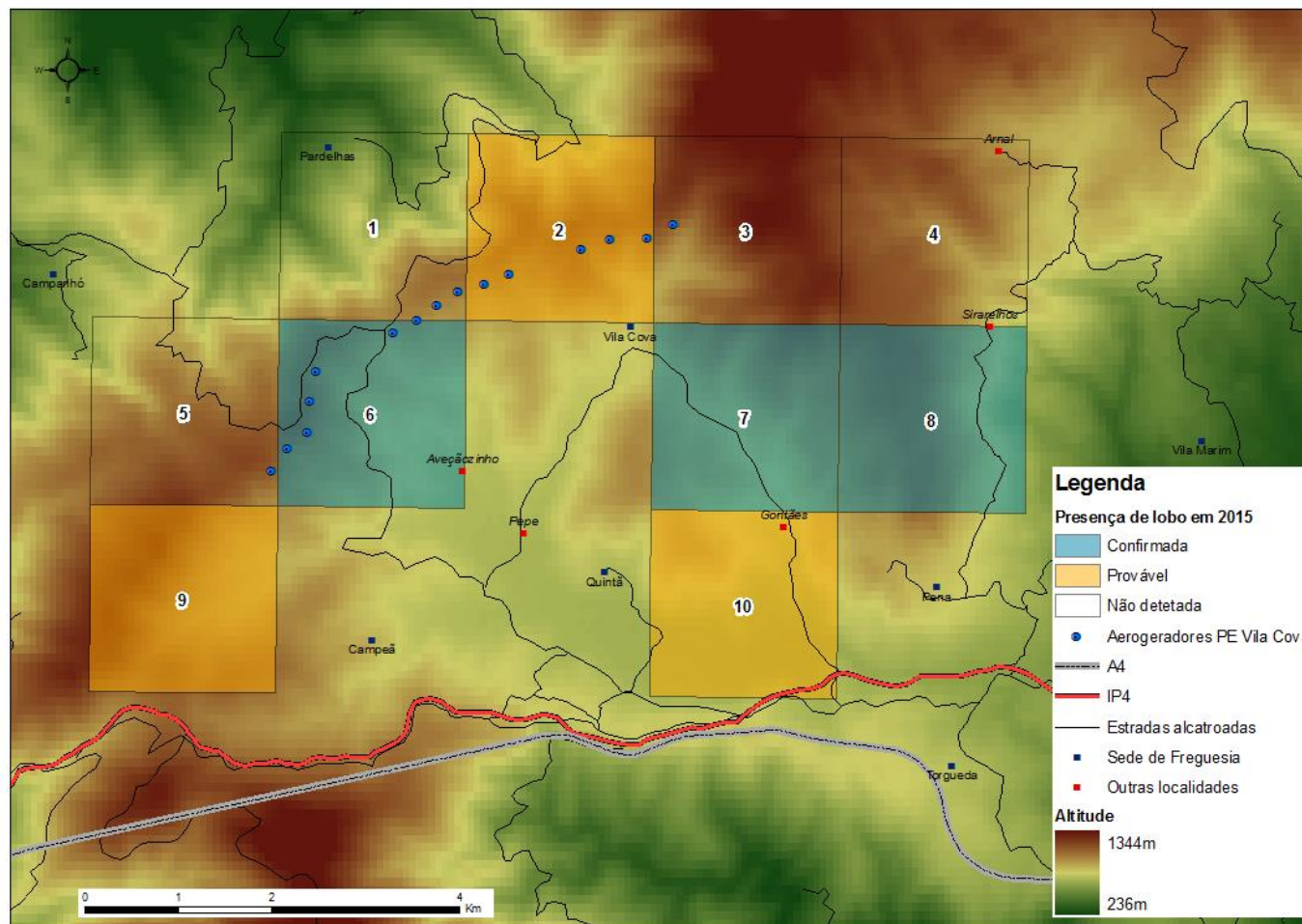


Figura 12. Classificação das quadrículas UTM 2x2km que compõem a área de estudo, em função da presença de lobo em 2015 e segundo os critérios de avaliação utilizados neste plano de monitorização.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO



Bushnell

09-22-2015 05:40:40



Bushnell

09-27-2015 07:43:46



Bushnell

09-27-2015 07:43:47



Bushnell

09-27-2015 07:43:48

Fotografias 9 a 12. Registos fotográficos de lobo obtidos na área de estudo em 2015.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO



Bushnell

10-15-2015 19:08:12



Bushnell

10-22-2015 10:06:37



Bushnell

10-22-2015 10:06:38



Bushnell

10-22-2015 10:06:38

Fotografias 13 a 16. Registos fotográficos de lobo obtidos na área de estudo em 2015 (*continuação*).

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO



Bushnell

09-18-2015 10:10:22



Bushnell

10-08-2015 18:32:03



Bushnell

09-01-2015 20:51:54



Bushnell

08-31-2015 21:06:09

Fotografias 17 a 20. Exemplos de registos fotográficos de corço e javali na área de estudo.

4.5. USO DO ESPAÇO

A existência de apenas 4 dejetos, geneticamente confirmados como sendo de lobo, onde somente 3 se encontram no interior da área de estudo, impede o uso de Índices Quilométricos de Abundância para a análise do uso do espaço, dado todos os valores serem muito próximos de zero. A análise de presença/ausência (distribuição) acaba por corresponder à melhor avaliação possível do uso do espaço pela espécie, tendo por base os dados recolhidos.

Uma vez que a armadilhagem fotográfica está a ser utilizada como metodologia complementar, não estando presente em todas as quadriculas da área de estudo, não faz sentido fazer uma análise comparativa do uso do espaço pelo lobo através dos registos fotográficos obtidos.

Assim, a única análise que foi possível fazer foi o cálculo de uma superfície de densidade Kernel anual com base nos dados dos prejuízos comunicados ao ICNF em 2015 (Figura 13) e 4 superfícies sazonais, refletindo o uso do espaço em cada estação do ano (Figuras 14 a 17). Esta análise tenta extrapolar áreas com maior probabilidade de presença da espécie, tendo por base um conjunto de pontos de presença, que neste caso correspondem aos pontos onde foram comunicados prejuízos de lobo no gado.

Tal como verificado em anos anteriores, as zonas de maior probabilidade de presença de lobo ocorrem na região sudeste da área de estudo, no maciço montanhoso entre Vila Cova e a Pena. É nesta região onde se localizam as explorações pecuárias que, recorrentemente, ao longo dos últimos 10 anos, têm sofrido prejuízos no seu efetivo devido ao lobo. Igualmente nesta zona têm sido encontrados a maioria dos dejetos de lobo na área de estudo e onde se têm obtido a maioria dos registos fotográficos da espécie, incluindo os do presente ano.

Existe igualmente uma zona, em torno da localidade de Arnal, onde a presença de lobo se fez sentir através de alguns prejuízos nos rebanhos locais.

No que concerne ao PE de Vila Cova, apesar dos dados dos prejuízos no gado elevarem a probabilidade da presença de lobo sobretudo junto ao núcleo Este dos aerogeradores do PE de Vila Cova, o certo é que foi confirmada a presença da espécie junto ao núcleo Oeste através de um dejetos recolhido em março de 2015, pertencente a um mesmo indivíduo registado na zona Este da área de estudo. Este dado revela que os animais pertencentes a esta alcateia usam toda a área do presente estudo de monitorização.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

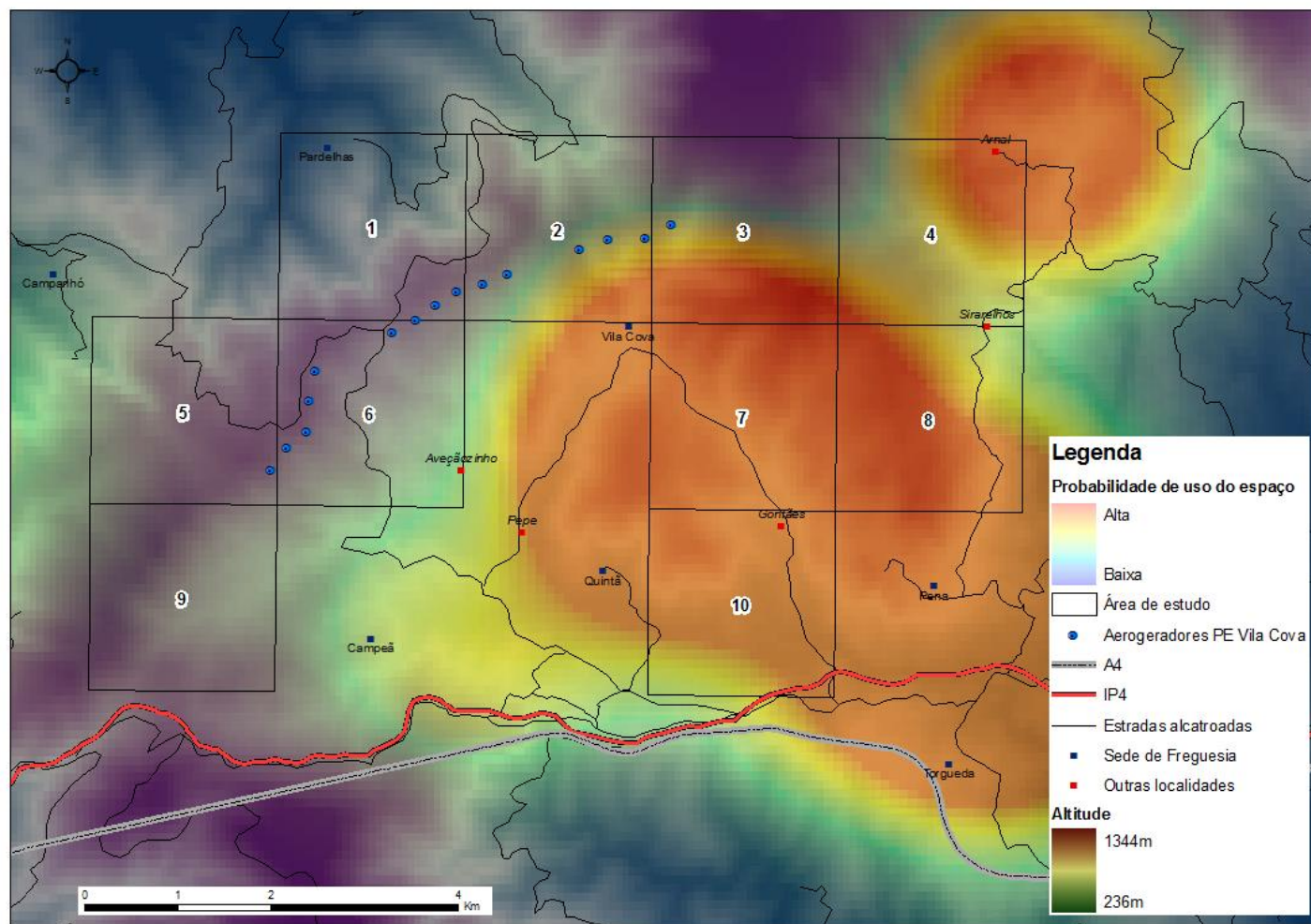


Figura 13. Probabilidade de uso do espaço por lobo em 2015, definida a partir dos prejuízos no gado e de uma análise Kernel.

RESULTADOS DO PROGRAMA DE MONITORIZAÇÃO

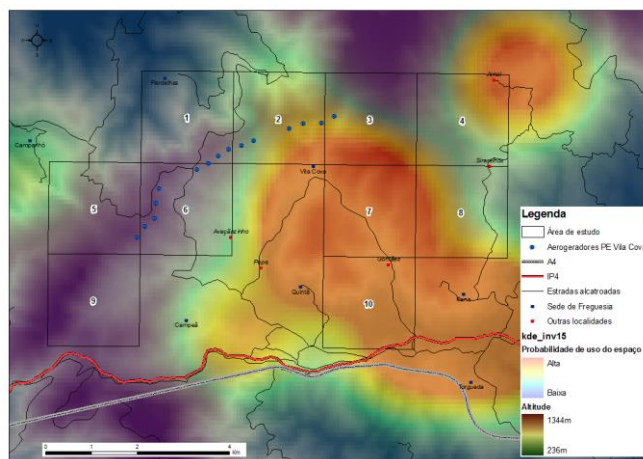


Figura 14. Uso do espaço por lobo no Inverno de 2015.

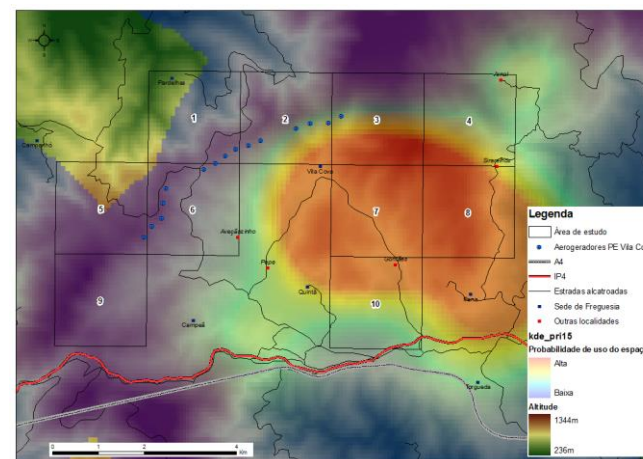


Figura 15. Uso do por lobo espaço na Primavera de 2015.

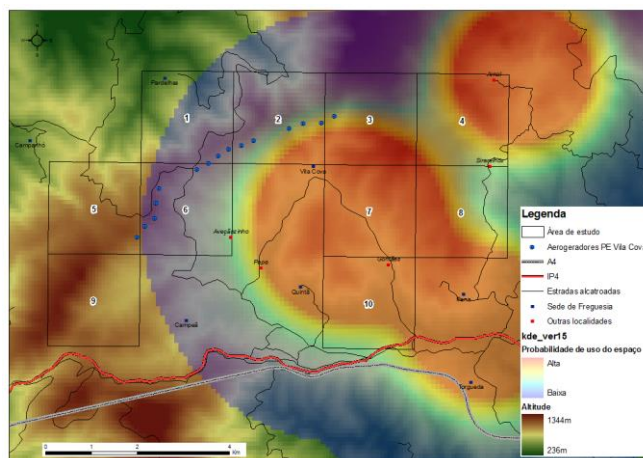


Figura 16. Uso do espaço por lobo no Verão de 2015.

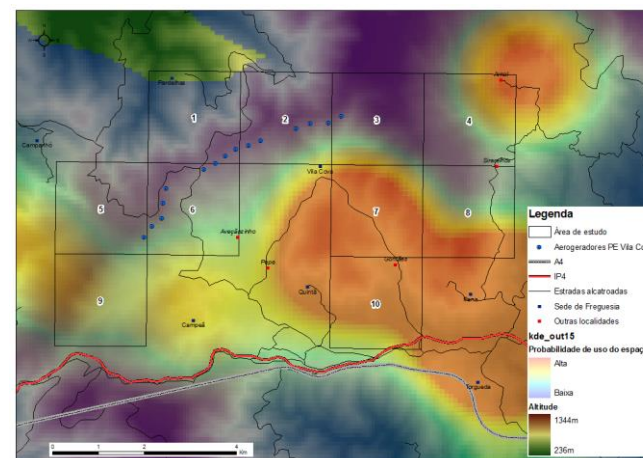


Figura 4. Uso do espaço por lobo no Outono de 2015.

4.6. ORGANIZAÇÃO SOCIAL E SUCESSO REPRODUTOR

A súmula dos resultados obtidos em 2015, nomeadamente a partir das análises genéticas, dos registos fotográficos e do número de prejuízos, ainda que escassos, permitiram continuar a confirmar a presença de um grupo familiar nesta região, nomeadamente pela quantidade de prejuízos anuais nesta zona. Porém, apenas se confirmou a presença de dois indivíduos distintos na área de estudo, resultados das análises genéticas, uma vez que os registos fotográficos apenas captaram um animal adulto isolado em cada evento.

Analisando os dados dos prejuízos de lobo em 2015, verifica-se igualmente uma diminuio do seu numero e distribuio, nomeadamente na freguesia da Pena (58 em 2015 vs 105 em 2014), que nos últimos anos tem sido a principal "fornecedora" de alimento doméstico para a alcateia do Vaqueiro. Tal facto poderá representar um decréscimo no número de indivíduos presentes, quer por aumento da mortalidade quer por ausência de reproduo em 2014, facto que este plano de monitorizao não confirmou nesse ano.

Tendo em conta a distribuio dos indícios e o conhecimento sobre os locais de reproduo passados, foram realizadas 8 estaoes de escuta entre os meses de agosto e setembro de 2015. Contudo, em nenhuma das estaoes se obteve qualquer resultado positivo.

DISCUSSÃO, INTERPRETAÇÃO E AVALIAÇÃO DE RESULTADOS

5. Discussão, interpretação e avaliação de resultados

5.1. COMPARAÇÕES PLURIANUAIS

De forma a se poder ter uma visão mais abrangente dos resultados obtidos durante esta monitorização, e tendo em conta o reduzido número de dejetos obtidos no interior da área de estudo (validados geneticamente), realizaram-se algumas comparações empíricas sobre o uso da área pela espécie, tendo em conta quer os dejetos recolhidos quer o número de prejuízos comunicados ao ICNF.

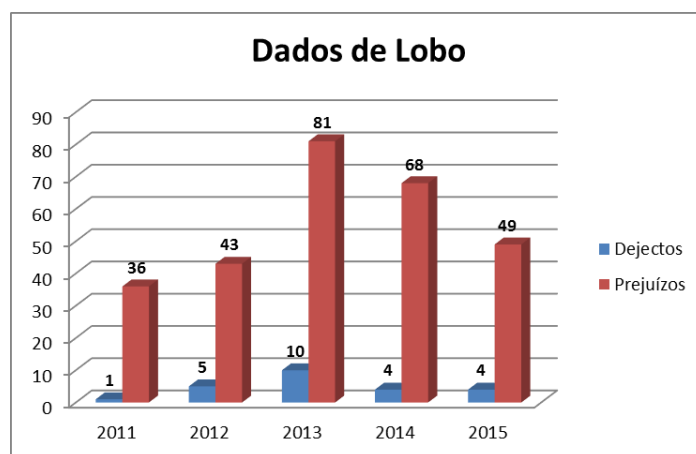


Figura 18. Total anual dos indícios de lobo recolhidos no interior da área de estudo.

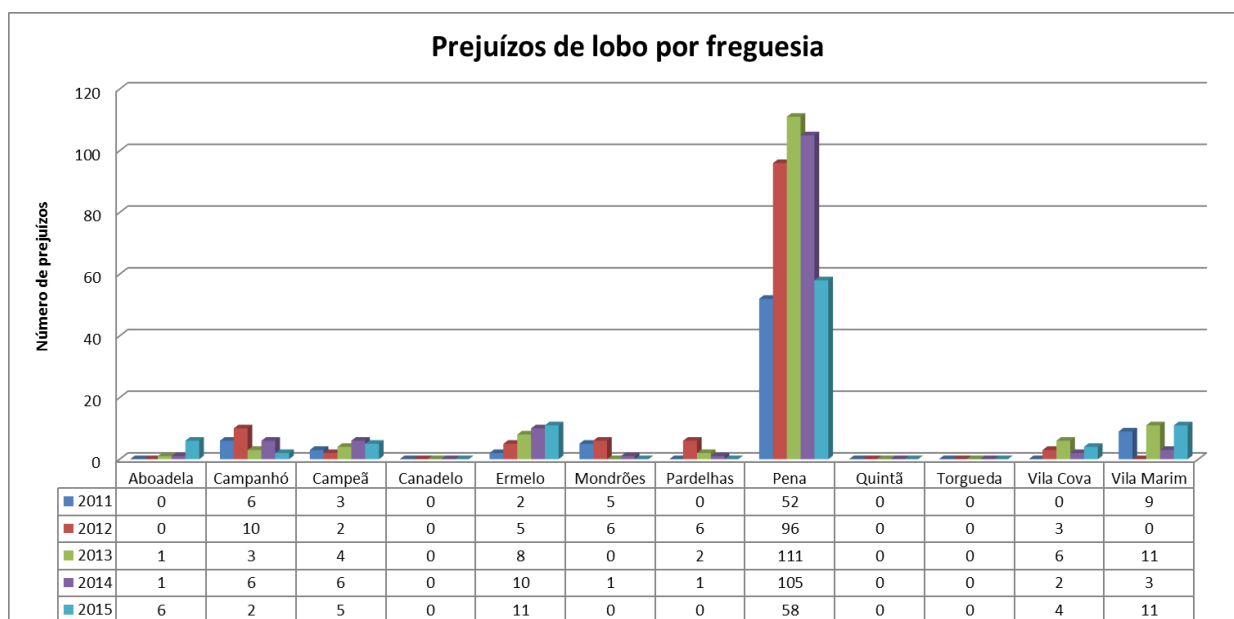


Figura 19. Distribuição do número de prejuízos de lobo pelas freguesias da área de estudo.

DISCUSSÃO, INTERPRETAÇÃO E AVALIAÇÃO DE RESULTADOS

O dado mais visível desta análise e que ressalta desta comparação, é uma diminuição do número de prejuízos de lobo entre 2013 e 2015 sendo, no entanto, o valor de 2015 superior ao de 2011 e 2012. Sendo possível fazer uma correlação entre o período de construção do PE de Vila Cova (novembro 2013-março 2014 e setembro 2014-dezembro 2014) e a diminuição do número de prejuízos devido a um efeito de repulsa na espécie, o facto é que o valor de 2015 é superior ao de 2011 e 2012 onde ainda não se tinham iniciado nenhum trabalho de construção. A explicação que nos parece mais provável advém da biologia do lobo e do seu ciclo reprodutivo. A presente monitorização conseguiu confirmar (ou pelo menos considerar provável) a reprodução da alcateia do Vaqueiro em 2012 e 2013, facto que terá aumentado o número de animais presentes na área de estudo. Essa circunstância fez com que aumentasse o número de prejuízos no efetivo pecuário, nomeadamente na freguesia da Pena, zona com maior disponibilidade alimentar próximo do local de reprodução.

É possível que em 2014 e 2015 (e os nossos dados apontam nesse sentido) que a alcateia do Vaqueiro não se tenha reproduzido, ou a ter acontecido, o seu local se tenha alterado substancialmente, possivelmente para fora da área de estudo. Como tal, o número de animais foi menor, tal como o número de prejuízos no gado.

5.2. AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DAS MEDIDAS ADOTADAS PARA PREVENIR OU REDUZIR IMPACTES

As medidas de prevenção de impactes ocorreram sobretudo durante a fase de construção do parque eólico, onde para além de uma adaptação do *layout*, existiu um período de interdição de obras para salvaguardar a época de reprodução do lobo. Neste caso, a identificação de um dejecto de lobo junto à base do aerogerador 6, durante o período de interdição, revela que uma medida deste tipo pode ter influência no uso do espaço pela espécie. Na fase atual de exploração, foram colocadas 3 cancelas de forma a vedar o acesso aos diferentes grupos de aerogeradores do núcleo Este do parque eólico. Durante este primeiro ano de exploração, a sua eficácia (como forma de limitação da circulação automóvel) nem sempre foi totalmente eficaz (por danos nas cancelas ou facilidade de abertura), mas também não foi observada qualquer diferença na utilização que o lobo faz da zona em questão, tendo sido

DISCUSSÃO, INTERPRETAÇÃO E AVALIAÇÃO DE RESULTADOS

observado mais uma vez um dejetos próximo do núcleo Oeste do parque eólico, numa zona onde não existem cancelas para interditar o acesso automóvel.

5.3. COMPARAÇÃO COM OS IMPACTES PREVISTOS NO EIA

No Estudo de Impacte Ambiental deste parque eólico previa-se um efeito de repulsa sobre a espécie durante a fase de construção, o qual seria progressivamente minorado durante a fase de exploração.

Também o impacte cumulativo com outros parques eólicos existentes na região (PE do Outeiro e PE de Pena Suar) se faria sentir sobre a espécie, podendo levar a um afastamento temporário da área, mas que não iria formar um efeito de barreira, tal como uma rodovia pode provocar.

Os dados obtidos até ao momento mostraram que durante dois primeiros anos da situação de referência o número de indícios e prejuízos foi inferior ao ano de 2013, onde tanto o número de indícios encontrados como o número de prejuízos no gado ou de registos fotográficos foi o mais alto do plano de monitorização. Em 2012 e 2013 a reprodução da espécie foi confirmada na área de estudo, a cerca de 3km do PE de Vila Cova. Desde então, esse número tem vindo a decrescer, tendo, contudo, em 2015 se situado em valores superiores aos de 2011, no início da situação de referência.

Podemos assumir este decréscimo nos últimos anos como consequência direta de um efeito de repulsa expectável proveniente da construção do PE de Vila Cova, salientando-se que os valores são superiores aos do início deste plano de monitorização. A reversibilidade deste provável efeito de repulsa só será verificável com o decurso e finalizar da presente monitorização.

5.4. RELAÇÃO DOS DADOS COM CARACTERÍSTICAS DO PROJETO OU DO AMBIENTE EXÓGENO AO PROJETO

Durante os 12 meses analisados neste relatório, não foram detetadas macro perturbações exógenas ao projeto, apenas questões pontuais relacionadas com áreas ardidas. Foram obtidas algumas informações (não confirmadas) relativamente à proliferação de laços na área de estudo que podem por em causa a viabilidade a curto prazo da espécie, uma vez que, num passado próximo (ano de 2005) e nesta zona, já foram capturados lobos neste tipo de armadilhas.

6. Conclusões e Recomendações

Os resultados obtidos pelo plano de monitorização do lobo durante o ano de 2015, correspondendo ao primeiro ano da fase de exploração, confirmaram a presença da espécie em 30% da área de estudo, tendo sido considerada provável noutros 30%.

Apesar do número de prejuízos comunicados ao ICNF indiciar a presença de uma alcateia nesta zona, o número máximo de indivíduos identificados foi de dois, resultado da conjugação das análises genéticas aos dejetos recolhidos com a armadilhagem fotográfica.

Durante o ano de 2015, não foi confirmado nenhum local de reprodução na área de estudo.

6.1. SÍNTESE DA AVALIAÇÃO DOS IMPACTES MONITORIZADOS

O presente plano de monitorização tem como objetivos avaliar o efeito de repulsa da construção e exploração do PE de Vila Cova sobre o lobo, bem como avaliar alterações nos padrões reprodutores da alcateia do Vaqueiro. Até momento, existiu um aumento da presença de lobo entre 2011 e 2013, tendo-se verificado uma diminuição em 2014 (ano da construção) e 2015, apesar dos valores de 2015 estarem acima dos de 2011 e 2012. Foi confirmada reprodução da alcateia do Vaqueiro em 2012 e 2013 a cerca de 4km do PE de Vila Cova, facto que poderá estar diretamente relacionado com o aumento do número de indícios e de registos fotográficos obtidos. A diminuição do número de indícios observados em 2014 e 2015 poderá estar relacionado com a ausência de reprodução nesses anos ou com a alteração do local de reprodução para fora da área de estudo. Estando o número de prejuízos e de indícios acima do verificado em 2011 (ano em que possivelmente também não houve reprodução, tal como em 2010), não se pode diretamente atribuir o impacte à presença do parque eólico, tanto pela distância dele ao local conhecido, como pelo conhecimento da proliferação de atos de furtivismo (nomeadamente laços) que existem nesta área e que podem por em causa a sobrevivência pontual da espécie.

Dada a fidelidade desta espécie aos locais de reprodução, e existindo indivíduos adultos na área de estudo, os próximos dois anos de monitorização trarão mais informação sobre esta questão.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

6.2. PROPOSTA OU ALTERAÇÃO DE MEDIDAS DE MITIGAÇÃO/COMPENSAÇÃO

Á luz dos resultados obtidos, não existem propostas para medidas de mitigação ou de compensação adicionais.

6.3. ANÁLISE DA ADEQUABILIDADE DOS PROGRAMAS DE MONITORIZAÇÃO EM CURSO

Sendo o lobo uma espécie que ocorre em baixas densidades, nunca será possível avaliar com total exatidão o grau de uso que a espécie faz de uma área. Mais difícil se torna quando a área em questão não é homogénea em termos de habitat.

A melhor forma de analisar os movimentos de uma espécie é através de dados de telemetria, pois é o próprio animal que nos vai “dizendo” as suas áreas preferenciais, os seus ciclos circadianos e as suas rotas de eleição.

Não sendo possível empregar esse tipo de metodologia em monitorizações desta dimensão (por imposições do ICNF), o recurso à análise da presença da espécie através de métodos indiretos torna-se inevitável. A prospeção de indícios (e sua validação genética) é a metodologia que mais facilmente pode ser empregue em áreas heterogéneas em termos de habitat, pois é possível prospetar tanto no meio ou na orla de zonas florestadas, como nas cumeadas de serra desprovidas de coberto arbóreo.

Por outro lado, a armadilhagem fotográfica é mais facilmente empregue em zonas de coberto arbóreo abundante, onde as câmaras possam ser colocadas e disfarçadas em segurança. A área de estudo atual possui este tipo de habitat, mas também é constituída por zonas (quadrículas) quase desprovidas de coberto vegetal, tornando-se muito difícil a utilização da armadilhagem fotográfica homogeneamente por toda a região. Assim, esta metodologia tem sido apenas empregue em zonas com bom coberto arbóreo e junto de áreas onde se tem observado indícios de presença de lobo, para registo fotográfico dos animais e contabilização de um número mínimo de indivíduos.

Com a conjugação destas metodologias, tem sido possível localizar áreas de reprodução, número mínimo de indivíduos e perceber as zonas mais utilizadas pela espécie, quando em conjugação com os dados dos prejuízos no gado comunicados ao ICNF.

7. Referências bibliográficas

- ÁLVARES, F., F. PETRUCCI-FONSECA & E. PEREIRA (2000). O lobo no Parque Internacional Gerês-Xurés. Situação populacional e perspectivas de conservação. *Galemys*, 12 (NE): 223-240.
- CABRAL, M. J.(coord.), ALMEIDA, J., ALMEIDA, P. R., DELLINGER, T., FERRAND DE ALMEIDA, N., OLIVEIRA, M. E., PALMEIRIM J. M., QUEIROZ, A. I., ROGADO, L. & SANTOS-REIS, M. (eds.). (2005) Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal. Instituto de Conservação da Natureza. Lisboa. 660pp.
- CARR, A.P. & A.R. RODGERS (1998). HRE: The Home Range Extension for ArcViewtm – Tutorial Guide. Center for Northern Forest Ecosystem Research. Ontario.
- FERRÃO DA COSTA, G. & ÁLVARES, F. (2008). Plano de Monitorização do lobo-ibérico no âmbito da Ampliação do Parque Eólico de Pena Suar – Ano 2007. (3º Ano da Fase II). Relatório Técnico Final e Análise Global dos Resultados. ENERNOVA-EDP/CIBIO-UP. 46 pp.
- GRUPO LOBO (2012). Plano de Monitorização do Lobo. Parque Eólico de Vila Cova. Relatório do Ano 0. 40pp.
- GRUPO LOBO (2013). Plano de Monitorização do Lobo. Parque Eólico de Vila Cova. Relatório do Ano 1. 45pp.
- GRUPO LOBO (2014). Plano de Monitorização do Lobo. Parque Eólico de Vila Cova. Relatório do Ano 2. 46pp.
- GRUPO LOBO (2015). Plano de Monitorização do Lobo. Parque Eólico de Vila Cova. Relatório do Ano 3. 46pp.
- HONRADO, J. (2003). A vegetação natural de Portugal Continental. pp: 144-166 in Maravalhas, E. (Editor). *As borboletas de Portugal*. Porto.
- KALINOWSKI ST, AP WAGNER, ML TAPER (2006). ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes* 6:576-579.
- LLANEZA, L., M. RICO & J. IGLESIAS (1998). Descripción y resultados de varios métodos de muestreo para la detección y censo de lobo ibérico (*Canis lupus signatus*) en una zona de montaña. *Galemys*, 10 (NE): 135-149.
- MECH, L. D. (1970). *The wolf: ecology and behavior of an endangered species*. Nat. Hist. Press. New York. 384pp.
- MECH, L.D. & L. BOITANI (Eds.) (2003). *Wolves – Behavior, Ecology, and Conservation*. The University of Chicago Press, Chicago. 448pp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MELLERSH, C. S., LANGSTON, A. A., ACLAND, G. M., FLEMING, M. A. et al., (1997). *Genomics*, 46: 326–336.
- NEFF M.W., K.W. BROMAN, C.S. MELLERSH, K. RAY, G.M. ACLAND, G.D. AGUIRRE, J.S. ZIEGLE, E.A. OSTRANDER, J. RINE (1999). A second-generation genetic linkage map of the domestic dog, *Canis familiaris*, *Genetics* 151: 803–820.
- OSTRANDER, E.A.; SPRAGUE, G.F., JR.; RINE, J. (1993). Identification and characterization of dinucleotide repeat (CA)_n markers for genetic mapping in dog. *Genomics*, 16(1): 207-213.
- PEAKALL, R., SMOUSE, P.E., (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- PETRUCCI-FONSECA, F. GUERRA, A.M., FERRÃO DA COSTA, G. E J. EGGERMANN (2007) – Plano de Monitorização da população lupina no âmbito da construção da A24(IP3) e A7(IC5) no Sítio Natura2000 Alvão/Marão – Relatório Final do Ano II. Grupo Lobo e Centro de Biologia Ambiental da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Lisboa, 51pp.
- PETRUCCI-FONSECA, F., GUERRA, A. M. & FERRÃO DA COSTA, G. (2010). Plano de Monitorização da População Lupina, no âmbito da construção da A24 e A7 no Sítio Natura2000 Alvão/Marão. Relatório Final de Projecto. Grupo Lobo / Centro de Biologia Ambiental, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. 88pp.
- PIMENTA, V., I. BARROSO, F. ÁLVARES, J. CORREIA, G. FERRÃO DA COSTA, L. MOREIRA, J. NASCIMENTO, F. PETRUCCI-FONSECA, S. ROQUE & E. SANTOS (2005). Situação populacional do lobo em Portugal: resultados do censo nacional 2002/2003. Instituto da Conservação da Natureza / Grupo Lobo, Lisboa, 158pp.
- PIRES, A.E., AMORIM, I.R., GINJA, C., GOMES, M., GODINHO, I., SIMÕES, F., OOM, M., PETRUCCI-FON-SE-CA, F., MATOS J., BRUFORD M. W. (2009). Molecular structure in peripheral dog breeds: Portuguese native breeds as a case study. *Animal Genetics*, Volume 40, Number 4: 383-392.
- PRITCHARD J.K., STEPHENS M. AND DONNELLY P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data *Genetics* 155: 945–959.
- QUINN, G. P. & KEOUGH, M. J. (2002). *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. 1st Edition. Cambridge University Press, Cambridge. 325pp.
- ROQUE, S., ÁLVARES, F. & F. PETRUCCI-FONSECA (2001). Utilización espacio-temporal y hábitos alimenticios de un grupo reproductor de lobos en el Noroeste de Portugal. *Galemys*, 13 (NE): 179-198.
- SHIBUYA, H. B.K. COLLINS, T.H. HUANG, G.S. JOHNSON (1994). A polymorphic (AGGAAT)_n tandem repeat in an intron of the canine von Willebrand factor gene, *Anim. Genet.* 25.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VAN ASCH, B.; ALVES, C.; SANTOS, L.; PINHEIRO, R.; PEREIRA, L.; GUSMÃO, L.; AMORIM, A.(2010). Genetic profiles and sex identification of found-dead wolves determined by the use of an 11-loci PCR multiplex. *Forensic. Sci. Int. Genet.*, 4(2): 68-72.

