



bioinsight



bíoinsight



Parque Eólico de Bornes – Sobreequipamento

Monitorização do Lobo

Relatório Final (Fase de construção – Ano 2016)



LOOKING
DEEP INTO
NATURE

Agosto de 2016

www.bioinsight.pt

ÍNDICE GERAL

1.	Introdução	4
1.1.	Identificação do projeto e objetivos da monitorização	4
1.2.	Âmbito espacial e temporal do Relatório	5
1.2.1.	Área de Estudo	5
1.2.2.	Período de amostragem	8
1.3.	Enquadramento Legal	8
1.4.	Autoria técnica do relatório	9
2.	Antecedentes	10
2.1.	Antecedentes relacionados com os processos de AIA e Pós-AIA	10
2.2.	Antecedentes relacionados com a monitorização do lobo	10
3.	Descrição dos programas de monitorização	11
3.1.	Parâmetros avaliados	11
3.2.	Locais e frequência de amostragem	12
3.3.	Técnicas e métodos de recolha de dados	13
3.3.1.	Prospecção de indícios de presença	13
3.3.2.	Armadilhagem fotográfica	13
3.3.3.	Recolha de informação sobre lobo	14
3.3.4.	Análises genéticas	14
3.4.	Métodos de tratamento de dados	16
3.4.1.	Prospecção de indícios de presença	16
3.4.2.	Armadilhagem fotográfica	16
3.4.3.	Análises genéticas	16
3.5.	Relação dos dados com características do projeto ou do ambiente exógeno ao projeto	17
3.6.	Critérios de avaliação de dados	17
4.	Resultados	19
4.1.	Apresentação dos resultados e comparação com anos anteriores	19
4.1.1.	Dados de Base	19
4.1.2.	Esforço de Campo	20
4.1.3.	Análises genéticas	21

4.1.4.	Prospecção de indícios.....	23
4.1.5.	Armadilhagem fotográfica	23
4.1.6.	Distribuição do lobo.....	25
4.1.7.	Uso do espaço e organização social do lobo.....	26
4.1.8.	Distribuição e uso do espaço por presas silvestres do lobo	26
4.2.	Discussão, interpretação e avaliação dos resultados obtidos	27
4.3.	Avaliação da eficácia das medidas adotadas para prevenir ou reduzir impactes	27
4.4.	Comparação com os impactes previstos no EIA	27
5.	Conclusões e Recomendações.....	28
5.1.	Síntese da avaliação dos impactes monitorizados	28
5.2.	Proposta ou alteração de medidas de mitigação	28
5.3.	Análise da adequabilidade dos programas de monitorização em curso	28
6.	Referências bibliográficas	29

1. INTRODUÇÃO

1.1. Identificação do projeto e objetivos da monitorização

O presente documento constitui o relatório final relativo às ações de monitorização do lobo-ibérico, realizadas durante a fase de construção do Sobreequipamento do Parque Eólico de Bornes, promovido pela empresa PESB II, Sociedade Unipessoal, Lda, no decorrer do ano de 2016. O projeto de Sobreequipamento do Parque Eólico de Bornes é composto por 5 aerogeradores de 2MW de potência unitária, inseridos num conjunto de 24 aerogeradores já construídos ao longo da cumeada da serra de Bornes.

O programa de monitorização tem como objetivo geral avaliar o impacto que a construção do Sobreequipamento do Parque Eólico de Bornes tem na população lupina local. Assim, e tendo em conta as recomendações dispostas na Declaração de Impacte Ambiental (DIA) os objetivos específicos desta monitorização são:

- Dar continuidade ao Plano de Monitorização do Lobo realizado durante a fase de exploração do Parque Eólico de Bornes entre 2010 e 2012, estimando a distribuição, uso do espaço, número de alcateias e reprodução de lobo na região, de forma a avaliar eventuais impactes da implementação do sobreequipamento do parque eólico;
- Dada a presença irregular do lobo detetada entre 2010 e 2012, avaliar eventuais efeitos exclusão e de barreira também nas presas silvestres do lobo;
- Avaliar potenciais efeitos cumulativos;

De forma a cumprir os objetivos propostos foi delineado um esquema experimental direcionado para o lobo, abrangendo a área do Parque Eólico de Bornes e zonas circundantes (pertencentes aos concelhos de Macedo de Cavaleiros e Alfândega da Fé), num total de 225km². As ações de monitorização prolongar-se-ão, pelo menos, até ao final do primeiro ano de exploração (2017), pelo que os dados obtidos deverão permitir avaliar quais os efeitos decorrentes da construção e início de exploração desta infraestrutura na população lupina local. O presente relatório é referente apenas à fase de construção do sobreequipamento.

De modo a cumprir os objetivos propostos foram realizadas as seguintes tarefas principais:

- Prospeção de indícios de presença de lobo na área de estudo e sua validação genética;
- Armadilhagem fotográfica;
- Inquéritos à população que utiliza a região serrana (ex: pastores, caçadores);

1.2. Âmbito espacial e temporal do Relatório

1.2.1. Área de Estudo

Tendo em conta o território médio de uma alcateia, entre 80 km² e 300 km² em Portugal, (Moreira, 1998; Roque *et al.*, 2001) e a grande mobilidade do lobo, a área de estudo definida abrange não só a zona de implantação do Parque Eólico, mas também outras áreas adjacentes, de forma a permitir uma melhor compreensão da estrutura populacional da espécie, nomeadamente dos grupos familiares que possam ocorrer nesta região. Assim, a área de estudo total abrangeu 225 km² em torno da serra de Bornes, incluindo maioritariamente partes dos concelhos de Macedo de Cavaleiros e Alfândega da Fé, sendo a mesma utilizada durante a definição da situação de referência do Parque Eólico de Bornes (Procesl, 2008) e durante a monitorização da fase de exploração 2010-2012 (Bio3/Grupo Lobo, 2013).

A serra de Bornes apresenta uma altitude máxima de 1200m e uma altitude acima dos 1000m ao longo de mais de 10 km com uma orientação sensivelmente Nordeste–Sudoeste. Do ponto de vista biogeográfico a área de estudo insere-se na Província Carpetano–Ibérico–Leonesa, da Região Mediterrânica, dominada pela bacia hidrográfica do rio Douro, que engloba grande parte de Trás-os-Montes e uma parte significativa da Beira Alta (Costa *et al.*, 1998). A serra de Bornes corresponde a uma área mesomediterrânica sub-húmida a húmida, sendo dominada geologicamente por xistos do complexo xisto–grauvácio (Costa *et al.*, 1998). A vegetação climácica desta zona é constituída por bosques de carvalho-negral (*Quercus pyrenaica*) nas montanhas, sobreiros (*Quercus suber*) nas áreas planálticas e azinheiras (*Quercus ilex*) nas encostas declivosas dos vales mais encaixados, sendo a vegetação ripícola dominada por amieiros (*Alnus glutinosa*), freixos (*Fraxinus angustifolia*) e choupos (*Populus* sp.) (Honrado, 2003). A destruição da floresta climácica por ação de incêndios, pastoreio ou conversão agrícola deu origem a vastas áreas dominadas por matos, onde se destacam os urzais montanos de urze-vermelha (*Erica aragonensis*), os giestais de giesta-branca (*Cytisus multiflorus*) e os medronhais (*Arbustus unedo*) com urze-das-vassouras (*Erica scoparia*) (Honrado, 2003). Observam-se igualmente vastas áreas de vegetação natural convertidas em olivais de produção.

A serra de Bornes possui atualmente amplas áreas florestadas, resultado da manutenção de alguma floresta climácica e de várias campanhas de florestação. Destacam-se os povoamentos de carvalho-negral (*Quercus pyrenaica*), de castanheiro (*Castanea sativa*) e pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*). A rede hidrográfica na área de estudo é ampla e diversificada, com várias linhas de água a terem as suas cabeceiras na serra de Bornes (ribeira da Pedreira, ribeira de Soeima, ribeira do Rabo do Burro, ribeira da Camba, ribeira de Gebelim, ribeira das Fragas do Santo, ribeira de Ginjinho, ribeira de Chacim, ribeira do Inferno, entre outras), constituindo zonas preferenciais para reprodução e abrigo de lobo. De referir ainda a presença na área de estudo de um troço do rio Azibo, um dos afluentes do rio Sabor, que constitui um dos principais corredores ecológicos para o lobo no nordeste de Portugal.

A densidade humana na área de estudo é baixa, estando as atividades humanas centradas no setor primário (agricultura, pecuária, silvicultura), existindo igualmente alguma população empregue no setor terciário (serviços).

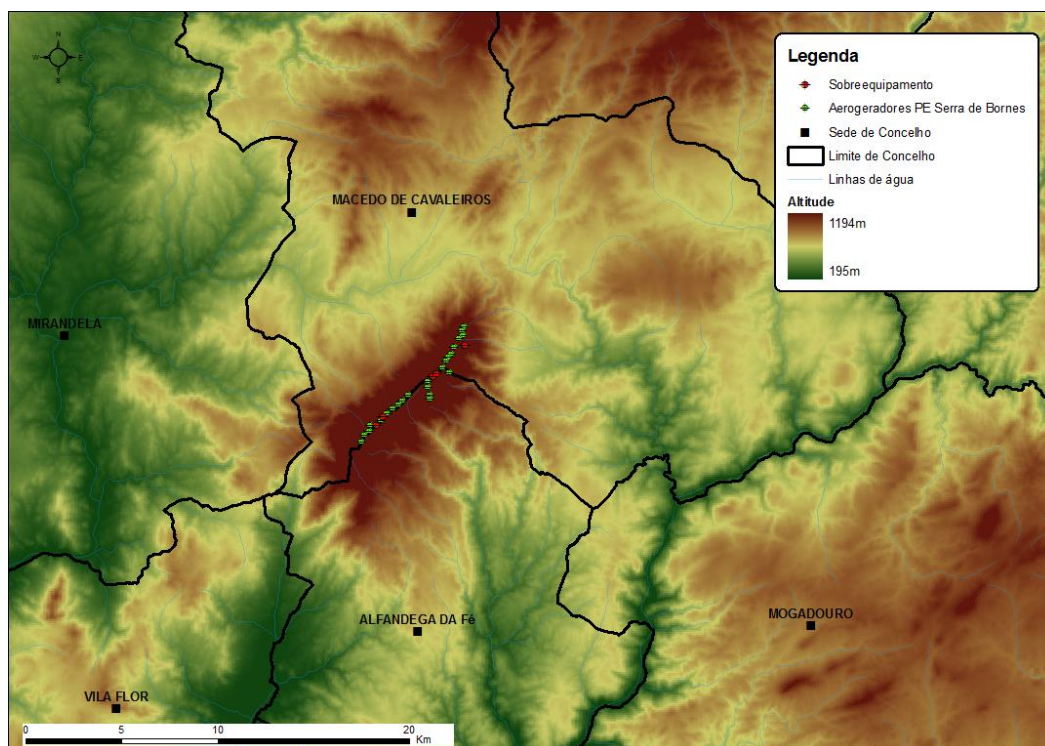


Figura 1 – Localização do Parque Eólico de Bornaes num contexto regional.

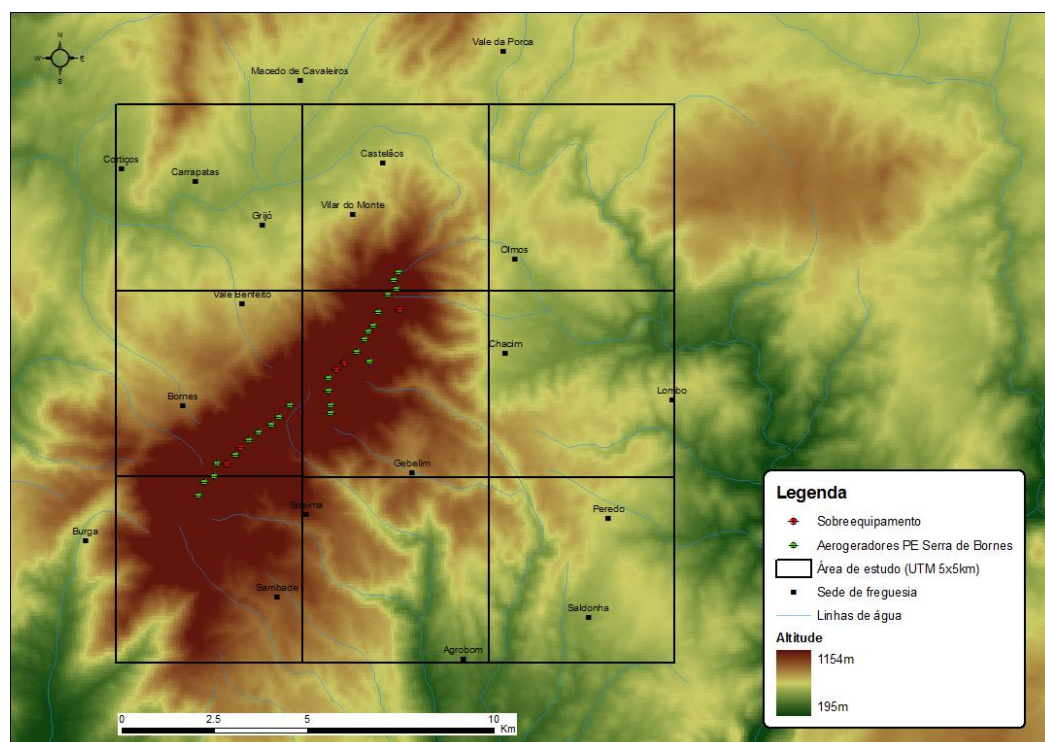


Figura 2 – Área de estudo definida para o presente Plano de Monitorização de Lobo.



Figura 3 – Vista aérea da área de estudo – retirado do Google Earth.



Figura 4 – Registos fotográficos da área de estudo.

1.2.2. Período de amostragem

A monitorização do lobo no âmbito do Sobreequipamento do Parque Eólico de Bornes decorreu de janeiro a abril de 2016, onde as principais tarefas foram realizadas em saídas com 4 dias de duração (Quadro 1). Estas amostragens são relativas ao à fase de construção do Sobreequipamento do Parque Eólico de Bornes.

Quadro 1 - Calendarização dos trabalhos referentes à monitorização do lobo no Parque Eólico de Bornes no ano de 2016. Nas células estão indicados os dias de cada mês em que os trabalhos foram efetuados.

Ano	Mês	Dias de amostragem	Prospecção de indícios	Armadilhagem fotográfica	Inquéritos orais
2016	Janeiro	21 a 24	X	-	X
	Fevereiro	18 a 21	X	X	X
	Março	20 a 23	X	X	X
	Abril	26 a 29	X	X	X

1.3. Enquadramento Legal

O presente relatório de monitorização seguiu a estrutura definida na Portaria n.º 395/2015 de 4 de novembro. O seu conteúdo foi adaptado ao âmbito dos trabalhos efetuados, tal como previsto nesta mesma Portaria, sendo organizado em sete capítulos:

- Capítulo 1: Introdução – descrição dos objetivos, âmbito, enquadramento legal do estudo e autoria técnica;
- Capítulo 2: Antecedentes – referências a documentos antecedentes (AIA e pós-AIA);
- Capítulo 3: Descrição dos programas de monitorização – descrição das metodologias de campo, análise de dados e critérios de avaliação;
- Capítulo 4: Resultados – apresentação e discussão dos resultados obtidos;
- Capítulo 5: Conclusões e recomendações – síntese da avaliação de impactes monitorizados e análise do plano e/ou das medidas de mitigação em curso;
- Capítulo 6: Referências bibliográficas;
- Capítulo 7: Anexos.

O respetivo esquema de apresentação pode ser consultado no Índice, páginas 3 e 4.

1.4. Autoria técnica do relatório

O presente trabalho foi realizado numa parceria entre a Bioinsight e o Grupo Lobo. A equipa técnica responsável pelo presente relatório de monitorização e pelo trabalho de campo é apresentada no Quadro 2.

Quadro 2 – Equipa técnica.

Nome	Formação	Funções
Francisco Petrucci-Fonseca	Licenciada em Biologia Doutorado em Ecologia e Sistemática	Trabalho de campo
Carla Borges Fragoso	Licenciada em Biologia Mestre em Biotecnologia	Análises genéticas
Gonçalo Ferrão da Costa	Licenciado em Biologia Aplicada aos Recursos Animais – Variante terrestres Mestre em Sistemas de Informação Geográfica	Elaboração de relatório Responsável de Projeto
Nuno Salgueiro	Licenciado em Biologia Vegetal Aplicada Pós-graduação em Ciência e Tecnologias de Ambiente	Direção de produção
Miguel Mascarenhas	Licenciado em Biologia Vegetal Aplicada Mestre em Avaliação de Impacte Ambiental	Coordenação geral

Relatório entregue a 4 de agosto de 2016.

Citação recomendada:

BioInsight. 2016. Monitorização do Lobo no Sobreequipamento do Parque Eólico de Bornes. Relatório da Fase de Construção – Ano 2016. Relatório elaborado para Iberwind. Bioinsight, Lda. Lisboa, agosto de 2016. 31 páginas.

2. ANTECEDENTES

2.1. Antecedentes relacionados com os processos de AIA e Pós-AIA

O projeto do Parque Eólico de Bornes, proposto pela empresa PESB - Parque Eólico da Serra de Bornes, S.A., foi sujeito a um procedimento de avaliação de impacto ambiental, do qual resultou uma Declaração de Impacte Ambiental (DIA) Favorável Condicionada em 18 de maio de 2006.

De entre as condicionantes definidas, constou a necessidade da elaboração e concretização de um plano de monitorização específico para o lobo-ibérico, com o objetivo de avaliar o impacto da presença e funcionamento do parque eólico na potencial utilização do espaço na serra de Bornes pelo lobo.

A proposta de ampliação do parque eólico em 5 novos aerogeradores teve uma DIA Favorável Condicionada a 30 de novembro de 2012, onde é pedida a continuidade de vários planos de monitorização, entre os quais o plano do lobo, com metodologias que possibilitem a comparação com os dados recolhidos entre 2010 e 2012 ao abrigo do plano de monitorização inicial.

2.2. Antecedentes relacionados com a monitorização do lobo

A primeira avaliação sobre a presença de lobo na área do PE de Bornes foi realizada em 2007, para estabelecimento de uma situação de referência antes da construção do parque eólico (Procesl, 2008). Posteriormente, e durante a fase de exploração foi realizado um programa de monitorização durante 3 anos completos (2010-2012) (Bio3/Grupo Lobo, 2013), baseado na procura de indícios de presença, contendo validação genética dos mesmos. Os resultados obtidos ao longo dos 3 anos de monitorização mostraram uma quase ausência da espécie na área de estudo: foram recolhidos e analisados geneticamente 40 dejetos potencialmente pertencentes a lobo, todos validados com sendo de cão; em 36 meses foram apenas registados apenas prejuízos de lobo pelo ICNF em freguesias da área de estudo; nenhum registo fotográfico de lobo foi obtido com recurso a armadilha fotográfica pontual; nenhuma estação de escuta revelou a presença de uma alcateia e de um local de reprodução a área de estudo.

Em 15 de Abril de 2016 foi realizada uma reunião na Agência Portuguesa de Ambiente (APA) com a presença da Dra. Rita Ferreira (APA), do Dr. José Paulo Pires (ICNF), do Eng. Afonso Coelho (Iberwind), do Dr. Gonçalo Costa (Bioinsight), da Dra. Sónia Roxo (Bioinsight) e da Dra. Ana Cordeiro (Bioinsight) para avaliação dos planos de monitorização a desenvolver no âmbito do Sobreequipamento do PE Bornes. Em relação ao lobo, e dado que os resultados obtidos foram muito escassos entre 2010-2012, revelando uma fraca utilização da área, decidiu-se que após o 1º ano completo de monitorização após a entrada em exploração do sobreequipamento, seria reavaliada a necessidade de persecução dos trabalhos conforme os resultados obtidos.

3. DESCRIÇÃO DOS PROGRAMAS DE MONITORIZAÇÃO

As metodologias utilizadas no presente programa de monitorização têm por base o Plano de Monitorização do Lobo realizado no âmbito da fase de exploração do PE de Bornes (2010-2012), de modo a que os dados possam ser comparáveis espacial e estatisticamente, tal como indicado na DIA. Foram feitos alguns ajustamentos ao plano inicial de modo a melhorar a quantidade e qualidade dos dados, nomeadamente o aumento e regularidade do número de câmaras fotográficas no terreno e a continua validação genética dos potenciais dejetos observados.

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, rastros, 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; Llana 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. Entre as mais utilizadas atualmente encontram-se as análises genéticas e a armadilhagem fotográfica. Deste modo, o trabalho de campo foi baseado na prospeção de indícios, com a validação genética de todos os dejetos recolhidos, uma vez que a densidade de lobo nesta zona é muito baixa, existindo muitos cães de guarda de rebanhos nas redondezas, o que aumenta a probabilidade de recolha de dejetos de outros canídeos que não o lobo. A armadilhagem fotográfica é utilizada como metodologia acessória e complementar, a qual permite igualmente a recolha de dados sobre a presença e densidade relativa das presas silvestres do lobo (corço e javali).

Assim, o trabalho de campo e as metodologias utilizadas foram dirigidas para avaliar 6 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);
- Presença, densidade e uso do espaço pelas presas silvestres do lobo;

A forma como estes parâmetros possam vir a alterar ao longo do tempo, nomeadamente em comparação com a situação de referência (anos 2010 a 2012), permitirá retirar conclusões mais fiáveis sobre possíveis impactos decorrentes da construção e implementação deste sobreequipamento.

3.2. Locais e frequência de amostragem

Foi criada uma grelha de 9 quadrículas UTM 5x5km em torno da área de construção do PE de Bornes – 225km² (Figura 5). As amostragens e recolha de informação foram realizadas mensalmente, em visitas de 4 dias consecutivos. A grelha de quadrículas UTM 5x5km monitorizadas está dividida em 3 níveis de análise:

- **Nível 1** (impacte potencial elevado): quadrículas que abrangem a área de implantação dos novos aerogeradores;
- **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.

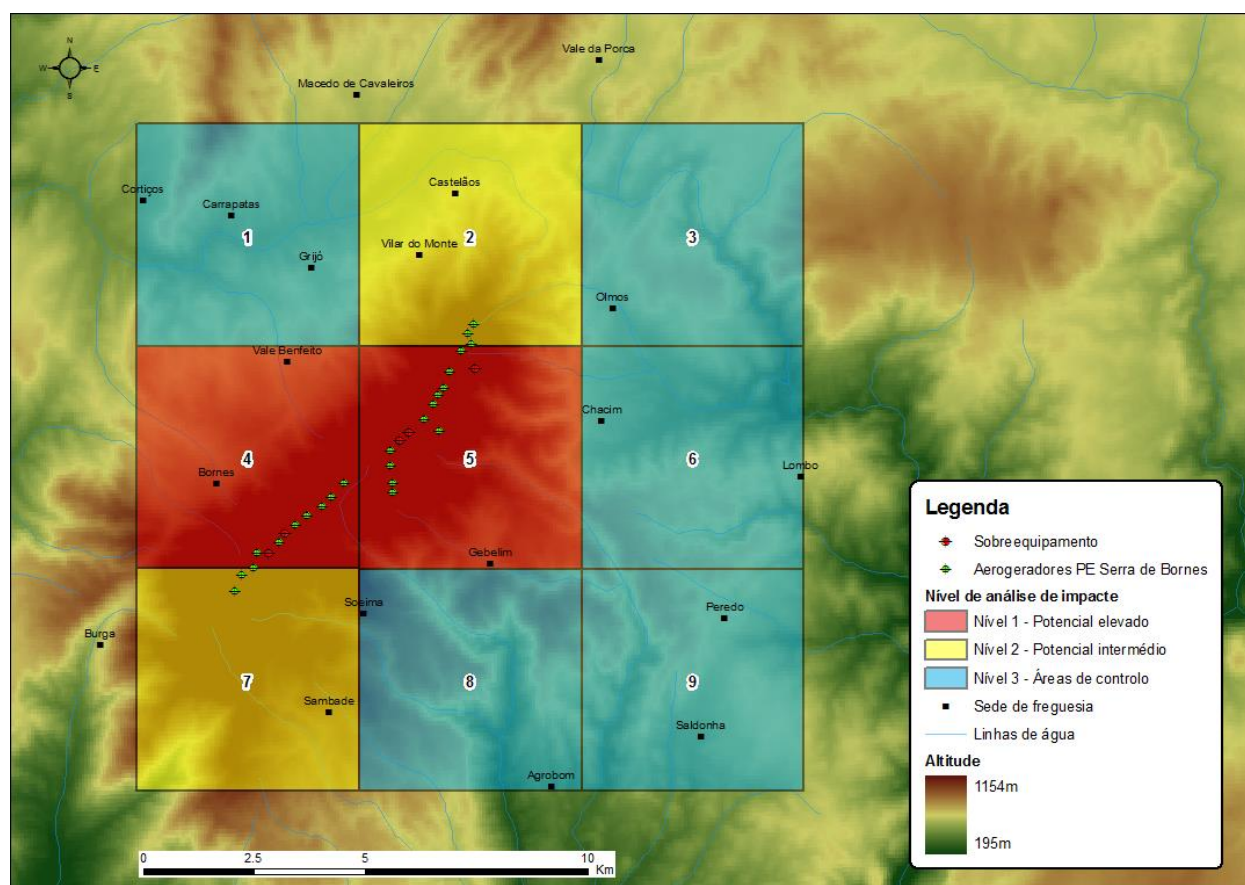


Figura 5 – Grelha de quadrículas UTM 5x5km que compõem a área de estudo e respetivos níveis de análise de impactos.

3.3. Técnicas e métodos de recolha de dados

3.3.1. Prospeção de indícios de presença

Em cada quadrícula UTM 5x5km 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). Foram realizados um a dois percursos por quadrícula, nunca perfazendo menos de 3km de prospeção em cada área de 5x5km. 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. Sempre que possível, e por questões de comparação espacial, os percursos agora amostrados foram os mesmos do período 2010-2012, podendo existir alterações pontuais por questões de inacessibilidade atual desses caminhos.

3.3.2. Armadilhagem fotográfica

De acordo com as solicitações da DIA, foi incluído um desenho experimental com recurso mais intensivo a armadilhagem fotográfica, tanto para análise da presença e uso do espaço pelo lobo, como pelas suas presas silvestres.

Este desenho experimental incluiu a colocação de câmaras dentro de um *buffer* de 2km em torno dos novos aerogeradores previstos para o PE de Bornes, juntamente com câmaras fora deste *buffer* para servirem de controlo. Assim, foram usadas 8 câmaras na zona próxima aos aerogeradores e 4 câmaras em zonas mais afastadas da cumeada da serra.

Tentou-se um equilíbrio entre a necessidade de colocação dos dispositivos numa determinada área e a sua camuflagem para evitar roubos ou danos, algo que se verifica muito durante o emprego deste método, nomeadamente em zonas com muita perturbação humana. A única restrição que se tentou cumprir foi a de nenhuma câmara estar a menos de 1km das restantes.

Estas estiveram ativas no terreno durante um período de cerca de 70 dias consecutivos entre fevereiro e abril de 2016.

Foram usadas câmaras Bushnell TrophyCam (<http://bushnell.com/hunting/trail-cameras>) (Figura 6).



Figura 6. Exemplos de câmaras Bushnell TrophyCam utilizadas no presente estudo.

3.3.3. Recolha de informação sobre lobo

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. Adicionalmente, foi consultada a base de dados do ICNF sobre prejuízos de lobo no gado para o período em estudo, e georreferenciado o local do ataque sempre que essa informação geográfica estivesse disponível.

3.3.4. 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.

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 *ependorf* 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 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 efectuou-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 à 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 e 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 – 1,8µL do eluato da extração. As combinações das reações de multiplex para dejetos são apresentadas no Quadro 3 (uma combinação por linha do quadro).

Quadro 3 - Combinações das reações de multiplex para a amplificação dos 19 *loci* de microssatélites.

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

As condições de PCR para amplificação dos 19 *loci* acima mencionados foram otimizadas e encontram-se esquematizadas no Quadro 4.

Quadro 4 - 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

3.4. Métodos de tratamento de dados

3.4.1. Prospeção de indícios de presença

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 prospetados em cada quadrícula UTM. Este valor foi contabilizado para cada quadrícula ao nível mensal e para a totalidade dos 4 meses de amostragem. Os valores resultantes mostram o nível de utilização de cada zona de 5x5km, 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.

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 3,53km (metade da diagonal de uma quadrícula 5x5km). 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 5x5km.

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 campo.

3.4.2. Armadilhagem fotográfica

Uma vez que é praticamente impossível o reconhecimento individual de cada lobo (ou corço ou javali) presente através de registos fotográficos (pela falta de marcas distintivas), o uso do espaço foi analisado através de um índice relativo de abundância (IRA), semelhante aos IQA para os dejetos encontrados, onde IRA (em cada ponto de amostragem) = nº de registos independentes da espécie / total de dias amostrados. Este valor foi calculado, em ponto, para a totalidade dos 90 dias de amostragem, e as comparações estatísticas serão efetuadas através de testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis.

3.4.3. 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).

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 25µL 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 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).

3.5. 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 (2010-2012) (Bio3/Grupo Lobo, 2013), 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 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 auto-estradas, novos parques eólicos, etc.).

3.6. Critérios de avaliação de 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 5x5km:

Distribuição (em cada quadrícula UTM 5x5km)

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);
 - Registo fotográfico de 2 ou mais lobos juntos;
- Ocorrência de reprodução num dos dois últimos anos;

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)

Durante o presente período de amostragem não é possível confirmara a existência de reprodução, uma vez que a época de nascimento das crias ocorre entre maio e junho e a sua confirmação normalmente só é possível a partir dos finais de julho.

4. RESULTADOS

4.1. Apresentação dos resultados e comparação com anos anteriores

4.1.1. Dados de Base

Durante o último Censo Nacional de Lobo (Pimenta *et al.*, 2005), a presença de lobo na Serra de Bornes foi considerada provável, por apenas terem sido observados alguns poucos dejetos na área. Além disso, a presença da espécie afigurou-se provável devido à presença de presas silvestres, como o corço e o javali, e de zonas menos acessíveis às populações humanas, e também devido à existência de alguns prejuízos comunicados ao ICNF e pela recolha de lobos mortos nas freguesias de Vale Benfeito e Castelãos em 1996.

Também segundo o Censo Nacional de Lobo, foi identificada a presença de uma alcateia na zona nordeste da nossa área de estudo, a qual foi denominada por alcateia de Limãos (Figura 7). Esta alcateia ocuparia parte das freguesias de Chacim, Olmos, Salselas, Castelãos, Vale da Porca e Morais (concelho de Macedo de Cavaleiros), tendo sido confirmado o seu local de criação no vale do Rio Azibo em 2003, através da resposta a estações de escuta. É necessário ressaltar que a confirmação de uma alcateia nesta zona resultou apenas da presumível resposta de crias a uivos simulados, não existindo qualquer resposta de adultos nem tendo sido observada nenhuma área com grandes concentrações de indícios da espécie.

Durante a monitorização da fase de exploração do Parque Eólico de Bornes, realizada durante 3 anos entre 2010 e 2012, não foi confirmada a presença da espécie através de nenhum dos 40 dejetos recolhidos e validados geneticamente. Também nenhuma das estações de escuta realizadas obteve resultados positivos e apenas 4 prejuízos foram comunicados ao ICNF em freguesias limítrofes da atual área de estudo.

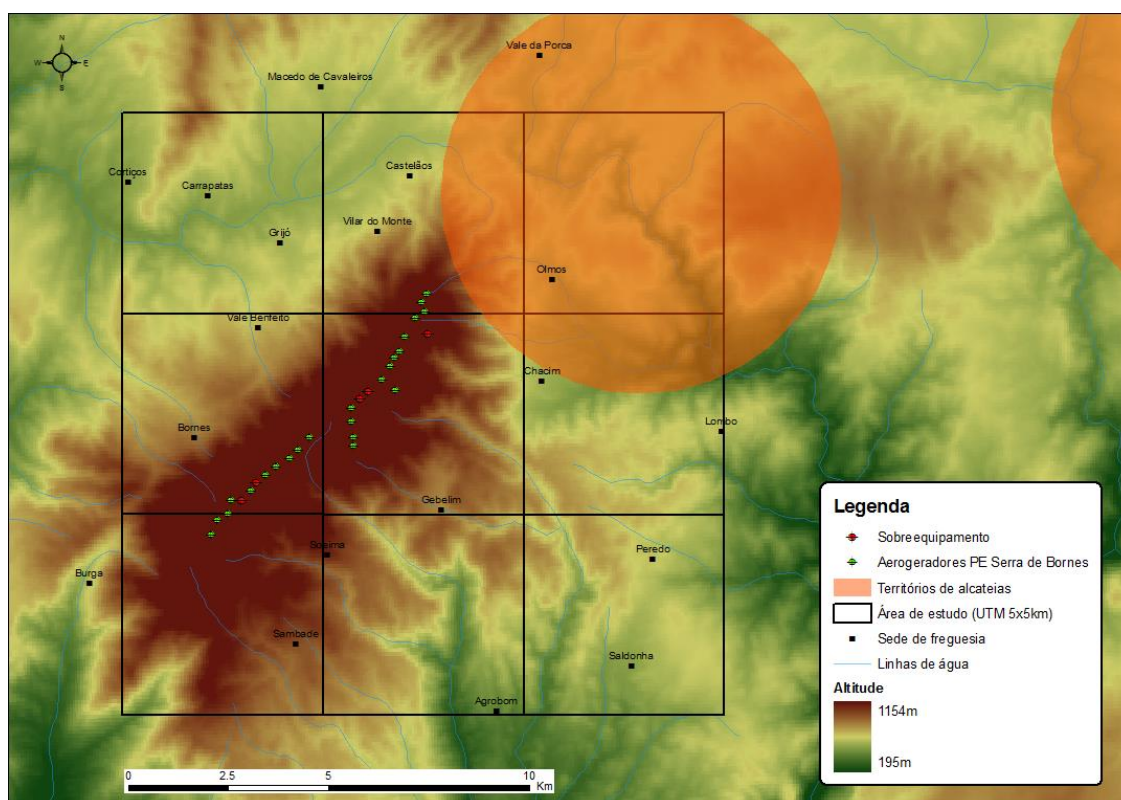


Figura 7. Territórios aproximados das alcateias identificadas no Censo Nacional de Lobo (2002/2003).

4.1.2. Esforço de Campo

O trabalho de campo desenvolveu-se entre janeiro e abril de 2016, através da realização de amostragens mensais. Em média realizaram-se cerca de 6km de prospeção em cada quadrícula de 5x5km, perfazendo um total mensal de 57km na área de estudo, os quais foram replicados mensalmente (Figura 8).

Relativamente à armadilhagem fotográfica, decidiu-se iniciar esta metodologia apenas em meados de fevereiro de 2016, de modo a não coincidir com a época de batidas e montarias na serra de Bornes. Foram colocadas 8 câmaras no terreno, cada uma ativa durante cerca de 70 dias consecutivos (Quadro 5). A sua localização teve em conta um raio máximo de distância aos novos aerogeradores de 5km (Figura 8).

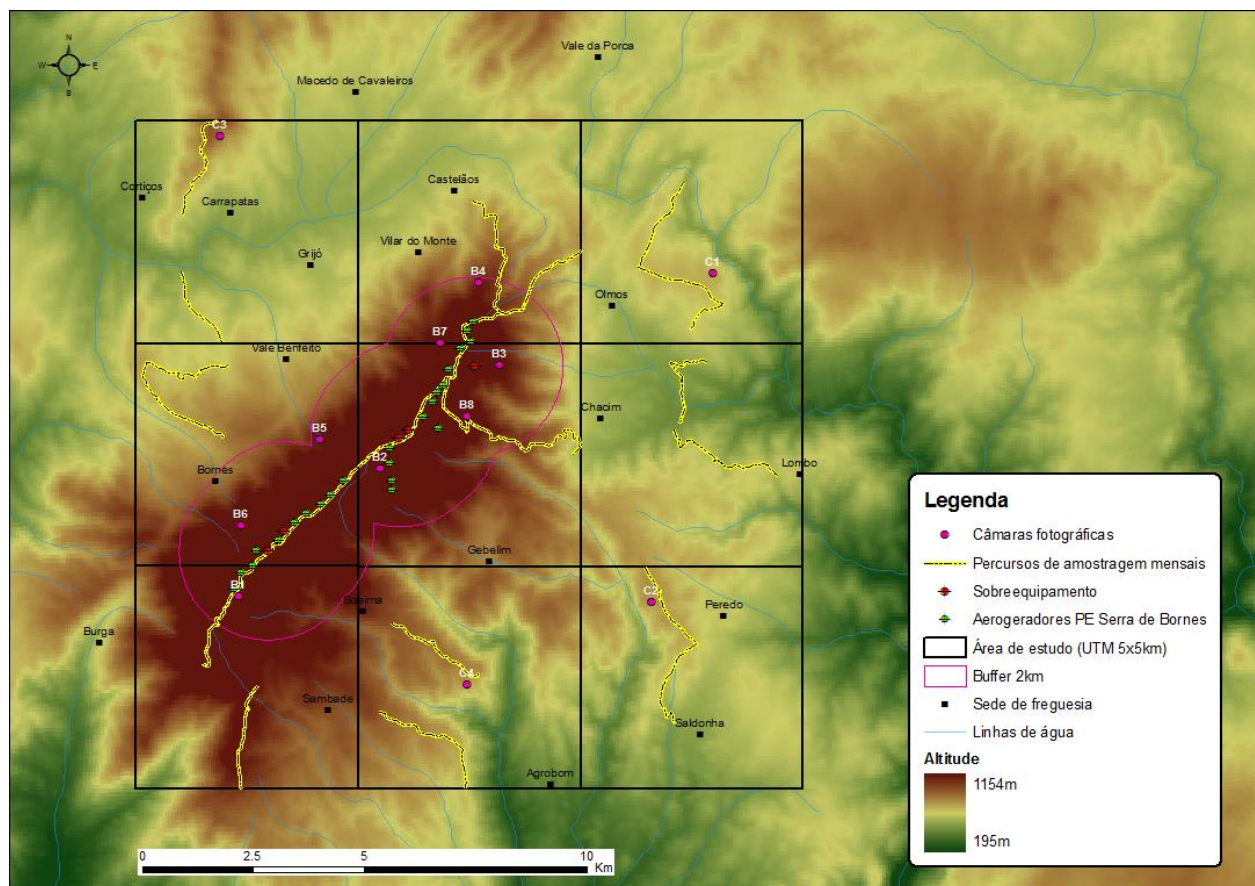


Figura 8. Percursos de amostragem e pontos de armadilhagem fotográfica.

Quadro 5 - Data de colocação e retirada das câmaras fotográficas com sensor de movimento.

ID câmaras fotográficas	Data de colocação	Data de retirada	Dias no campo
B1	19-02-2016	29-04-2016	72 dias
B2	19-02-2016	29-04-2016	72 dias
B3	19-02-2016	29-04-2016	72 dias
B4	19-02-2016	29-04-2016	72 dias
B5	20-02-2016	29-04-2016	71 dias
B6	20-02-2016	29-04-2016	71 dias
B7	20-02-2016	29-04-2016	71 dias
B8	20-02-2016	29-04-2016	71 dias
C1	19-02-2016	29-04-2016	72 dias
C2	20-02-2016	29-04-2016	71 dias
C3	19-02-2016	29-04-2016	72 dias
C4	20-02-2016	29-04-2016	71 dias

4.1.3. Análises genéticas

Durante os 4 meses de trabalho de campo foram recolhidos 9 dejetos potencialmente pertencentes a lobo no interior da área de estudo (Figura 9). A partir destas amostras 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 no Quadro 6.

Quadro 6 - 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
9	Bom – 4	9	100	20	100
	Razoável – 3		66		66
	Mau – 2		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 9 dejetos recolhidos durante o trabalho de campo, foi possível genotipar 6 amostras, o que representa uma taxa de sucesso de 66,66% (Figura 10).

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, lobo, e 6 genótipos de dejetos recolhidos na área de estudo em redor da serra de Bornes (genótipos que apresentam pelo menos 16 dos 19 *loci* completos).

Os parâmetros estatísticos foram obtidos através da análise de genótipos utilizando o *software* GenAlex 6.3 (Peakall *et al.*, 2006). 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 dejetos. Esta análise foi efetuada sobre um universo de 6 dejetos, contra uma base de dados de tecidos de cão e lobo. A distribuição dos indivíduos por 3 populações revelou que todos os dejetos analisados foram associados ao agrupamento dos cães, não existindo a confirmação da presença de lobo em nenhuma das amostras.

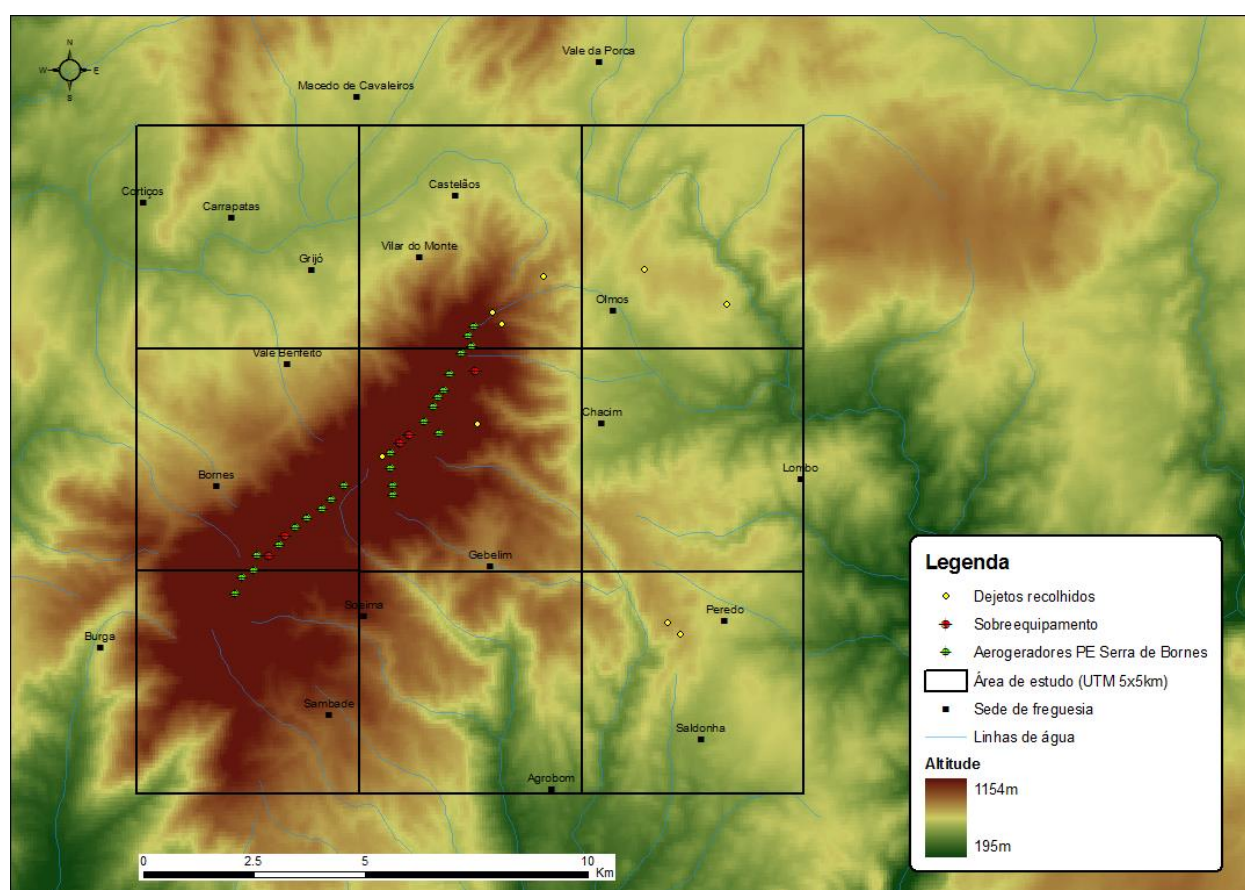


Figura 9. Dejetos recolhidos durante os 4 meses de amostragem (janeiro-abril 2016)

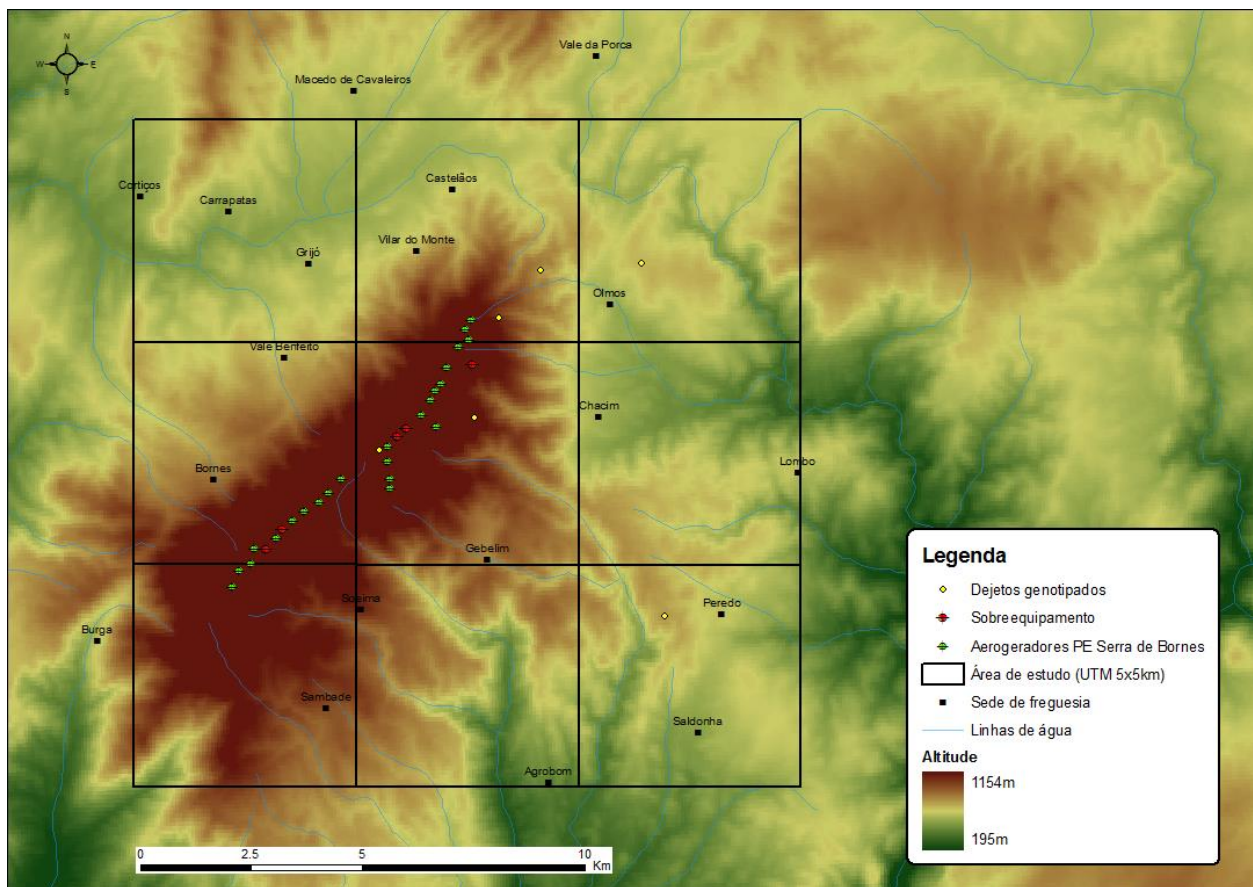


Figura 10. Dejetos para os quais foi possível extrair e amplificar ADN (dejetos genotipados).

4.1.4. Prospecção de indícios

Tendo em conta os resultados das análises genéticas é possível afirmar que não foram identificados quaisquer indícios de lobo no interior da área de estudo durante os 4 meses de amostragem.

4.1.5. Armadilhagem fotográfica

As 8 câmaras colocadas no terreno estiveram ativas cerca de 70 dias consecutivos entre fevereiro e abril de 2016. Conjuntamente obtiveram-se 341 registos de espécies silvestres de animais, não existindo qualquer registo de lobo nos locais amostrados (Quadro 7). Relativamente às presas silvestres deste carnívoro, foram obtidos na globalidade 70 registos de corço (*Capreolus capreolus*) e 172 registos de javali (*Sus scrofa*) (Figuras 11 e 12). Dos registos de corço, 44 foram obtidos dentro do *buffer* de 2km e 26 nas áreas de controlo. Relativamente ao javali, 103 registos foram obtidos na zona próxima aos aerogeradores e 69 nas zonas de controlo. Para além destas espécies, foram ainda obtidos registos de 6 espécies de mamíferos silvestres, juntamente com diversas espécies de aves (Quadro 7, Figura 13)

Quadro 7 – Número de registos de animais silvestres nas câmaras com sensores de movimento

Câmara	Dias campo	Lobo	Corço	Javali	Raposa	Geneta	Fuinha	Texugo	Lebre	Esquilo	Aves
B1	72	0	0	15	2	0	2	0	0	0	2
B2	72	0	26	13	0	0	3	0	0	0	3
B3	72	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
B4	72	0	0	4	0	0	1	1	3	1	0
B5	71	0	9	22	16	0	0	0	0	0	1
B6	71	0	0	38	1	0	0	0	0	0	0
B7	71	0	2	1	0	0	0	1	1	0	6
B8	71	0	7	9	2	5	3	0	0	0	8
Total	572	0	44	103	21	5	9	2	4	1	14
Média	71,5	0	5,50	12,88	2,63	0,63	1,13	0,25	0,50	0,13	1,75
C1	72	0	12	32	10	2	1	0	0	0	0
C2	71	0	6	14	5	0	0	0	2	0	2
C3	72	0	0	5	4	0	0	1	0	1	0
C4	71	0	8	18	3	0	1	0	0	0	3
Total	286	0	26	69	22	2	2	1	2	1	5
Média	71,25	0	6,50	17,25	5,50	0,50	0,50	0,25	0,50	0,25	1,25



Figura 11. Exemplos de registos de corço (*Capreolus capreolus*) obtidos na área de estudo.



Figura 12. Exemplos de registos de javali (*Sus scrofa*) obtidos na área de estudo.



Figura 13. Exemplos de registos de outros mamíferos na área de estudo: lebre (*Lepus granatensis*), raposa (*Vulpes vulpes*), geneta (*Genetta genetta*).

4.1.6. Distribuição do lobo

Ao longo dos 4 meses de amostragem, correspondentes à fase de construção do Sobreequipamento do PE de Bornes não foram identificados quaisquer dejetos potencialmente pertencentes a lobo no interior da nossa área de estudo. Complementarmente, também não foi comunicado qualquer prejuízo de lobo ao ICNF nas freguesias abrangidas pela área de estudo entre janeiro e abril de 2016.

Com estes dados, e segundo os critérios de avaliação adotados, não foi possível detetar a presença da espécie em nenhuma das 9 quadrículas UTM 5x5km que compõem a área de estudo.

O número total de indícios observados (ou a ausência dos mesmos) ao longo de uma amostragem mensal é algo que contrasta determinantemente com outros planos de monitorização de lobo com extensões territoriais similares (ex: Ferrão da Costa, 2013, 2015), onde a presença de uma alcateia e de um local de criação no seu interior produz um número consideravelmente superior de registos de presença da espécie, quer em termos de dejetos observados, prejuízos comunicados ou registos fotográficos dos animais.

Este facto parece evidenciar uma ausência, ou pelo menos uma fraca presença, de lobo nesta região, algo que já vinha a ser detetado desde o ano de 2010 (Bio3/Grupo Lobo, 2013).

4.1.7. Uso do espaço e organização social do lobo

Uma ausência de indícios observados nos percursos de amostragem realizados e de registos fotográficos impossibilita uma análise de uso do espaço pela espécie, sendo a única conclusão possível a retirar dos dados é que durante os 4 meses de amostragem em 2016 existiu uma ausência de uso do espaço na área de estudo por parte do lobo (ou um uso muito reduzido).

Numa espécie como o lobo, que possui densidades bastante baixas (normalmente abaixo de 3 indivíduos por 100km², mesmo em áreas com alcateias estáveis), a ausência de indícios de presença observados não pode confirmar a sua ausência (devido à impossibilidade de encontrar todos os dejetos existentes na área de estudo), apenas demonstrar o fraco uso que a espécie faz da área de estudo em questão, a qual poderá estar, ou não, relacionada com uma verdadeira ausência.

No entanto, e quando em comparação com a situação de referência deste projeto, que corresponde à fase de exploração do PE de Bornes (2010-2012), onde também não foi encontrado nenhum dejetos validado geneticamente como sendo de lobo, o uso atual de 12 câmaras fotográficas durante 70 dias consecutivos sem qualquer registo de lobo vem reforçar a convicção de se tratar de uma área com pouca utilização por parte do lobo.

Apesar de se tratar de uma amostragem limitado no tempo, com os resultados obtidos torna-se claro que presentemente não existe um grupo familiar de lobo que utilize a serra de Bornes e zonas circundantes como área central do seu território. Esta questão poderá ser reavaliada durante a época de reprodução através da resposta a estações de escuta efetuadas.

4.1.8. Distribuição e uso do espaço por presas silvestres do lobo

No que se refere às presas silvestres do lobo, as duas principais presas identificadas foram o corço e o javali. As duas espécies foram registadas tanto na zona mais próxima aos aerogeradores (dentro do *buffer* de 2km) como nas áreas de controlo. Na zona do *buffer* o corço foi registado em 4 dos 8 locais amostrados (50%) enquanto que na zona de controlo a espécie foi registada em 3 dos 4 locais de amostragem (75%). Relativamente ao javali, a espécie foi registada em todos os pontos de amostragem, tanto na zona próxima aos aerogeradores como nas zonas de controlo.

Apesar de um maior esforço de amostragem na zona próxima aos aerogeradores, em média, o número de registos e do Índice Relativo de Abundância (IRA) (nº de registos/ dias de amostragem) foi superior na zona de controlo do que na serra de Bornes, tanto para o corço como para o javali (Quadro 8).

Tratando-se de uma amostragem inicial, estes valores servirão de situação de referência para futuras comparações estatísticas com os resultados da armadilhagem fotográfica, que prosseguirão ao longo do período de exploração em amostragens trimestrais.

Quadro 8 – Registos de corço e javali no interior da área de estudo.

	Média registos		Índice Relativo de Abundância (IRA)	
	Buffer 2km	Controlo	Buffer 2km	Controlo
Corço	5,50	6,50	0,077	0,091
Javali	12,88	17,25	0,180	0,242

4.2. Discussão, interpretação e avaliação dos resultados obtidos

Os resultados obtidos durante a fase de construção do Sobreequipamento do Parque Eólico de Bornes são semelhantes aos encontrados entre 2010 e 2012, evidenciando uma ausência de registos de presença de lobo na serra de Bornes e regiões circundantes. Este resultado é uma tradução da ausência de dejetos de lobo recolhidos na área de estudo e validados geneticamente, de uma ausência de registos fotográficos da espécie nas estações de armadilhagem fotográfica e de uma ausência de prejuízos comunicados ao ICNF no período de tempo em análise (janeiro a abril de 2016).

Mesmo todos os inquéritos realizados a habitantes locais, nomeadamente a pastores e caçadores, revelaram que a observação de lobos não é registada nesta zona há vários anos, não existindo testemunhos recentes da sua presença.

Como já referido anteriormente, existem planos de monitorização de lobo a decorrer noutros pontos do país, com áreas de estudo e metodologias similares (ex: Ferrão da Costa, 2013, 2015) onde, existindo alcateias presentes, o número de indícios é revelador da sua existência. Tal não acontece na área de estudo deste plano e, apesar das baixas densidades em que as populações de lobo ocorrem, não se torna expectável que exista qualquer alcateia a utilizar a atual área monitorizada (nem mesmo a designada alcateia de Limãos no censo nacional de lobo 2002/2003).

Assim, e tendo em conta a comparação com a situação de referência de 2010-2012, é possível afirmar que a construção deste sobreequipamento não teve impacto na população lupina local. Dada a proximidade com áreas de presença de lobo mais regular (Parque Natural de Montesinho e serra da Nogueira) é expectável que a área da serra de Bornes possa ser utilizada por animais dispersantes vindos dessas zonas. Porém, nenhum evento foi registado nestes 4 meses de monitorização (tal como entre 2010 e 2012), embora não seja de excluir que durante o prosseguimento da monitorização isso venha a acontecer.

4.3. Avaliação da eficácia das medidas adotadas para prevenir ou reduzir impactes

Relativamente ao lobo, as medidas da DIA que podiam prevenir ou reduzir impactes resultavam do condicionamento dos trabalhos com maior grau de perturbação, devendo estes ocorrer fora do período de reprodução (entre abril e agosto) e desenvolverem-se 1 hora após o nascer do sol até 1h antes do por-do-sol. Uma vez que a presença de lobo não foi detetada durante a fase de construção, nem durante a situação de referência, correspondendo ao triénio 2010-2012, esta avaliação de eficácia não é possível realizar.

4.4. Comparação com os impactes previstos no EIA

No Estudo de Impacte Ambiental deste sobreequipamento não foram previstos impactes significativos sobre a população lupina, quer durante a fase de construção quer durante a fase de exploração. E de facto, os resultados obtidos durante a fase de construção apresentados neste relatório corroboram essas expectativas.

5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Os resultados obtidos durante a fase de construção do Sobreequipamento do Parque Eólico de Bornes, realizados entre janeiro e abril de 2016, evidenciaram uma ausência de confirmação da presença de lobo na área de estudo, sendo este um resultado similar ao observado entre 2010 e 2012 durante a monitorização da fase exploração do PE de Bornes. Como tal, não foram identificados quaisquer impactes sobre a população lupina decorrentes da construção destes novos aerogeradores na serra de Bornes.

5.1. Síntese da avaliação dos impactes monitorizados

Durante a fase de construção deste sobreequipamento, tentou-se identificar possíveis efeitos de repulsa ou de barreira sobre a população lupina local. Contudo, a ausência de dados de presença de lobo ao longo de todo o período de amostragem, de forma similar ao que tinha ocorrido entre 2010 e 2012, não permitem corroborar a existência desses impactes. Todos os resultados apontam para que a construção destes novos 5 aerogeradores não tenha tido nenhum impacto significativo na população lupina, uma vez que esta já era muito residual nos últimos anos.

Relativamente às presas silvestres do lobo, os resultados ainda são escassos (correspondentes apenas a uma amostragem de 70 dias de armadilhagem fotográfica), onde os dados confirmam a presença de corço e javali em toda a área de estudo (nomeadamente na zona mais próxima aos novos aerogeradores), existindo valores médios para os Índices Relativos de Abundância superiores nas zonas de controlo em relação à serra de Bornes. No entanto, só com o decorrer da monitorização e com o acumular de amostragens e de registos é que se poderá ter uma validação estatística robusta para quaisquer diferenças existentes entre a zona dos aerogeradores e as zonas de controlo, e poder tentar analisar eventuais discrepâncias.

5.2. Proposta ou alteração de medidas de mitigação

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

5.3. Análise da adequabilidade dos programas de monitorização em curso

O atual plano de monitorização corresponde a um incremento metodológico em relação ao plano desenvolvido durante a fase de exploração do PE de Bornes, nomeadamente devido à inclusão da armadilhagem fotográfica de modo mais intensivo. Uma vez que a área de estudo atual é igual à da situação de referência de 2010-2012 e que todos os indícios potencialmente de lobo são validados geneticamente, a comparação de resultados entre as duas fases está assegurada. Como tal, é nosso entendimento que o presente plano e metodologias adotadas são as indicadas para a avaliação dos potenciais impactes existentes, podendo apenas questionar a necessidade da continuidade desta monitorização caso os dados de lobo continuem a ser inexistentes.

6. 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.
- BIO3/GRUPO LOBO (2011). Monitorização do lobo-ibérico. Parque Eólico da Serra de Bornes. Relatório 3 (Fase de Exploração), 40pp.
- BORGES, C. (2009). Genotipagem de lobo ibérico em cativeiro utilizando *loci* de microssatélites. INETI. Grupo de Biologia Molecular.
- CARR, A.P. & A.R. RODGERS (1998). HRE: The Home Range Extension for ArcView™ – Tutorial Guide. Center for Northern Forest Ecosystem Research. Ontario.
- Costa, J.C., Aguiar, C., Capelo, J.H., Lousã, M. & Neto, C. (1998). Biogeografia de Portugal Continental. *Quercetea*, 0: 5-56.
- FERRÃO DA COSTA, G. (2013). Plano de Monitorização do lobo-ibérico. Parque Eólico da Serra do Barroso III. Relatório Final de Projecto. Fase de Exploração. ENEOP2. 60 pp.
- FERRÃO DA COSTA, G. (2015). Plano de Monitorização do lobo-ibérico. Parque Eólico da Serra do Barroso III – Reforço de Potência. Relatório Anual – Ano 1. ENEOP2. 64 pp.
- GUYON R, LORENTZEN TD, HITTE C, KIM L, CADIEU E, et al. (2003). A 1-Mb resolution radiation hybrid map of the canine genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 5296-5301.
- 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. 448 pp.
- MELLERSH, C. S., LANGSTON, A. A., ACLAND, G. M., FLEMING, M. A. et al., (1997). *Genomics*, 46: 326–336.
- MOREIRA, L. (1998). *O Lobo - Património Cultural Transmontano*. João Azevedo Editor, Mirandela, Portugal.
- 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.
- 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.

- 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.
- PROCESL (2008). Plano de Monitorização do Lobo – Parques Eólicos da Serra de Bornes. Relatório Final. Lisboa, 47pp.
- QUINN, G. P. & KEOUGH, M. J. (2002). Experimental Design and Data Analysis for Biologists. 1st Edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- 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.
- 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.

(página em branco)