



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação

**Efeito mitigador das barreiras anti-atropelamento de anfíbios
na estrada municipal EM 529.**

João Francisco Amaro Cordeiro

Orientador(es) | Paulo Sá Sousa

Évora 2019



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação

**Efeito mitigador das barreiras anti-atropelamento de anfíbios
na estrada municipal EM 529.**

João Francisco Amaro Cordeiro

Orientador(es) | Paulo Sá Sousa

Évora 2019



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

- Presidente | Carla Pinto Cruz (Universidade de Évora)
- Vogal | João Eduardo Rabaça (Universidade de Évora)
- Vogal-orientador | Paulo Sá Sousa (Universidade de Évora)

UNIVERSIDADE DE ÉVORA

MESTRADO EM BIOLOGIA DA CONSERVAÇÃO

DISSERTAÇÃO

Efeito mitigador das barreiras anti-atropelamento de anfíbios
na estrada municipal EM529



JOÃO FRANCISCO AMARO CORDEIRO

ORIENTADOR: PAULO SÁ SOUSA

ÉVORA, 2019

Agradecimentos

A realização desta dissertação só possível graças ao Professor Paulo Sá Sousa, que propôs o seu tema e idealizou este trabalho. Que enquanto orientador esteve sempre disponível e com afinco para me ajudar, guiar, motivar e acima de tudo assentar na terra, para que passo a passo esta dissertação fosse concluída. Por isso, gostaria de expressar-lhe a minha gratidão.

Quero agradecer também a todos os docentes e palestrantes do Mestrado em Biologia da Conservação, em especial aos Profs. Paulo Sá Sousa e João E. Rabaça, que foram quem mais acompanhou e enriqueceu este período de aprendizagem.

Todos os colegas e amigos que me acompanharam, tanto durante a Licenciatura, tanto durante o Mestrado, não podiam ser esquecidos, e felizmente é impensável referi-los a todos, mas ainda assim, ficam as minhas palavras de apreciação ao Francisco Barreto, José Ribeiro, João Alves, Bruno Natário e Mário Saramago. Obrigado!

Finalmente, quero expressar à minha família um agradecimento gigante por apoiarem, suportarem e aplaudirem todo o meu percurso académico. Em especial, tenho de destacar o meu pai, a minha mãe e irmã, por todo o carinho, auxílio e encorajamento. Ainda agradecer em particular ao meu pai que me acompanhou em todas e mais algumas saídas de campo para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

Índice

Resumo	6
Abstract	7
Introdução	8
Migrações sazonais de anfíbios	8
Efeitos das estradas nas comunidades de anfíbios	11
Tendências da mortalidade por atropelamento	15
Monitorização rodoviária da mortalidade de anfíbios	17
Barreiras mitigadoras para anfíbios	20
Objetivo do presente estudo	23
Materiais e Métodos	24
Área de estudo.....	24
Espécies de anfíbios potencialmente ocorrentes.....	25
Barreiras mitigadoras para anfíbios	27
Amostragem de anfíbios – e recolha de dados.....	27
Resultados e Discussão	29
Bibliografia	40
Anexos	47

Índice de figuras

Figura 1 – Área de estudo envolvente à estrada. A negro está realçado o segmento de estrada em análise, é possível também observar o charco/represa adjacente à estrada. (Fonte: Google Earth)	24
Figura 2 – Estrada com barreiras colocadas longitudinalmente.....	27
Figura 3 – Esquema pormenorizado do segmento de estrada em estudo. A verde o transecto rodoviário ZEB (zona de estrada entre barreiras); a vermelho o transecto rodoviário ZEN (zona de estrada normal); a cinzento as barreiras ZBB (zona de berma com barreira) onde eram realizados transectos pedestres. A azul estão identificados os dois sentidos utilizados na identificação do sentido de deslocamento/proveniência dos anfíbios (MA ou AM).....	28
Figura 4 - Número de indivíduos identificados em cada troço de estrada amostrado: ZBB – zona de berma com barreira; ZEB – zona entre barreiras; ZEN – zona de estrada normal.....	30
Figura 5 - Número de indivíduos mortos e vivos encontrados nas duas zonas de estrada: ZEN - zona de estrada normal; ZEM – zona de estrada mitigada (zona entre barreiras e zona de berma com barreira (ZEM = ZEB + ZBB)).....	31
Figura 6 - Sentido de deslocamento dos indivíduos encontrados na estrada e nas barreiras: AM – sentido Arraiolos – Montemor; MA – sentido Montemor – Arraiolos (Figura 3).	32
Figura 7 - Anfíbios “retidos” nas barreiras: a) dois sapos-corredores a deslocarem-se ao longo da base das barreiras; b) anfíbio a deslocar-se na barreira a dirigir-se para um túnel onde poderá atravessar a estrada.	34
Figura 8 – Meios detectados para ultrapassar as barreiras: a) utilização da vegetação pendente ou crescida na base da barreira; b) utilização da falha/afastamento entre blocos; c) uso da aderência por coesão para trepar directamente a barreira húmida (<i>Triturus pygmeus</i>).	35
Figura 9 – Barreiras colocadas ao longo da estrada; com destaque para o pormenor da construção em que o topo das barreiras está ao nível da estrada.	36
Figura 10 – Diferentes estados de degradação dos anfíbios atropelados, onde em alguns casos não é possível identificar o sentido de deslocamento a) e noutros é b).	38

Índice de tabelas

Tabela I - Espécies de anfíbios potencialmente ocorrentes na área de estudo (Loureiro <i>et al.</i> , 2008; Maravalhas & Soares, 2018), Estatutos de Conservação (IUCN, 2019) e Anexos da Convenção de Berna e Directiva Habitats.	26
Tabela II – Número de indivíduos de cada espécie identificados na área de estudo (troço da Estrada Municipal 529) entre outubro de 2018 e abril de 2019.	29

Efeito mitigador das barreiras anti-atropelamento de anfíbios na estrada municipal EM529

Resumo

Os anfíbios são o grupo de animais mais afetado por mortalidade por atropelamento. A principal medida utilizada para mitigação é a implementação de barreiras anti-atropelamento, que impedem a passagem dos anfíbios para as estradas, e quando associadas a túneis ou outras estruturas permitem o atravessamento em segurança. No presente estudo foi avaliado o efeito mitigador das barreiras anti-atropelamento implementadas no âmbito do projeto LIFE LINES, numa estrada secundária onde previamente se detetou um *hotspot* de mortalidade de anfíbios. Através de transectos rodoviários e pedestres, as barreiras, a zona de estrada mitigada e uma zona de estrada sem qualquer intervenção, foram monitorizadas. As barreiras provaram ser um meio eficiente de prevenção de mortalidade, pois, conseguem impedir eficientemente o acesso da maioria dos anfíbios à estrada. Contudo, a manutenção e supervisão destas estruturas é fundamental para o seu funcionamento.

Palavras-chave: Anfíbios; Anuros; Caudados; Atropelamento; Mortalidade; Barreiras; Mitigação; Estradas; Conservação.

Mitigation effect of the barriers for no amphibian road-kill in the secondary road EM529.

Abstract

Amphibians are the group of animals most affected by road-kill. The main measure used for mitigation is the implementation of barrier walls/fences that prevent the passage of amphibians to the roads, and when associated with tunnels or other structures allow a safe crossing. In the present study, the mitigating effect of the barrier walls for no road-kill implemented under the LIFE LINES project on a secondary road where an amphibian mortality hotspot had previously been detected was evaluated. Through vehicle and walking surveys, the barrier walls system, the mitigated road zone and a road zone without any intervention were monitored. Barriers have proven to be an effective means of preventing mortality by effectively preventing most amphibians from accessing the road. However, the maintenance and supervision of these structures are fundamental to its success.

Key words: Amphibians; Anuran; Caudate; Road-kill; Mortality; Barrier walls; Mitigation; Roads; Conservation.

Introdução

Migrações sazonais de anfíbios

A grande maioria dos anfíbios (*Vertebrata: Lissamphibia*) das regiões temperadas, sejam eles caudados (salamandras e tritões), sejam eles anuros (sapos e rãs) requerem zonas de hibernação e/ou de estivação para sobreviverem aos longos períodos de frio e/ou de calor; usam corpos de água para a sua reprodução e frequentam áreas ricas em presas para alimentação. Para algumas espécies (sobretudo aquáticas) ambos estes locais de reprodução e de hibernação/estivação podem estar relativamente próximos ou mesmo existirem em simultâneo no mesmo sítio. Todavia, normalmente estes habitats terrestres e aquáticos ocorrem espacialmente separados, pelo que os indivíduos têm de efetuar movimentos migratórios (Sinsch, 1990; Russell *et al.*, 2005). Ora o movimento migratório afigura-se um processo fundamental para todos os anfíbios; importante na aptidão individual, fluxo genético, seleção natural, adaptação, dinâmicas metapopulacionais, persistência das populações e na distribuição das espécies (Pittman *et al.*, 2014).

Devido ao facto de utilizarem habitats disjuntos de reprodução e de manutenção vital e de mostrarem uma elevada fidelidade a estes locais, os anfíbios são frequentemente considerados fracos dispersores (Smith & Green, 2005). Mas, sob condições meteorológicas favoráveis, os anfíbios têm a capacidade de realizar migrações de centenas de metros ou de vários quilómetros (principalmente os anuros), para colonizar novos territórios ou conectar diferentes populações (Smith & Green, 2005; Kovar *et al.*, 2009).

Cada espécie reage diferentemente aos fatores ambientais. No caso dos anfíbios, o fator meteorológico mais importante é a precipitação, a qual influencia diretamente a magnitude e capacidade de movimentação dos indivíduos. Secundariamente a temperatura ativa ou inativa o ritmo de atividade sazonal e diária dos anfíbios (Russell *et al.*, 2005; Todd & Winne, 2006). Isto acontece também porque anatómica e fisiologicamente os anfíbios têm uma pele nua que é muito permeável à água: portanto ficam muito suscetíveis à dissecação por evaporação da água corporal (Russell *et al.*, 2005). Assim, os anfíbios normalmente apresentam períodos limitados de migração que ocorrem sazonalmente durante os períodos

húmidos (Sinsch, 1990). Ademais, enquanto animais ectotérmicos, os anfíbios ficam ainda limitados a determinados períodos com condições ambientais características, pois, necessitam de regular comportamentalmente a sua temperatura corporal, de maneira a evitar temperaturas ambientais muito baixas ou muito altas (Sinsch, 1990; Russell *et al.*, 2005). Outro aspeto notório é o facto das migrações ocorrerem principalmente durante a noite, mesmo quando as condições diurnas são aparentemente adequadas; porventura este é um modo de evitar os predadores diurnos (Todd & Winne, 2006). Perante o antes exposto, os anfíbios mostram migrações que acabam por ser sincronizadas, noturnas e por vezes massivas, as quais surgem desencadeadas por determinadas condições ambientais, onde e quando estes batráquios conseguem conjugar o balanço hídrico e a regulação da temperatura que permitem a atividade migratória (Russell *et al.*, 2005). Assim, independentemente das distâncias das migrações serem curtas ou mais extensas, elas requerem sofisticados mecanismos comportamentais para desencadear a movimentação dos indivíduos.

Apesar dos anfíbios serem geralmente considerados fracos dispersores, derivado às condicionantes requeridas para o sucesso das suas dispersões e migrações, na verdade, as suas capacidades de dispersão sugerem que ocasionalmente indivíduos migrantes conseguem conectar populações separadas por dezenas de quilómetros (Smith & Green, 2005; Sinsch, 2014). Obviamente que o tipo e a qualidade da paisagem entre os habitats alvo das migrações podem afetar o seu sucesso migratório (Smith & Green, 2005). É importante salientar que as distâncias e direções dos movimentos dos anfíbios, principalmente nos indivíduos juvenis, estão regra geral mal estudadas, devido à ausência de técnicas adequadas. Facto corroborado quando se realizam estimativas genéticas das distâncias entre populações locais, que não suportam as distâncias geográficas que se pensavam existir entre elas, demonstrando constantemente que os métodos convencionais utilizados nessas estimativas normalmente subestimam as capacidades de dispersão dos anfíbios (Sinsch, 2014). Associam-se os juvenis, como os principais dispersores de longas distâncias nas populações anfíbios, e a manutenção das suas populações é extremamente sensível à sobrevivência desta fase após metamorfose do seu ciclo de vida. A deslocação inicial para os habitats terrestres pode constituir um substancial gargalo ecológico e demográfico, principalmente em paisagens fortemente alteradas e fragmentadas (Pittman *et al.*, 2014). As elevadas taxas de

deslocação dos juvenis ajuda-os a escapar às altas taxas de predação, perto dos charcos donde emergem, a minimizar os efeitos de densidade e a localizar novos habitats adequados (Sinsch, 1997; Pittman *et al.*, 2014). Em geral, pode assumir-se que os juvenis deixam os sítios natais com uma baixa resposta em relação ao habitat e com altas taxas de mobilidade e movimento, e gradualmente mudam o seu comportamento para responder mais à qualidade do habitat e com menores taxas de deslocação (Pittman *et al.*, 2014; Sinsch, 2014). Só depois dos juvenis terem escolhido o local onde se vão estabelecer, a fase inicial do movimento migratório termina, e eles estabelecem as respetivas áreas vitais (Pittman *et al.*, 2014). A maioria dos juvenis emigra do charco donde emergiu após metamorfose e percorre apenas pequenas distâncias. Aí os indivíduos tenderão a regressar para procriar, apenas alguns desses juvenis irão sair dessa população local e colonizar uma nova área. Portanto, apenas uma pequena fração da coorte de juvenis irá dispersar, carregando os seus genes, enquanto os restantes irão desenvolver-se em adultos filopátricos (Sinsch, 2014). A qualidade da parcela/área natal poderá influenciar a probabilidade dos juvenis recém-metamorfoseados se fixarem dentro ou fora dela. Quando os indivíduos estabelecem a sua área vital, os movimentos individuais podem ocorrer diariamente, consistindo em movimentos curtos que cobrem pequenas e médias distâncias entre as zonas de alimentação e de abrigo (Pittman *et al.*, 2014; Sinsch, 2014). Os refúgios terrestres tendem a ser zonas que oferecem proteção contra a dissecação, a predação e com acesso a presas (Daversa *et al.*, 2012).

Enquanto a orientação de movimento dos juvenis é menos concentrada e irradia um pouco para todos os lados, não correlacionada com os habitats terrestres de qualidade; as migrações de anfíbios adultos não são aleatórias e ocorrem grandemente direcionadas para habitats de alta qualidade (Pittman *et al.*, 2014; Sinsch, 2014). Aliás, após a maturidade sexual ser atingida, os movimentos dos anfíbios passam a ser mais restritos, estabelecendo-se entre as zonas de reprodução donde os indivíduos emergiram e os seus refúgios terrestres (Kovar *et al.*, 2009). As populações adultas de anfíbios residem em habitats terrestres normalmente até 300 m, mas podem afastar-se até cerca de 1000 m de distância dos seus habitats aquáticos, onde se reproduzem (Daversa *et al.*, 2012; Pittman *et al.*, 2014). Ademais, dentro da sua mancha de habitat, os movimentos dos anfíbios incluem as migrações anuais entre locais importantes, como os locais de

reprodução, os habitats temporários e as áreas de estivação e/ou de hibernação (Sinsch, 2014). A maioria dos animais adultos mostra fidelidade ao local de reprodução e, portanto, eles apresentam migrações sazonais entre estes habitats aquáticos e os seus refúgios terrestres, normalmente confinados às bacias hidrográficas dos respectivos charcos mais frequentados (Russell *et al.*, 2005; Daversa *et al.*, 2012; Sinsch, 2014). Durante as épocas de reprodução, os indivíduos adultos tendem a agregar-se nos charcos de reprodução, através de uma migração inicial (centrípeta) e, depois da reprodução, eles voltam a fazer uma migração (centrífuga) para os refúgios terrestres onde permanecem durante o verão (e/ou inverno, conforme a região climática).

Efeitos das estradas nas comunidades de anfíbios

As estradas afetam tanto as componentes abióticas como bióticas existentes na paisagem, por exemplo: mudam as dinâmicas populacionais, alteram o fluxo de matéria e dos recursos; e facilitam a introdução de espécies exóticas (Coffin, 2007). Os efeitos das estradas nas suas áreas adjacentes são variáveis, mudando no espaço e no tempo. A denominada “zona de efeito da estrada” é determinada pelas faixas adjacentes da paisagem onde se verificam efeitos ecológicos determinados pela rodovia (Coffin, 2007; Colino-Rabanal & Lizana, 2012), ou seja, onde há um efeito combinado de todos os impactos (ecológicos/rodoviários) nas populações de anfíbios.

As estradas afetam as componentes abióticas das paisagens como a hidrologia, os mecanismos de sedimentação, o transporte de detritos, a química do ar e da água, o microclima e os níveis de barulho, vento e luz (Trombulak & Frissell, 2000; Coffin, 2007). O escoamento da água e dos sedimentos constituem os principais processos físicos pelos quais as estradas impactam nos sistemas aquáticos (Forman & Alexander, 1998). As estradas funcionam como fonte de água, porque durante as chuvas a água escorre na sua superfície (Coffin, 2007). Acelerando os fluxos de água e o transporte de sedimentos, aumentam os níveis de inundação, causam alterações na erosão e na deposição de sedimentos, degradando os ecossistemas aquáticos (Forman & Alexander, 1998; Trombulak & Frissell, 2000; Coffin, 2007). O transporte de sedimentos ao longo dos rios altera a sua morfologia, aumenta a sua deposição e turbidez das águas (Coffin, 2007). O

aumento da sedimentação inicial, durante a construção de uma estrada e a erosão posterior também parece problemático. Verificaram-se reduções de densidades de anfíbios e das suas presas em ribeiras que estiveram sujeitas a um aumento de sedimentos oriundos das estradas (Andrews *et al.*, 2008).

A elevada permeabilidade da pele dos anfíbios, com funções osmorreguladoras e respiratórias, exacerba a suscetibilidade destes animais diante a alteração das condições de microhabitat adjacente às estradas (Andrews *et al.*, 2008; Colino-Rabanal & Lizana, 2012). Por exemplo, a poluição por químicos tóxicos emitidos pelos gases de escape dos veículos, ou por produtos usados para manutenção das estradas, ou aplicados em campos agrícolas, podem atuar como disruptores endócrinos, reduzindo a capacidade reprodutora dos anfíbios e a respetiva sobrevivência (Andrews *et al.*, 2008). Assim, os contaminantes das estradas entram na paisagem circundante através do escoamento de águas (Coffin, 2007). O escoamento de poluentes altera a química dos solos, os quais depois podem ser absorvidos por plantas e/ou alterar os ecossistemas aquáticos. A água contaminada, que resulta destes escoamentos, mostra ter nas suas análises de qualidade, normalmente níveis alterados de metais pesados, salinidade e oxigénio dissolvido, algo que já foi associado à ocorrência de mortalidade de peixes e outros organismos aquáticos (Forman & Alexander, 1998; Trombulak & Frissell, 2000). Uma complexa gama de contaminantes dos veículos e as emissões de voláteis (poluentes aéreos) entram também nos sistemas aquáticos (Coffin, 2007). Os metais pesados e o sal (para descongelamento) são os dois principais poluentes estudados que saem das estradas (Forman & Alexander, 1998; Trombulak & Frissell, 2000; Andrews *et al.*, 2008; Colino-Rabanal & Lizana, 2012). O sal na água atua como um fator de perturbação que afeta a fauna aquática com pouca tolerância à salinidade (Colino-Rabanal & Lizana, 2012). Os derrames químicos ao longo das estradas podem também ser fontes importantes de poluentes (Coffin, 2007). Tudo isto induz reduções na sobrevivência e no número de massas de ovos de anfíbios nas imediações de estradas (Colino-Rabanal & Lizana, 2012).

Todavia, as estradas também alteram as condições físicas ao seu redor, eliminando zonas de habitat contínuas, fragmentando-as, e aumentando os efeitos de orla (Trombulak & Frissell, 2000; Andrews *et al.*, 2008). Os habitats circundantes sofrem com a diminuição da cobertura de plantas e de matéria morta, como a folhagem, criando solos mais secos (Andrews *et al.*, 2008). A alteração dos habitats

resulta em menor capacidade de retenção de umidade, aumentando ainda a exposição à radiação solar e ao vento, assim os anfíbios ficam mais vulneráveis à dissecação, pois têm maior dificuldade em manter os níveis de umidade (Trombulak & Frissell, 2000; Andrews *et al.*, 2008). Também Mazerolle *et al.*, (2005) concluiu que os estímulos associados aos carros, como o barulho, luzes e vibrações, fazem com que os anfíbios cessem a atividade nas estradas. Eles tendem a ficar imóveis com a aproximação dos veículos, talvez como resposta antipredatória. O barulho nas estradas pode ter um efeito variável nos animais. Influencia principalmente aqueles animais que incluem sons nos seus comportamentos naturais (por exemplo, de acasalamento), como as aves ou os anfíbios anuros (Coffin, 2007). Tal ruído rodoviário normalmente provoca uma redução da frequência de chamamentos em alguns anuros, na modificação dos chamamentos sexuais dos machos, ou num aumento da dificuldade para as fêmeas discriminarem os chamamentos e localizações dos machos (Andrews *et al.*, 2008; Colino-Rabanal & Lizana, 2012). Todavia, a iluminação das estradas pode introduzir uma perturbação diferente que altera o comportamento noturno dos anfíbios (Forman & Alexander, 1998).

Apesar da fragmentação e do acréscimo de orlas criado pelas estradas (Coffin, 2007), o maior impacto provocado pelas vias de transporte nas comunidades de anfíbios reside na mortalidade causada pelos atropelamentos, especialmente quando perto de zonas húmidas ou charcos, que recorrentemente são as zonas que apresentam maiores taxas de atropelamentos (Forman & Alexander, 1998; Trombulak & Frissell, 2000; Andrews *et al.*, 2008). Os anfíbios aparecem na grande maioria dos casos como o grupo de vertebrados que apresenta as maiores taxas de mortalidade por atropelamento (Colino-Rabanal & Lizana, 2012). A velocidade do movimento, a resposta a predadores e as tendências de dispersão influenciam a sua suscetibilidade à mortalidade rodoviária (Andrews *et al.*, 2008).

Os recursos associados aos refúgios, parceiros e presas tendem a estar concentrados em parcelas distintas e mostram variação sazonal. Quando estradas atravessam estes habitats/parcelas a mortalidade dos anfíbios por atropelamento pode tornar-se concentrada, sobretudo quando os anfíbios realizam as suas migrações sazonais (Andrews *et al.*, 2008). Assim, a densidade relativa de estradas aumenta a probabilidade dos indivíduos, dependentes da complementaridade da

paisagem, serem mortos ou feridos pelo tráfego rodoviário enquanto procuram recursos. A razão da mortalidade de animais provocada por veículos é principalmente devida à distribuição espacial dos recursos (Coffin, 2007). Portanto, há padrões de mortalidade dependentes e associados à variação de recursos e dos ciclos de vida (Coffin, 2007).

Por outro lado, as estradas também servem como corredores de dispersão, tanto para as espécies nativas, como ajudam à disseminação de espécies exóticas (Andrews *et al.*, 2008; Holderegger & Giulio, 2010; Colino-Rabanal & Lizana, 2012). Apesar disso, todas as estradas também funcionam como barreiras ou filtros interpostos perante o movimento animal. A largura das estradas e a intensidade do tráfego são os principais determinantes do efeito de barreira (Forman & Alexander, 1998). O efeito barreira tende a criar e ameaçar metapopulações. As populações ficam mais pequenas, tendem a ser menos estáveis e com uma maior probabilidade de extinção, pois os processos de recolonização podem ser bloqueados pelas estradas (Forman & Alexander, 1998). A viabilidade das metapopulações, quando isoladas por rodovias, pode ficar rapidamente comprometida, devido às ligeiras diminuições de indivíduos a dispersar provenientes das populações locais principais - populações “fonte” (Colino-Rabanal & Lizana, 2012). Assim, as estradas mais permeáveis reduzem demograficamente as populações (de anfíbios), pois existe a ameaça permanente dos atropelamentos (Forman & Alexander, 1998). Deste modo, surpreendentemente já existem estudos onde se verificou ter havido um aumento da diferenciação genética entre populações locais, devido ao efeito rodoviário (Holderegger & Giulio, 2010).

Em suma, as estradas podem impedir o fluxo genético e diminuir a diversidade genética pela mortalidade direta, fomentando a endogamia (Andrews *et al.*, 2008; Colino-Rabanal & Lizana, 2012) e, portanto, reduzindo a diversidade genética devido à redução populacional. As estradas agem como barreiras ao movimento, migração e fluxo genético, diminuindo a conectividade funcional e aumentando a diferenciação entre populações locais (Holderegger & Giulio, 2010). Apesar das rodovias raramente atuarem como barreiras absolutas face ao movimento animal, é difícil estimar a quantidade de migração necessária para evitar a fragmentação e deriva genética (Holderegger & Giulio, 2010). Porém, Garcia-Gonzalez *et al.*, (2012) verificaram também que nem todas as espécies são igualmente afetadas pelas estradas, mas que é evidente que existe uma associação

entre a distância genética e a densidade de estradas. Apesar do efeito de barreira contribuir para a redução da diversidade genética a longo prazo, as reduções dos tamanhos das populações, devido à mortalidade por atropelamento, têm geralmente grande impacto direto na diversidade genética (Jackson & Fahrig, 2011).

Tendências da mortalidade por atropelamento

A variação nas características da distribuição da mortalidade entre taxones (dispersa ou agregada) e os tipos de estrada podem refletir diferentes respostas dos animais ao habitat, à variabilidade temporal e espacial da qualidade do habitat ou as condições locais do terreno, as quais podem facilitar ou dificultar o acesso à estrada (Clevenger *et al.*, 2003). No entanto, os locais, onde a maioria dos animais vertebrados tende a atravessar a estrada, não são aleatórios e podem ser previstos com base nas características ambientais circundantes, apesar das diferenças nas condições meteorológicas/climáticas e nos tráfegos (Carvalho & Mira, 2011). As características da paisagem e do uso do solo afiguram-se ser as variáveis métricas mais importantes que parecem influenciar os atropelamentos (Carvalho & Mira, 2011), pois se a fauna selvagem tende a estar associada aos habitats específicos e a tipos de uso de solo, então é expectável que os padrões espaciais da paisagem sejam um importante fator a afetar as localizações e as taxas de mortalidade (Clevenger *et al.*, 2003).

Neste contexto é possível obter informação importante sobre as tendências demográficas das populações animais em determinadas áreas (por exemplo, parques naturais), através dos dados da mortalidade por atropelamento e do tráfego das estradas (Fahrig *et al.*, 2001). No entanto, o estudo das estradas normalmente implica a localização dos troços mais impactantes (*hotspots*) onde haja atropelamento de animais. Isso geralmente envolve a contabilização (amostragem) de carcaças ao longo das estradas, as quais são identificadas e georreferenciadas (Santos *et al.*, 2015), para posterior implementação de medidas de mitigação.

Com base na literatura científica constata-se que a mortalidade rodoviária afeta predominantemente os anfíbios (p. ex. Glista *et al.*, 2008; D'Amico *et al.*, 2015). E ao contrário da predação natural, a mortalidade por atropelamento é independente das densidades populacionais (Puky, 2005). O que faz com que uma proporção constante das populações sejam mortas, afetando assim também as

espécies raras (Puky, 2005). A eliminação dos animais antes de se reproduzirem afeta as suas abundâncias e altera as estruturas demográficas das populações, podendo levar ao seu gradual desaparecimento (Orlowski, 2007).

Existem corredores naturais utilizados por anfíbios em migração, que quando são bloqueados por estradas levam a eventos de mortalidade (Santos *et al.*, 2007). Estradas perto de zonas húmidas são as maiores fontes de mortalidade de anfíbios (Glista *et al.*, 2008; Orlowski, 2008). As condições e qualidade do habitat e a presença de corpos de água são os principais fatores que influenciam a localização dos atropelamentos de anfíbios, pois os animais estão mais propensos a serem mortos em estradas adjacentes ao seu habitat preferencial (Glista *et al.*, 2008; Orlowski, 2008; Sillero *et al.*, 2019).

Salienta-se que as limitações fisiológicas influenciam predominantemente o comportamento e a ecologia dos anfíbios, porque estes animais são ectotérmicos e possuem uma elevada permeabilidade dérmica (Coelho *et al.*, 2012). Estabelece-se assim uma relação entre a mortalidade de anfíbios e as variáveis meteorológicas, principalmente a temperatura e a precipitação; tal como importa a disponibilidade de água e a distância aos corpos de água (Glista *et al.*, 2008; Coelho *et al.*, 2012). A elevada dependência dos ambientes húmidos, faz com que a disponibilidade de água seja o fator limitante para as suas atividades (Pereira *et al.*, 2018). Em ambientes mediterrânicos esta influência é ainda mais acentuada, pois derivado das secas extensas, os anfíbios ficam constrangidos a concentrar a sua época de reprodução durante os períodos húmidos, quando a precipitação fornece água aos corpos de água permanentes e temporários (D'Amico, 2009). Assim, os anfíbios são extremamente afetados por mortalidade rodoviária durante as suas migrações nas épocas de reprodução, que na região Mediterrânica, ocorrem durante o outono e a primavera quando se concentram as chuvas, existindo uma sazonalidade (Carvalho & Mira, 2011; Garriga *et al.*, 2016). Contrastando com o verão, onde quase não se regista mortalidade, derivado das temperaturas muito elevadas que induzem os anfíbios a entrarem em estivação (D'Amico *et al.*, 2015).

A mortalidade rodoviária dos anfíbios depende também de fatores comportamentais individuais, pois os indivíduos que estejam na estrada tendem a ficar imóveis com o aproximar de veículos, o que aumenta o tempo que estão na estrada, aumentando também a probabilidade de serem atropelados (Mazerolle *et al.*, 2005). Os anfíbios mostram pouca capacidade de mobilidade em relação a

outros vertebrados, por isso mesmo, sofrem muitas baixas mesmo em rodovias com baixos volumes de tráfego (Colino-Rabanal & Lizana, 2012). A sua perceção ambiental relativamente baixa, faz com que não avaliem correctamente o perigo das estradas, o que os leva a atravessar sem hesitações (Carr & Fahrig, 2001; D'Amico *et al.*, 2015). Para além de não serem evitados pelos condutores (Carr & Fahrig, 2001), derivado do seu metabolismo, os animais ectotérmicos são aproximadamente duas vezes mais prováveis de ser mortos nas estradas do que os animais endotérmicos, pois são mais lentos e não têm grandes respostas ao perigo (D'Amico *et al.*, 2015). As espécies com maior propensão para o movimento (ou seja, com maior vagilidade) são aquelas mais afetadas pelo tráfego rodoviário, em detrimento das espécies menos móveis (Carr & Fahrig, 2001). Como estas últimas se movem menos ao longo da paisagem, é menos provável que atravessem estradas, ficando assim menos suscetíveis à mortalidade por atropelamento. E quando devido à sua mobilidade se poderia esperar que espécies mais móveis não sofressem tanto com a fragmentação e perda de habitat, isso não acontece porque estas ficam mais suscetíveis à mortalidade na sua dispersão (Carr & Fahrig, 2001). As variações na intensidade do tráfego também têm efeitos negativos nas populações de anfíbios, que com o aumento do tráfego, aumentam as casualidades de anfíbios mortos nas estradas (Fahrig *et al.*, 1995; Mazerolle, 2004; Zhang *et al.*, 2018).

Monitorização rodoviária da mortalidade de anfíbios

Os *hotspots* de mortalidade devem ser identificados com recurso a amostragens de campo, através da realização de transectos pedestres ou rodoviários, e de modelação (Langen *et al.*, 2007; Carvalho & Mira, 2011). As amostragens feitas a pé são muito mais eficientes em detetar atropelamentos, em particular de pequenos animais (Slater, 2002). Por isso, os transectos pedestres providenciam melhores estimativas das densidades e da composição da mortalidade do que os cruzeiros rodoviários. Contudo, os primeiros são mais dispendiosos em termos de tempo e trabalho necessários, enquanto os cruzeiros rodoviários permitem cobrir maiores distâncias em menos tempo (Langen *et al.*, 2007), apesar de haver uma perda na capacidade de deteção das carcaças (influenciada pelas velocidades utilizadas nas monitorizações). Porém, os transectos

pedestres só podem ser realizados onde as condições de segurança pessoal estão asseguradas, como sejam em estradas com bermas para andar, e vestindo roupa adequada (refletora, por exemplo) (Langen *et al.*, 2007).

Existem vários aspetos que podem afetar a precisão na identificação dos *hotspots*, incluindo: o número de observadores; a frequência e duração das amostragens; a deteção imperfeita das carcaças; e a duração ou tempo de persistência das carcaças (Santos *et al.*, 2015).

A persistência das carcaças, ou seja, o tempo que cada carcaça permanece na estrada, é considerado o fator mais importante para induzir erros nas estimativas de mortalidade (Santos *et al.*, 2011). No caso de animais de pequenas dimensões, eles mostram tempos de persistência curtos, devido à decomposição, remoção por necrófagos ou humanos e aos veículos que destroem as carcaças por repetidos esmagamentos (Langen *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2015). Este fenómeno pode levar à identificação de *hotspots* falsos, em locais onde morrem animais com maior persistência, enquanto locais com altas taxas de mortalidade, onde existe uma grande remoção de carcaças ou baixa persistência, não serem identificados (Santos *et al.*, 2015). As condições meteorológicas húmidas diminuem a persistência das carcaças, tal como as temperaturas mais elevadas. Enquanto as condições húmidas facilitam o desmembramento das carcaças, com os sucessivos impactos com veículos, com altas temperaturas, a dissecação é facilitada e a decomposição por microorganismos e outros invertebrados é rapidamente promovida (Santos *et al.*, 2011).

Os impactos das estradas são muitas vezes subestimados derivado das probabilidades de deteção e das taxas de remoção de carcaças não serem adequadamente tidas em conta (Teixeira *et al.*, 2013), tal como as diferentes metodologias utilizadas. Slater (2002) analisou as taxas de remoção por necrófagos e verificou que os censos diários podem subestimar as taxas de mortalidade por fatores múltiplos de 12 a 16 vezes. De facto, o tempo de retenção das carcaças nas rodovias pode não ser mais que alguns minutos (Slater, 2002). E como a deteção das carcaças é diferente para os diferentes táxones, pode haver uma subestimação da mortalidade e da influência dos padrões espaciais da mortalidade (Langen *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2015), por exemplo, devido às diferentes massas corporais (tamanhos) das espécies (Brzezinski *et al.*, 2012). Outro fator a influenciar as taxas de deteção, são os muitos anfíbios, répteis e mamíferos que são atirados para fora

das estradas quando atingidos pela colisão dos veículos ou somente pela respetiva deslocação de massa (Delgado *et al.*, 2019). Estes autores recomendam a inspeção das bermas das estradas, para além das superfícies em asfalto, tal como as valetas e outras estruturas laterais (até 4 m do limite da estrada), principalmente para pequenos vertebrados. Pois, a maioria da mortalidade casual que encontraram foi detetada fora das zonas pavimentadas das estradas: um terço das mortes dentro da superfície de asfalto e dois terços fora da estrada (Delgado *et al.*, 2019).

O tempo entre amostragens, associado à persistência das carcaças, pode também subestimar seriamente a mortalidade. Intervalos entre amostragens maiores do que um dia, para pequenos animais, podem ser fatais, pois passado um dia (24h) 80% das carcaças podem já ter desaparecido (Santos *et al.*, 2011; Brzezinski *et al.*, 2012). Para além das frequências de amostragem, a aglomeração temporal da mortalidade pode ser outro fator a influenciar os padrões observados, o que pode acontecer, por exemplo com os anfíbios que utilizam apenas algumas noites chuvosas durante as épocas de reprodução para realizarem as migrações e que podem ser vítimas de grandes fenómenos de mortalidade por atropelamento, estando assim a sua mortalidade concentrada em apenas alguns dias, arriscando nem ser detetada (Santos *et al.*, 2015). Os padrões espaciais e temporais também são afetados por fatores como a intensidade do tráfego, disponibilidade de habitat e conectividade (Santos *et al.*, 2015). Portanto, para minimizar estes efeitos, é importante que as monitorizações rodoviárias sejam feitas com as maiores frequências possíveis (Santos *et al.*, 2015).

Entretanto, a monitorização de atropelamentos pode ser bastante melhorada se os métodos de monitorização forem adaptados, se tiverem em consideração as condições meteorológicas locais, o volume de tráfego rodoviário e o tamanho relativo das espécies alvo, bem como se realizarem o mais próximo possível dos períodos de atividade das espécies alvo, ou seja, quando há picos de mortalidade, por exemplo, anfíbios ou morcegos de noite e répteis durante o dia (Langen *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2011).

Finalmente, em locais onde a mortalidade rodoviária reduziu longa e efetivamente as populações locais, os *hotspots* de mortalidade podem não indicar as melhores zonas para se prosseguir com as ações de mitigação (Eberhardt *et al.*, 2013; Teixeira *et al.*, 2017). É plausível que alguns *hotspots* não sejam bons sítios para mitigação, porque houve uma diminuição da população e da qualidade do

habitat, sobretudo perto de rodovias mais movimentadas e com maior mortalidade (Eberhardt *et al.*, 2013; Teixeira *et al.*, 2017). Ao invés, a estimativa da probabilidade de mortalidade *per capita* (probabilidade de um indivíduo de uma determinada população ser morto) pode em alguns casos constituir um melhor indicador para a implementação de medidas de mitigação (Teixeira *et al.*, 2017).

Barreiras mitigadoras para anfíbios

Os efeitos de barreira podem ocorrer quando os animais são mortos em números tão elevados que depauperam as trocas genéticas entre populações locais, diminuem a qualidade do habitat adjacente de tal modo que as populações não podem persistir nele, ou quando os animais comportamentalmente evitam as estradas contribuindo para o isolamento (Andrews *et al.*, 2008; Colino-Rabanal & Lizana, 2012). Se a barreira persistir durante várias gerações a genética das populações é alterada (Forman & Alexander, 1998). No entanto, por vezes quando os animais são mortos em grandes números, como acontece com os anfíbios, cria-se um risco adicional à segurança rodoviária, devido às superfícies das estradas ficarem escorregadias (Dodd *et al.*, 2004). Portanto, além da problemática da mortalidade de fauna também existe o da segurança pública.

As medidas de mitigação devem ter em conta principalmente o comportamento das espécies e necessidades ecológicas do grupo alvo (Carvalho & Mira, 2011). E se possível abranger o maior número de *taxa*, por exemplo, anfíbios e répteis. Pois, em alguns estudos as localizações espaciais de *hotspots* de mortalidade de anfíbios e répteis estão sobrepostos, apenas o pico de mortalidade é que não coincide (Langen *et al.*, 2007).

A mais comum medida de mitigação de mortalidade passa pela construção de barreiras, normalmente associadas a passagens para fauna, onde essas barreiras têm uma dupla função: impedir o acesso à estrada (evitar mortalidade) e canalizar os animais para as passagens seguras (túneis, passagens hidráulicas, etc.) para promover a conectividade (Dodd *et al.*, 2004; Schmidt & Zumbach, 2008; Ottburg & van der Grift, 2019). Por exemplo, Jarvis *et al.*, (2019) não encontraram anfíbios mortos dentro das zonas de estrada mitigadas com barreiras. Helldin & Petrovan, (2019) nas zonas mitigadas verificaram um decréscimo de 85-100%. Dodd *et al.*, (2004) após a construção das barreiras notaram uma redução de 65%

da mortalidade, mas devido a uma espécie que conseguia transpô-las, pois excluindo essa espécie houve uma redução de 93.5% da mortalidade de répteis e anfíbios. A mortalidade registada deriva ou de espécies que têm a capacidade de trepar as barreiras, ou devido à sua má manutenção (Dodd *et al.*, 2004). Entretanto, Ottburg & van der Grift (2019) constataram que cerca de 28% dos sapos em migração estavam no corredor de estrada mitigado, assim, as barreiras tiveram um sucesso de 72% a impedir o acesso à estrada. Resultado influenciado por as barreiras dos dois lados da estrada não terem a mesma dimensão, assim anfíbios que atravessaram a estrada do lado da barreira mais curta, acabaram por encontrar do outro lado uma barreira que os impedia de sair da estrada.

As barreiras parecem ser adequadas a impedir a passagem dos anfíbios para as estradas (Jarvis *et al.*, 2019); e não causam confusão ou movimentos aleatórios, conduzindo com sucesso os anfíbios ao longo de dezenas de metros para os túneis (Jackson & Tynning, 1989). O seu comprimento não parece impeditivo do movimento dos animais. Mesmo anfíbios que encontrem as barreiras, longe das passagens, conseguem ser guiados para as poderem alcançar (Jackson, 1996). Todavia, a utilização de passagens para fauna está muito associada ao correto posicionamento e funcionamento das barreiras (Jarvis *et al.*, 2019). As barreiras, com ou sem estruturas de passagem de fauna, parecem efetivamente eficazes a reduzir as colisões entre veículos e animais (Rytwinski *et al.*, 2016), reduzindo mesmo a mortalidade praticamente para zero (Schmidt & Zumbach, 2008).

As barreiras mais longas apresentam maior redução de atropelamentos do que as barreiras curtas (Rytwinski *et al.*, 2016). Mas os custos de instalação e manutenção de barreiras são elevados, por isso é importante que os seus posicionamentos e formato sejam os melhores para que o investimento e resultados em mitigação sejam maximizados (Woltz *et al.*, 2008). As barreiras devem estar posicionadas no centro das rotas de migração, estar dos dois lados da estrada, com a altura suficiente, sem espaços entre barreiras, impedir que os anfíbios escavem por baixo, impedir que trepem, os fins das barreiras devem ser curvados para impedir a sua passagem para a estrada, a vegetação deve ser removida e ter a manutenção adequada (Puky, 2003). Hill *et al.*, (2018) constatam bem a importância da manutenção das barreiras, verificando mortalidade por atropelamento quando a manutenção e limpeza não é feita, e posteriormente a esta manutenção a mortalidade desaparece.

Empiricamente sabe-se que os melhores tipos de barreiras permanentes configuram-se em forma de “L”, porque na base apresentam uma superfície onde os anfíbios se podem movimentar. Os elementos das barreiras devem ter uma superfície lisa e os espaços entre os elementos constituintes das barreiras devem ser evitados, pois, os anfíbios irão tentar subir (Schmidt & Zumbach, 2008). Barreiras com 60-90 cm devem impedir a grande maioria das espécies de atravessar as barreiras, mas a sua eficiência pode ser aumentada implementando uma pala no topo que impede também os anfíbios de trepar (Schmidt & Zumbach, 2008; Woltz *et al.*, 2008).

Helldin & Petrovan (2019) relataram que encontraram anfíbios dentro dos limites das barreiras, indicando que alguns anfíbios que atravessem diagonalmente a estrada podem entrar nas zonas entre barreiras. Para permitir a saída de animais da estrada, a parte superior das barreiras devem estar ao nível da superfície da estrada/berma, a fim de impedir que os animais fiquem presos na estrada entre barreiras (Schmidt & Zumbach, 2008). As barreiras são eficientes a reduzir a mortalidade, mas em alguns locais registaram-se alguns “efeitos de fim de barreira”, que são o aumento da mortalidade nos limites das barreiras, o que pode indicar na necessidade de barreiras de maior extensão (Dodd *et al.*, 2004; Helldin & Petrovan, 2019) daí a importância da extensão e correto posicionamento das barreiras.

Barreiras temporárias têm algumas desvantagens: têm de ser instaladas e desinstaladas, implicam a revisão diária das armadilhas e o transporte dos animais para o outro lado da estrada, é necessária demasiada mão de obra e a sua eficácia depende de quando e durante quanto tempo estão instaladas (Schmidt & Zumbach, 2008). Porém, nos ambientes mediterrânicos, derivado da sazonalidade e condições de humidade e precipitação necessárias para as migrações, e por serem localizadas no tempo, poderá ser viável a utilização de barreiras temporárias (Garriga *et al.*, 2016).

Objetivo do presente estudo

Esta dissertação teve como base um trabalho de campo experimental, onde objetivamente se procurou estimar o efeito mitigador na mortalidade de anfíbios, ocorrido após a instalação de uma barreira adequada em uma estrada municipal. Este objetivo da dissertação insere-se igualmente e contribuiu para um objetivo concreto maior do projeto LIFE LINES de reduzir a mortalidade e efeito barreira das infraestruturas rodoviárias e energéticas.

Materiais e Métodos

Área de estudo

O presente estudo foi realizado num segmento de aproximadamente 800 m da estrada municipal 529 - Valeira, uma estrada secundária no distrito de Évora, Portugal (38°40'16.637"N 8°2'9.049"W). É uma estrada com duas vias de trânsito, com aproximadamente 7 m de largura, onde a velocidade máxima permitida é de 90 km/h. O segmento de estrada em estudo é constituído por troços idênticos em tamanho, espacialmente consecutivos, cada com cerca de 400 m de comprimento, onde num deles foi implementado um sistema de mitigação de mortalidade de anfíbios (barreiras) e no outro imediato não foi realizada qualquer intervenção, ou seja, manteve-se um troço de estrada normal.



Figura 1 – Área de estudo envolvente à estrada. A negro está realçado o segmento de estrada em análise, é possível também observar o charco/represa adjacente à estrada. (Fonte: Google Earth)

A região atravessada pela rodovia EM529 é dominada pelo sistema agro-silvo-pastoril, montado, embora o biótopo envolvente do segmento de estrada em estudo consiste num sistema agro-pastoril, dominado por zonas agrícolas e para produção pecuária, onde apenas esparsamente se pode encontrar alguns sobreiros (*Quercus suber*) e azinheiras (*Quercus rotundifolia*) (Figura 1). Adjacente à estrada também existe um charco/represa de armazenamento de água, o qual funciona como um possível local de reprodução para anfíbios. Ficando localizada no Alentejo

Central, o clima da região é mediterrânico, apresentando assim verões quentes e secos, e invernos frescos. A região é caracterizada por apresentar grandes amplitudes térmicas ao longo do ano, com uma temperatura média anual de 15.85°C, as temperaturas médias mais altas são durante o mês de agosto com 23.3°C e mínimas durante o mês de janeiro com 9.3°C (IPMA, 2019). A pluviosidade é desigualmente distribuída a longo do ano, com uma precipitação média anual na região de 600 mm, mas inversamente à temperatura, a precipitação é máxima durante os meses de inverno (102,7mm em dezembro) e mínima durante os meses de verão (6.6mm em agosto) (IPMA, 2019).

Espécies de anfíbios potencialmente ocorrentes

Previamente à realização de um trabalho de campo é importante conseguir reunir o maior número de informação sobre a área de estudo e do objeto de estudo. No presente trabalho era também fundamental, a correta identificação das espécies de anfíbios ocorrentes na área. Para isto, foi inicialmente realizada uma pesquisa bibliográfica prévia em trabalhos recentes, como Atlas e Guias de Campo, nomeadamente em Loureiro *et al.*, (2008) e Maravalhas & Soares (2018), onde se encontra sumariada toda a informação associada às espécies e às suas respetivas distribuições em Portugal (Tabela I). Seguidamente à obtenção desta informação, foi feita a aprendizagem da identificação das espécies potencialmente ocorrentes, onde foi também utilizada uma chave com tópicos de identificação rápida de anfíbios (Anexo I), onde se destacam características para facilitar a identificação tanto em indivíduos vivos como mortos.

Tabela I - Espécies de anfíbios potencialmente ocorrentes na área de estudo (Loureiro *et al.*, 2008; Maravalhas & Soares, 2018), Estatutos de Conservação (IUCN, 2019) e Anexos da Convenção de Berna e Directiva Habitats.

Espécie	Nome comum	Estatuto de Conservação	Convenção de Berna	Directiva Habitats
<i>Alytes cisternasii</i>	Sapo-parteiro-ibérico	NT	II	IV
<i>Discoglossus galganoi</i>	Rã-de-focinho-pontiagudo	LC	II	II; IV
<i>Pelobates cultripes</i>	Sapo-de-unha-negra	NT	II	IV
<i>Pelodytes ibericus</i>	Sapinho-de-verrugas-verdes-ibérico	LC	III	-
<i>Bufo spinosus</i>	Sapo-comum	LC	III	-
<i>Epidalea calamita</i>	Sapo-corredor	LC	II	IV
<i>Hyla molleri</i>	Rela-ibérica	NT	II	IV
<i>Hyla meridionalis</i>	Rela-meridional	LC	II	IV
<i>Pelophylax perezi</i>	Rã-verde	LC	III	V
<i>Pleurodeles waltl</i>	Salamandra-de-costelas-salientes	NT	III	-
<i>Salamandra salamandra</i>	Salamandra-de-pintas-amarelas	LC	III	-
<i>Lissotriton boscai</i>	Tritão-de-ventre-laranja	LC	III	-
<i>Triturus pygmaeus</i>	Tritão-marmorado-pigmeu	NT	III	IV

Barreiras mitigadoras para anfíbios

As barreiras para mitigação da mortalidade de anfíbios que foram instaladas num segmento da EM529 consistem (e foram construídas) em segmentos de betão em forma de “L” colocados longitudinalmente ao longo do troço de estrada (Figura 2), em ambos os lados, onde previamente fora detetado um “hotspot” de mortalidade de anfíbios. Estas barreiras apresentam uma altura de ≈ 40 cm, e também uma pequena inclinação (ligeiramente superior a 90°) de forma a impedir que sejam trepadas, na sua base existe uma superfície com cerca de 20 cm de forma a facilitar o deslocamento dos anfíbios. Associam-se 4 túneis (*ACO Climate Tunnel*) e a uma passagem hidráulica adaptada, para permitir que os anfíbios cruzem a estrada em segurança.



Figura 2 – Estrada com barreiras colocadas longitudinalmente.

Amostragem de anfíbios – e recolha de dados

A recolha de dados decorreu entre outubro de 2018 e abril de 2019, período durante o qual foram realizadas 12 sessões de amostragem distintas. Amostragens realizadas apenas quando as condições meteorológicas promoveram a atividade dos anfíbios, isto é, em dias chuvosos ou/e com humidade superior a 80% e com temperaturas acima de 8° C, pois abaixo disso os anfíbios ficam pouco ativos (Sillero, 2008; Matos *et al.*, 2012), após o cair da noite.

Durante cada amostragem foram realizados dois transectos rodoviários ao longo do segmento de estrada a uma velocidade reduzida, cerca de 20km/h (Santos *et al.*, 2007; Glista *et al.*, 2008; Sillero, 2008; Matos *et al.*, 2012), um atravessando a zona da estrada entre barreiras (ZEB) e outro a zona de estrada normal (ZEN) onde foram registados todos os avistamentos de anfíbios atropelados e vivos e sempre que possível foi identificado a espécie (Figura 3). Conjuntamente para cada zona de berma com barreira (ZBB) foi também realizado um transecto a pé, onde se verificou a presença de anfíbios e a sua utilização ou não das passagens, e igualmente procedeu-se à identificação dos mesmos.



Figura 3 – Esquema pormenorizado do segmento de estrada em estudo. A verde o transecto rodoviário ZEB (zona de estrada entre barreiras); a vermelho o transecto rodoviário ZEN (zona de estrada normal); a cinzento as barreiras ZBB (zona de berma com barreira) onde eram realizados transectos pedestres. A azul estão identificados os dois sentidos utilizados na identificação do sentido de deslocamento/proveniência dos anfíbios (MA ou AM).

Adicionalmente, a proveniência (lado da estrada) dos anfíbios, ou seja, o sentido do seu deslocamento foi registado. A posição relativa de duas localidades (Montemor-o-Novo e Arraiolos) em relação à estrada foi utilizada para facilitar a identificação do mesmo, sendo “AM” o sentido de Arraiolos para Montemor e “MA” o sentido de Montemor para Arraiolos (Figura 3). Durante as amostragens foi realizada a contabilização dos veículos que utilizaram a estrada para a obtenção de dados relativos ao tráfego rodoviário.

Resultados e Discussão

Durante o estudo estimou-se que o tráfego rodoviário da estrada EM529, durante as primeiras horas da noite, foi de aproximadamente 14 carros/hora (13.81).

Das 13 espécies possivelmente ocorrentes na área de estudo, foram registadas 6 espécies (Tabela II). No cômputo total foram efetuados 374 registos de anfíbios, sendo a espécie mais abundante o sapo-corredor (*Epidalea calamita*) com 233 indivíduos perfazendo 62,3% das observações. Seguiu-se a espécie *Pleurodeles waltl* (salamandra-de-costelas-salientes) com 53 (14,2%) registos. As restantes 4 espécies observadas apresentaram, cada uma, menos de 30 indivíduos, totalizando 23,3% (Tabela II). É de salientar também a presença de apenas um indivíduo que não foi identificado.

Tabela II – Número de indivíduos de cada espécie identificados na área de estudo (troço da Estrada Municipal 529) entre outubro de 2018 e abril de 2019.

Ordem	Espécie	Abreviatura	N.º Indivíduos	% do total
Anura	<i>Discoglossus galganoi</i>	Dg	19	5,1 %
Anura	<i>Epidalea calamita</i>	Ec	233	62,3 %
Anura	<i>Pelobates cultripes</i>	Pc	14	3,7 %
Anura	<i>Pelophylax perezi</i>	Pp	28	7,5 %
Anura	não identificado	NI	1	0,3 %
Caudata	<i>Pleurodeles waltl</i>	Pw	53	14,2 %
Caudata	<i>Triturus pygmaeus</i>	Tp	26	7,0 %

Nos três troços analisados (Figura 3), foram detetados 290 indivíduos nas duas zonas de berma com barreira (ZBB), 80 ind. na zona de estrada normal (ZEN) e 4 ind. na zona de estrada entre barreiras (ZEB) (Figura 4). Dados que permitem retirar ilações sobre a eficácia das barreiras a prevenir o acesso à estrada: de 294 indivíduos encontrados na zona de estrada onde houve implementação das barreiras para anfíbios (ZEM – zona de estrada mitigada (ZBB + ZEB)) apenas houve o registo de 4 deles terem conseguido atingir a superfície da estrada (ZEB) - faixas de rodagem – local de possível atropelamento.

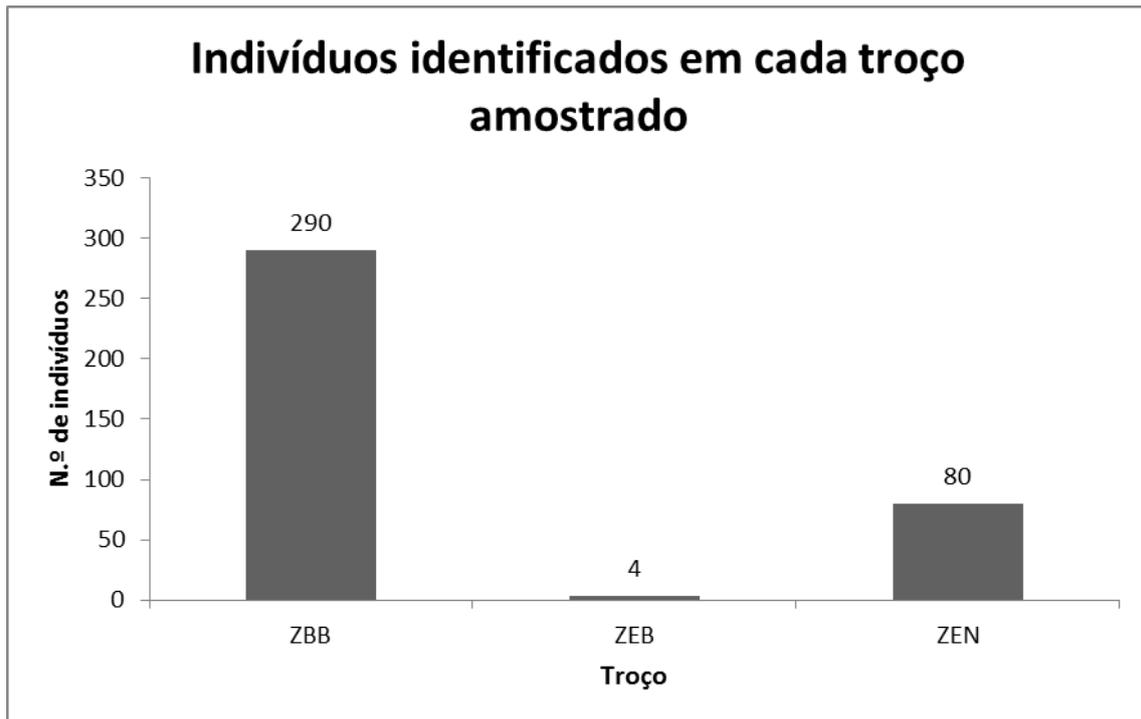


Figura 4 - Número de indivíduos identificados em cada troço de estrada amostrado: ZBB – zona de berma com barreira; ZEB – zona entre barreiras; ZEN – zona de estrada normal.

A eficiência das barreiras em reduzir a mortalidade pode ser verificada com o número de indivíduos mortos em cada troço de estrada. No entanto, a função das barreiras é impedir a chegada de indivíduos à estrada. Como já foi referido e se pode observar na Figura 4, de 294 indivíduos que registados no troço de estrada mitigado (ZEM) apenas 4 ind. foram encontrados na estrada (ZEB), estando os restantes nas barreiras (ZBB), tendo assim sido impedidos de atingir a zona de estrada, onde possivelmente seriam vítimas de atropelamento. As grandes diferenças numéricas (= contagens totais) de anfíbios encontradas entre as três zonas, representadas no gráfico de barras acima (Figura 4) que é tão visualmente explícito, dispensava um teste estatístico. Ainda assim, foi realizado o teste exato de Fisher para dados de contagem que deu significativo ($p\text{-value} = 0.02758$), o que reforça as diferenças encontradas.

Dos 4 indivíduos encontrados na zona entre barreiras (ZEB), 2 foram encontrados mortos. Enquanto na zona de estrada não abrangida por barreiras (ZEN), de 80 indivíduos encontrados, 68 ind. tinham sido vítimas de atropelamento (Figura 5). Assim, considerando os indivíduos devidamente impedidos de chegar à zona de estrada pelas barreiras (ZBB), pois, indivíduos encontrados nas barreiras eram indivíduos que iriam transitar para a zona de estrada, verificou-se uma mortalidade neste troço menor de 1% (0,68% - 2/294), enquanto na zona de estrada normal houve uma mortalidade de 85% (68/80). Com isto, é possível concluir que as barreiras tiveram um efeito redutor da mortalidade na ordem dos 84%. Considerando as duas percentagens de mortalidade registadas, na zona com mitigação, onde se encontraram 2 indivíduos mortos seria de esperar uma mortalidade na ordem dos 250 indivíduos (85% de 294). Verificou-se assim, como seria de esperar, através do teste de proporção do Qui-quadrado, que existem diferenças significativas de mortalidade nos dois troços de estrada (p-value < 2.2e-16).



Figura 5 - Número de indivíduos mortos e vivos encontrados nas duas zonas de estrada: ZEN - zona de estrada normal; ZEM – zona de estrada mitigada (zona entre barreiras e zona de berma com barreira (ZEM = ZEB + ZBB)).

Relativamente à proveniência dos anfíbios houve 349 indivíduos onde foi possível identificar o sentido do seu deslocamento. Desses 253 ind. (70,49%) estavam a deslocar-se no sentido MA e 96 ind. (29,51%) no sentido AM (Figura 6). O teste do Qui-quadrado detetou uma diferença significativa ($p\text{-value} = 0.01945$) na proporção de indivíduos para algumas das espécies de anfíbios, oriundo dos dois lados da estrada. Todavia, se se compararem globalmente (teste de Mann-Whitney) indivíduos vindos de ambos os lados (AM e MA), pertencentes às várias espécies de anfíbios, não há significativamente uma tendência marcada de proveniência de anfíbios, a qual seja predominantemente a favor de um só dos lados ($p\text{-value} = 0.093$).

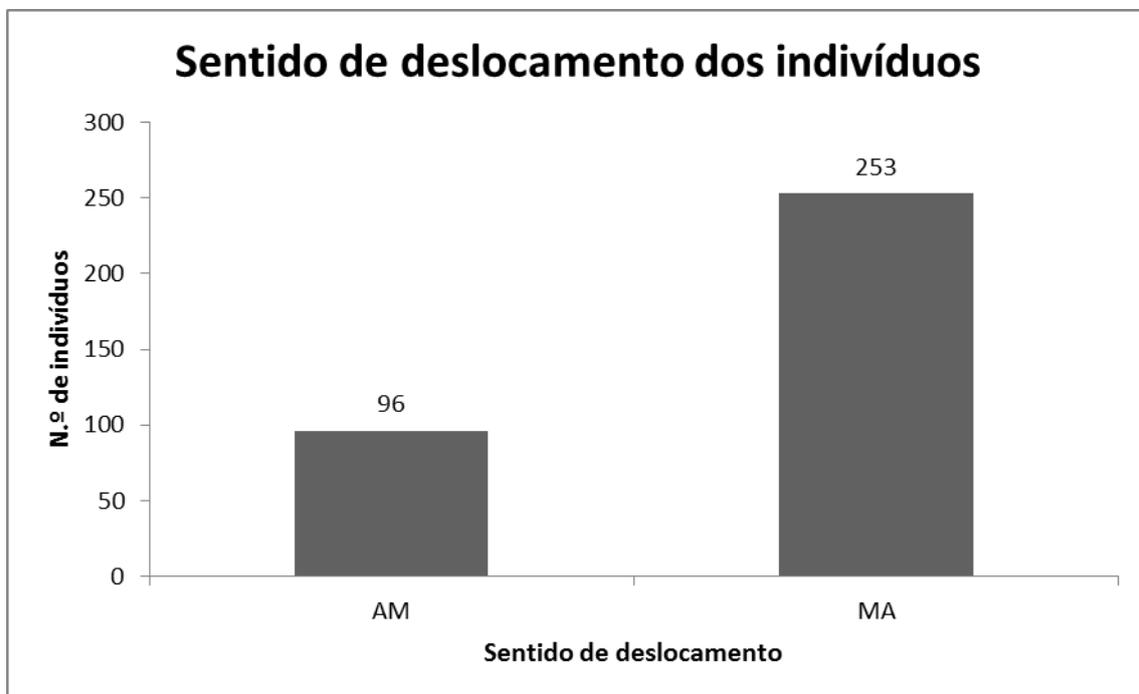


Figura 6 - Sentido de deslocamento dos indivíduos encontrados na estrada e nas barreiras: AM – sentido Arraiolos – Montemor; MA – sentido Montemor – Arraiolos (Figura 3).

A proximidade de corpos de água parece constituir um fator de atratividade vastamente referenciado como a principal causa para a presença de anfíbios nas estradas (p. ex. Glista *et al.*, 2008; D’Amico *et al.*, 2015), derivado da sua dependência da água. Neste caso, a presença de um charco/represa nas proximidades da estrada EM529 esteve aparentemente correlacionado com a observação e registo anterior de eventos de mortalidade por atropelamento, os quais consequentemente induziram a aplicação medidas de mitigação por parte do projeto LIFE LINES. O charco/represa em questão advém de uma construção artificial para armazenamento de água para utilização agrícola. Os efeitos da

intensificação agrícola nas populações de anfíbios, foram descritos maioritariamente como negativos (p. ex. Beja & Alcazar, 2003; Piha, 2006). Como a zona envolvente à área de estudo, onde se encontra também o charco, de uso maioritariamente agrícola e dada a sua homogeneidade de habitat criada devido a esse mesmo uso do solo, seria de esperar que não existisse uma grande riqueza específica. No entanto, ainda assim, das 13 possíveis espécies ocorrentes na área foram registadas 6 espécies, o que não pode ser encarado como uma baixa diversidade. Pois, há que ter em consideração que a zona amostrada se trata de uma zona contínua de 800m de estrada incluída numa porção homogénea em termos de habitat. Leite (2014) em toda a extensão da estrada (9,2 km), conseguiu identificar 10 espécies, onde se incluem todas detetadas também neste estudo. É importante referir que ao longo da mesma se pode encontrar uma maior diversidade de habitats, que vão desde zonas agrícolas até habitats mais florestais como o montado.

O sapo-corredor (*Epidalea calamita*) foi de longe o mais detetado (Tabela II), estando as restantes espécies presentes em números muito inferiores. O resultado é expectável considerando que, apesar de não existirem estimativas para as abundâncias das espécies da região, esta é uma das espécies mais comuns. Espécie esta também considerada pioneira, oportunista e com uma boa capacidade de dispersão, que consegue aproveitar para colonizar novos habitats construídos pelo homem (Ruhí *et al.*, 2012). Considerando ainda, que os corpos de água de origem artificial, em zonas agrícolas exploradas intensivamente, têm dificuldades em suportar populações da grande maioria das espécies mediterrânicas (Ferreira & Beja, 2013). Apenas as espécies mais generalistas se encontram amplamente distribuídas nestes corpos de água (Ferreira & Beja, 2013), existe a possibilidade desta espécie estar a utilizar com maior sucesso o charco presente na proximidade da estrada para reprodução, apresentando assim maiores números do que as restantes.

Na ZBB, foi onde se encontraram mais anfíbios, 290, o que seria de esperar, pois, os anfíbios em movimento que encontrem a barreira e que não a consigam transpor diretamente (que é o expectável) ficam “retidos”, continuando então a deslocar-se ao longo da barreira até encontrarem um dos túneis para atravessar de forma segura a estrada (Figura 7). Para além de que, para analisar o total de anfíbios que tentam atravessar a estrada nesse troço, foram efetuados dois

transectos, um de cada lado da estrada (nas duas barreiras), existindo uma pequena probabilidade de dupla contagem. No trecho ZEB, foram detetados 4 anfíbios. É importante reforçar que a ZBB foi amostrada com recurso a transectos pedestres e a ZEB com transectos rodoviários (cruzeiro rodoviário), e como os transectos pedestres apresentam uma maior eficiência de deteção de indivíduos (Langen *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2011), para uma análise conjunta destes trechos é necessário considerar que poderá haver uma subestimação do número de indivíduos na ZEB. Mas ainda assim, verificou-se que existem diferenças entre o trecho ZEB e o trecho ZEN (Figura 4), que foram amostrados do mesmo modo. Com a deteção de 80 indivíduos no trecho ZEN, o que vem ainda mais suportar o efeito das barreiras no impedimento do acesso à estrada.



Figura 7 - Anfíbios “retidos” nas barreiras: a) dois sapos-corredores a deslocarem-se ao longo da base das barreiras; b) anfíbio a deslocar-se na barreira a dirigir-se para um túnel onde poderá atravessar a estrada.

Apesar do efetivo sucesso das barreiras para anfíbios, foram detetadas três situações que o podem comprometer, ou seja, situações que permitem o acesso à estrada (Figura 8). A vegetação é um problema evidente, pois o seu crescimento facilmente pode atingir a altura das barreiras, criando assim um meio para as ultrapassar, através do seu facilitar de acesso à estrada ao permitir que alguns anfíbios a trepem (Figura 8a). Como foi referido, as barreiras são constituídas por blocos de betão que são dispostos conjuntamente ao longo da estrada. O que se verificou foi que entre alguns destes blocos gerou-se um espaçamento, onde se veio a verificar que permite que alguns anfíbios, nomeadamente juvenis devido à sua

pequena largura, subam para a estrada (Figura 8b). Por último, verificou-se que alguns tritões nomeadamente a espécie *Triturus pygmaeus*, consegue trepar diretamente as barreiras (Figura 8c). Pois, tal como analisado em Wang *et al.*, 2016 com a espécie *Cynops orientalis* (tritão ventre de fogo) os tritões conseguem aderir e trepar tanto em superfícies lisas como em rugosas inclinadas, com ângulos maiores que 90°. Capacidade de aderência que é maior em superfícies molhadas ou húmidas do que em superfícies secas.



Figura 8 – Meios detectados para ultrapassar as barreiras: a) utilização da vegetação pendente ou crescida na base da barreira; b) utilização da falha/afastamento entre blocos; c) uso da aderência por coesão para trepar directamente a barreira húmida (*Triturus pigmeus*).

É importante referir que os 4 anfíbios encontrados no troço ZEB, foram detetados nas extremidades das barreiras, não estando nenhum nas zonas mais interiores. Efeito também detetado por Helldin & Petrovan (2019), as suas principais explicações foram: o ângulo de atravessamento da estrada por parte dos anfíbios ou por estes se deslocarem ao longo da estrada, ou de outras estruturas. Ou seja, se os anfíbios se deslocarem ao longo da estrada ou a atravessarem diagonalmente (em vez de diretamente), podem ocasionalmente entrar nas zonas entre as barreiras. E estas hipóteses são efetivamente uma possibilidade coerente também neste caso. Pois, para além de os indivíduos terem sido encontrados em zonas

próximas das extremidades das barreiras, como é ilustrado na Figura 8, apenas se verificou que anfíbios caudados as conseguissem subir, nomeadamente tritões. No entanto, os indivíduos encontrados na ZEB foram: 1 ind. de *Discoglossus galganoi*, 1 ind. de *Pleurodeles waltl* e 2 ind. de *Epidalea calamita*. Analisando o caso específico dos indivíduos da espécie *Epidalea calamita*, devido à sua morfologia e agilidade, é pouco provável que tenham superado as barreiras, parecendo muito mais plausível que tenham entrado nesta zona derivado do seu ângulo de atravessamento da estrada. Daí também ser importante que as barreiras não estejam elevadas em relação à estrada (Figura 9), pois, assim sempre que algum animal entrar nestas zonas consegue sair, em vez de ficar retido na estrada entre as duas barreiras.



Figura 9 – Barreiras colocadas ao longo da estrada; com destaque para o pormenor da construção em que o topo das barreiras está ao nível da estrada.

A mortalidade registada foi de 85% na ZEN, e de 1% de na ZEM, registando-se assim uma redução de 84% de vítimas de atropelamento. O tráfego rodoviário desta estrada, durante as amostragens, foi baixo, como era expectável, pois, é uma estrada secundária que contém apenas alguns acessos locais. E o seu maior volume de tráfego ocorrerá durante o dia, constatando-se que durante o início da noite e durante as horas em diante, que são também o principal período de atividade dos anfíbios, o tráfego foi de aproximadamente 14 veículos/hora. Considerando que a intensidade de tráfego tem sido associada a um aumento da mortalidade por atropelamento (Fahrig *et al.*, 1995; Mazerolle, 2004), se com um volume de tráfego tão reduzido se registam mortalidades na ordem dos 85%, um ligeiro aumento do volume ou intensidade de tráfego nesta estrada, poderá passar a

significar esta se torne um obstáculo intransponível (com 100% de mortalidade). Fator que vem atestar a importância das medidas de mitigação implementadas.

O sentido do deslocamento ou a proveniência dos indivíduos foi analisado. Na ZBB a presença de indivíduos ao longo das barreiras, dependente do lado em que se encontravam, a sua presença foi considerada indicador da intenção de atravessar a estrada. No caso dos troços ZEN e ZEB, existe uma margem de erro maior, apesar desta também existir no troço ZBB. Quando os indivíduos foram encontrados mortos (a maioria) (Figura 5), o sentido de deslocamento era difícil de determinar, quer devido à degradação das carcaças, quer por estas poderem ter sido movidas pelos impactos com as viaturas (Figura 10). Mesmo os indivíduos vivos, apesar de estarem na estrada, podem não apresentar no momento da observação um sentido de deslocamento ou proveniência uniforme e claro. Ainda assim, foram efetuados 349 registos, de onde 96 indivíduos se deslocavam no sentido AM e 253 ind. no sentido MA (Figura 6). E apesar de 72,49% dos indivíduos se deslocarem no sentido AM, estatisticamente não foi demonstrado haver um lado dominante. No entanto, apesar de haver a necessidade de se avaliar a situação com recurso a maior número de dados, é possível refletir sobre esta demarcada diferença em contagens de indivíduos. O fator que explica esta diferença, é muito provavelmente a presença muito próxima do charco ($\approx 200\text{m}$). Pois, o charco, na época de reprodução como atrai anfíbios, é um local de aglomeração. Porém, ao mesmo tempo, também funciona como “fonte” donde saem para forragear durante a noite; e também é de onde saem os juvenis em dispersão. No local havia mais juvenis do que adultos, pelo que a dispersão de juvenis é uma possível explicação para estas diferenças (*Obs. Pess.*).



Figura 10 – Diferentes estados de degradação dos anfíbios atropelados, onde em alguns casos não é possível identificar o sentido de deslocamento a) e noutros é b).

Para melhoria das barreiras é recomendável que sejam implementadas protuberâncias, uma espécie de pala (Schmidt & Zumbach, 2008), com um ângulo de 180° que desde logo vai dificultar o seu trepar. Mas também durante as chuvas a sua zona inferior ficando seca, vai no caso dos tritões ainda dificultar mais o seu acesso à estrada (ao dificultar a aderência). Apesar de as barreiras estarem niveladas com a estrada (Figura 9), permitindo que um indivíduo que entre na ZEB saia facilmente, era importante criar um dispositivo que impedisse a entrada de anfíbios nesta zona. A colocação de grelhas nos fins das barreiras (análogas às porteiros/canadianas para gado) para onde os anfíbios caíam antes de entrar nesta zona, é uma possível solução (Ottburg & van der Grift, 2019). A manutenção das bermas, designadamente a limpeza de detritos e o corte da vegetação são importantes para que esta não sirva de auxílio para os anfíbios passarem as barreiras, tal como para que seja permitido o seu livre movimento ao longo das mesmas para encontrarem os túneis e atravessarem a estrada de forma segura. Tal como a manutenção das barreiras para questões de segurança da estrada e para reparação de quaisquer falhas ou frestas que possam aparecer nos blocos que constituem as barreiras sejam reparadas.

Em jeito de conclusão, a construção destas barreiras para anfíbios ao longo de uma estrada, em zonas onde haja uma grande incidência de mortalidade por atropelamento (*hotspots*), verificou-se ser eficaz na redução dessa mortalidade. Através da prevenção eficiente do acesso à estrada por parte dos anfíbios, as

colisões entre anfíbios e veículos circulantes na estrada são impedidos. Resultando numa grande diminuição de mortalidade.

No entanto, a eficiência das barreiras utilizadas neste estudo não é total. Verificando-se o acesso à estrada (na zona abrangida por barreiras) por parte de alguns anfíbios. Assim, recomendam-se possíveis melhorias, como: a implementação de uma pala nas barreiras, ou seja, uma parte saliente que impeça ou dificulte ainda mais a escalada da mesma por alguns anfíbios; a colocação de grelhas associadas a um túnel na estrada nos terminos das barreiras para onde os anfíbios que se desloquem na estrada possam cair, de forma a impedir a sua entrada na zona de estrada entre barreiras.

A manutenção das barreiras é uma ação essencial para o seu correto funcionamento, tal como para garantir que o investimento feito na construção desta medida de mitigação é recompensado a longo prazo. Durante este trabalho foram identificadas algumas ações de manutenção que necessitarão de ser realizadas continuamente. A principal é a limpeza das bermas e das barreiras, para impedir a acumulação de lixo/detritos e resíduos vegetais, tal como o corte da vegetação. Pois, a exagerada acumulação destes materiais ou o crescimento sem limites da vegetação, facilitam a escalada das barreiras. Assim como a integridade das barreiras deve ser continuamente verificada, quer por questões de segurança, quer porque falhas nas barreiras como espaços entre blocos ou frestas também podem permitir o acesso à estrada.

É imprescindível também haver uma continuidade da monitorização destas áreas para avaliar a longo prazo o funcionamento das barreiras para anfíbios, a mortalidade por atropelamento nas estradas onde foram implementadas e os seus efeitos nas populações locais.

Bibliografia

- ANDREWS K. M., GIBBONS J. W. & JOCHIMSEN D. M. (2008). Ecological effects of roads on amphibians and reptiles: a literature review. *Herpetological Conservation*, 3: 121 – 143.
- BEJA P. & ALCAZAR R. (2003). Conservation of Mediterranean temporary ponds under agricultural intensification: an evaluation using amphibians. *Biological Conservation*, 114: 317 – 326.
- BRZEZIŃSKI M., ELIAVA G. & ŽMIHORSKI M. (2012). Road mortality of pond-breeding amphibians during spring migrations in the Mazurian Lakeland, NE Poland. *European Journal of Wildlife Research*, 58: 685 - 693.
- CARR L. W. & FAHRIG L. (2001). Effect of road traffic on two amphibian species of differing vagility. *Conservation Biology*, 15: 1071 - 1078.
- CARVALHO F. & MIRA A. (2011). Comparing annual vertebrate road kills over two time periods, 9 years apart: a case study in Mediterranean farmland. *European Journal of Wildlife Research*, 57: 157 - 174.
- CLEVENGER A. P., CHRUSZCZ B. & GUNSON K. E. (2003). Spatial patterns and factors influencing small vertebrate fauna roadkill aggregations. *Biological Conservation*, 109: 15-26.
- COELHO I. P., TEIXEIRA F. Z., COLOMBO P., COELHO A. V. P. & KINDEL A. (2012). Anuran road-kills neighboring a periurban reserve in the Atlantic Forest, Brazil. *Journal of Environmental Management*, 112: 17 - 26.
- COFFIN A. W. (2007). From roadkill to road ecology: A review of the ecological effects of roads. *Journal of Transport Geography*, 15: 396 – 406.
- COLINO-RABANAL V. J. & LIZANA M. (2012). Herpetofauna and roads: a review. *Basic and Applied Herpetology*, 26: 5 – 31.
- D'AMICO M. (2009). Amphibian road-kills in Mediterranean habitats. (Master Thesis, Pablo de Olavide University and Doñana Biological Station (CSIC)).
- D'AMICO M., ROMÁN J., DE LOS REYES L. & REVILLA E. (2015). Vertebrate road-kill patterns in Mediterranean habitats: Who, when and where. *Biological Conservation*, 191: 234 – 242.
- DAVERSA D. R., MUTHS E. & BOSCH J. (2012). Terrestrial movement patterns of the Common Toad (*Bufo bufo*) in Central Spain reveal habitat of conservation importance. *J. Herpetol.*, 46 (4): 658 – 664.

- DELGADO J. D., HUMIA J. D., PEREIRAS A. R., ROSAL A., PALENZUELA M. D. V., MORELLI F., HERNÁNDEZ N. L. A. & SÁNCHEZ J. R. (2019). The spatial distribution of animal casualties within a road corridor: Implications for roadkill monitoring in the southern Iberian rangelands. *Transportation Research Part D*, 67: 119 – 130.
- DODD JR., K. C. BARICHIVICH, W. J. & SMITH L. L. (2004). Effectiveness of a barrier Wall and culverts in reducing wildlife mortality on a heavily traveled highway in Florida. *Biological Conservation*, 118: 619 - 631.
- EBERHARDT E., MITCHELL S. & FAHRIG L. (2013). Road-kill hotspots do not effectively indicate mitigation locations when past road-kill has depressed populations. *The Journal of Wildlife Management*, 77: 1353 – 1359.
- ELZANOWSKI A., CIESIOŁKIEWICZ J., KACZOR M., RADWAŃSKA J. & URBAN R. (2009). Amphibian road mortality in Europe: a meta-analysis with new data from Poland. *European Journal of Wildlife Research*, 55: 33 – 43.
- FAHRIG L., NEILL K. E. & DUQUESNEL J. G. (2001). Interpretation of joint trends in traffic volume and traffic-related wildlife mortality: a case study from Key Largo, Florida. IN: *Proceedings of the 2001 International Conference on Ecology and Transportation*, Eds. Irwin CL, Garrett P, McDermott KP. Center for Transportation and the Environment, North Carolina State University, Raleigh, NC: p. ?.
- FAHRIG L., PEDLAR J. H., POPE S. E., TAYLOR P. D. & WEGNER J. F. (1995). Effect of road traffic on amphibian density. *Biological Conservation*, 73: 177 – 182.
- FERREIRA M. & BEJA P. (2013). Mediterranean amphibians and the loss of temporary ponds: Are there alternative breeding habitats? *Biological Conservation*, 165: 179– 186.
- FORMAN R. T. T. & ALEXANDER L. E. (1998). Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 207 – 231.
- GARCIA-GONZALEZ C., CAMPO D., POLA I. G. & GARCIA-VAZQUEZ E. (2012). Rural road networks as barriers to gene flow for amphibians: Species-dependent mitigation by traffic calming. *Landscape and Urban Planning*, 104: 171 – 180.
- GARCÍA-PARÍS M., MARTÍN C., DORDA J. & ESTEBAN M. (1989): Los Anfibios y Reptiles de Madrid. Agencia del Medio Ambiente, Madrid. 243 pp.

- GARRIGA N., FRANCH M., SANTOS X., MONTORI A. & LLORENTE G. (2017). Seasonal variation in vertebrate traffic casualties and its implications for mitigation measures. *Landscape and Urban Planning*, 157: 36 – 44.
- GLISTA D. J., DEVAULT T. L. & DEWOODY J. A. (2008). Vertebrate road mortality predominantly impacts amphibians. *Herpetological Conservation Biology*, 3: 77 - 87.
- HEIGL F., HORVATH K., LAAHA G. & ZALLER J. G. (2017). Amphibian and reptile road-kills on tertiary roads in relation to landscape structure: using a citizen science approach with open-access land cover data. *BMC Ecology*, 17:24 DOI 10.1186/s12898-017-0134-z.
- HELLDIN J. O. & PETROVAN S. O. (2019). Effectiveness of small road tunnels and fences in reducing amphibian roadkill and barrier effects at retrofitted roads in Sweden. *PeerJ* 7:e7518 DOI 10.7717/peerj.7518.
- HILL I. D. C., ROSSI C. A., PETROVAN S. O., HARTUP M., CLARK F. & DOWNIE J. R. (2018) Mitigating the effects of a road on amphibian migrations: a Scottish case study of road tunnels. The Glasgow Naturalist, Volume 27, Supplement. *The Amphibians and Reptiles of Scotland*.
- HOLDEREGGER R. & GIULIO M. D. (2010). The genetic effects of roads: A review of empirical evidence. *Basic and Applied Ecology*, 11: 522 – 531.
- IPMA - INSTITUTO PORTUGUÊS DO MAR E DA ATMOSFERA (2019). Clima, Normas climatológicas – Évora. Disponível em: <http://www.ipma.pt/pt/oclima/normais.clima/1971-2000/#557> (28/08/2019).
- IUCN (2019). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019-2. <http://www.iucnredlist.org>. Downloaded on 10 September 2019.
- JACKSON N. D. & FAHRIG L. (2011). Relative effects of road mortality and decreased connectivity on population genetic diversity. *Biological Conservation*, 144: 3143 – 3148.
- JACKSON S. D. & TYNING T. F. (1989). Effectiveness of drift fences and tunnels for moving spotted salamanders *Ambystoma maculatum* under roads. pp. 93-99 In T.E.S. Langton (ed.) *Amphibians and Roads*, proceedings of the toad tunnel conference. ACO Polymer Products, Shefford, England.
- JACKSON S.D. (1996). Underpass systems for amphibians. 4 pp. In G.L. Evink, P. Garrett, D. Zeigler and J. Berry (eds.) *Trends in Addressing Transportation Related Wildlife Mortality*, proceedings of the transportation related wildlife

- mortality seminar. State of Florida Department of Transportation, Tallahassee, FL. FL-ER-58-96.
- JARVIS L. E., HARTUP M. & PETROVAN S. O. (2019). Road mitigation using tunnels and fences promotes site connectivity and population expansion for a protected amphibian. *European Journal of Wildlife Research*, 65:27. <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1263-9>.
- KOVAR R., BRABEC M., VITA R. & BOCEK R. (2009). Spring migration distances of some Central European amphibian species. *Amphibia-Reptilia*, 30: 367 – 378.
- LANGEN T. A., MACHNIAK A., CROWE E. K., MANGAN C., MARKER D. F., LIDDLE N. & RODEN B. (2007). Methodologies for surveying herpetofauna mortality on rural highways. *Journal of Wildlife Management*, 71: 1361 – 1368.
- LEITE R. F. (2014). Identificação de distâncias de rodovias a massas de água e a sua relação com o atropelamento de anfíbios. Detecção de limiares. (Master Thesis, Universidade de Évora).
- LOUREIRO A., FERRAND DE ALMEIDA N., CARRETERO M. A. & PAULO O. S. (eds.) (2008) Atlas dos Anfíbios e Répteis de Portugal. 1ª edição, Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade, Lisboa, 257 pp.
- MARAVALHAS E. & SOARES A. (2018). Anfíbios e Répteis de Portugal. 1ª edição, Ernestino Maravalhas, 320pp.
- MATOS C., SILLERO N. & ÁRGANA E. (2012). Spatial analysis of amphibian road mortality levels in northern Portugal country roads. *Amphibia-Reptilia*, 33: 469 - 483.
- MAZEROLLE M. J. (2004). Amphibian road mortality in response to nightly variations in traffic intensity. *Herpetologica*, 60: 45 - 53.
- MAZEROLLE M. J., HUOT M. & GRAVEL M. (2005). Behavior of amphibians on the road in response to car traffic. *Herpetologica*, 61: 380 - 388.
- ORŁOWSKI G. (2007). Spatial distribution and seasonal pattern in road mortality of the common toad *Bufo bufo* in an agricultural landscape of south-western Poland. *Amphibia – Reptilia*, 28: 25 - 31.
- ORŁOWSKI G., CIESIOŁKIEWICZ J., KACZOR M., RADWAŃSKA J. & ŻYWICKA A. (2008). Species composition and habitat correlates of amphibian roadkills in different landscapes of South - Western Poland. *Pol. J. Ecol*, 56: 659 – 671.

- OTTBURG F. G. W. A. & VAN DER GRIFT E. A. (2019) Effectiveness of Road Mitigation for Common Toads (*Bufo bufo*) in the Netherlands. *Front. Ecol. Evol.*, 7:23. doi: 10.3389/fevo.2019.00023
- PEREIRA A. D. N., CALABUIG C. & WACHLEVSKI M. (2018). Less impacted or simply neglected? Anuran mortality on roads in the Brazilian semiarid zone. *Journal of Arid Environments*, 150: 28 – 33.
- PIHA H. (2006). Impacts of agriculture on amphibians at multiple scales. (Academic dissertation, University of Helsinki).
- PITTMAN S. E., OSBOURN M. S. & SEMLITSCH R. D. (2014). Movement ecology of amphibians: A missing component for understanding population declines. *Biological Conservation*, 169: 44 – 53.
- PUKY M. (2003): Amphibian mitigation measures in Central-Europe. In Irwin, L. C., Garrett, P. and McDermott, K. P. (eds): 2003 *Proceedings of the International Conference on Ecology and Transportation*, The Center for Transportation and the Environment, Raleigh, North Carolina (24-29 August, 2003, Lake Placid, New York). pp. 413-429.
- PUKY M. (2006). Amphibian road kills: a global perspective. In: *Proceedings of the 2005 International Conference on Ecology and Transportation*. Irwin, C.L., Garrett, P. and McDermott, K.P. (Eds.). Center for Transportation and the Environment, North Carolina State University (Raleigh, NC, USA). 325-338 pp.
- RUHÍ A., SEBASTIAN O. S., FEO C., FRANCH M., GASCÓN S., RICHTER-BOIX A., BOIX D. & LLORENTE G. (2012). Man-made Mediterranean temporary ponds as a tool for amphibian conservation. *Ann. Limnol. - Int. J. Lim*, 48: 81–93.
- RUSSELL A. P., BAUER A. M. & JOHNSON M. K. (2005) Migration in amphibians and reptiles: An overview of patterns and orientation mechanisms in relation to life history strategies. In: Elewa A.M.T. (eds) *Migration of Organisms*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- RYTWINSKI T., SOANES K., JAEGER J. A. G., FAHRIG L., FINDLAY C. S., HOULAHAN J., VAN DER REE R. & VAN DER GRIFT E. A. (2016). How Effective Is Road Mitigation at Reducing Road-Kill? A Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 11(11): e0166941. doi:10.1371/journal.pone.0166941.

- SANTOS S. M., CARVALHO F. & MIRA A. (2011). How long do the dead survive on the road? Carcass persistence probability and implications for road-kill monitoring surveys. *PLoS ONE* 6: e25383.
- SANTOS S. M., MARQUES J. T., LOURENÇO A., MEDINAS D., BARBOSA A. M., BEJA P. & MIRA A. (2015). Sampling effects on the identification of roadkill hotspots: Implications for survey design. *Journal of Environmental Management*, 162: 87 – 95.
- SANTOS X., LLORENTE G. A., MONTORI A., CARRETERO M. A., FRANCH M., GARRIGA N. & RICHTER – BOIX A. (2007). Evaluating factors affecting amphibian mortality on roads: the case of the Common Toad *Bufo bufo*, near a breeding place. *Animal Biodiversity and Conservation*, 30: 97 - 104.
- SCHMIDT B. R. & ZUMBACH S. (2008). Amphibian Road Mortality and How to Prevent It: A Review. In: Mitchell, J. C., Jung Brown, R. E., Bartolomew, B. Urban Herpetology. St. Louis, Missouri, 157-167.
- SILLERO N. (2008) Amphibian mortality levels on Spanish country roads: descriptive and spatial analysis. *Amphibia-Reptilia*, 29: 337 – 347.
- SILLERO N., POBOLJSAJ K., LESNIK A. & SALAMUN A. (2019). Influence of Landscape Factors on Amphibian Roadkills at the National Level. *Diversity*, 11, 13; doi:10.3390/d11010013.
- SINSCH U. (1990). Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology, Ecology, and Evolution*, 2: 65 – 79.
- SINSCH U. (1997). Postmetamorphic dispersal and recruitment of first breeders in a *Bufo calamita* metapopulation. *Oecologia*, 112: 42 – 47.
- SINSCH U. (2014). Movement ecology of amphibians: from individual migratory behaviour to spatially structured populations in heterogeneous landscapes. *Can. J. Zool.*, 92: 491 – 502.
- SLATER F. M. (2002). An assessment of wildlife road casualties – the potential discrepancy between numbers counted and numbers killed. *Web Ecology* 3: 33 - 42.
- SMITH M. A. & GREEN D. M. (2005). Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography*, 28: 110 - 128.

- TEIXEIRA F. Z., COELHO A. V. P., ESPERANDIO A. K. & KINDEL A. (2013). Vertebrate road mortality estimates: Effects of sampling methods and carcass removal. *Biological Conservation*, 157: 317 – 323.
- TODD B. D. & WINNE C. T. (2006). Ontogenetic and interspecific variation in timing of movement and responses to climatic factors during migrations by pond-breeding amphibians. *Can. J. Zool.*, 84: 715 – 722.
- TROMBULAK S. C. & FRISSELL C. A. (2000). Review of Ecological Effects of Roads on Terrestrial and Aquatic Communities. *Conservation Biology*, 14: 18 – 30.
- VAN GELDER J. J. (1973). A qualitative approach to the mortality resulting from traffic in a population of *Bufo bufo*. *Oecologia*, 13: 93 - 95.
- WANG S., LI M., HUANG W. & WANG X. (2016). Sticking/Climbing Ability and Morphology Studies of the Toe Pads of Chinese Fire Belly Newt. *Journal of Bionic Engineering*, 13: 115– 123.
- WOLTZ H. W., GIBBS J. P. & DUCEY P. K. (2008). Road crossing structures for amphibians and reptiles: Informing design through behavioral analysis. *Biological Conservation*, 141: 2745 - 2750.
- ZHANG W., SHU G., LI Y., XIONG S., LIANG C. & LI C. (2018). Daytime driving decreases amphibian roadkill. *PeerJ*, DOI 10.7717/peerj.5385.

Anexos

Anexo I - Chave rápida para identificação de anfíbios adultos no Alentejo, directamente adaptado de García-París *et al.*, 1989.

Sapos:

Sapo-parteiro-ibérico (*Alytes cisternasii*)

- Olho com pupila vertical.
- Palma da mão com dois calos, um maior do que o outro.

Rã-de-focinho-pontiagudo (*Discoglossus galganoi*)

- Tímpano não visível.
- Mancha triangular entre as narinas e os olhos.
- Mancha temporal escura, mais estreita junto aos olhos.

Sapo-de-unha-negra (*Pelobates cultripes*)

- Pata posterior com pua negra bem evidente no metatarso.
- Olho com pupila vertical estreita.

Sapinho-de-verrugas-verdes-ibérico (*Pelodytes ibericus*)

- Olho com pupila vertical rômbrica.
- Verrugas granuladas verdes sobressalientes e espalhadas pelo dorso.

Sapo-comum (*Bufo spinosus*)

- Glândulas parótidas bem evidentes, inclinadas obliquamente entre si.
- Olho com íris alaranjada-avermelhada.

Sapo-corredor (*Epidalea calamita*)

- Glândulas parótidas bem evidentes, quase paralelas entre si.
- Olho com íris amarelada-esverdeada.

Rãs:

Rela-ibérica (*Hyla molleri*)

- Pontas dos dedos com discos adesivos.
- Banda lateral escura continua desde a cabeça até às virilhas.

Rela-meridional (*Hyla meridionalis*)

- Pontas dos dedos com discos adesivos.
- Banda lateral escura somente desde a cabeça até às axilas.

Rã-verde (*Pelophylax perezi*)

- Tímpano bem evidente.
- Pregas dorsolaterais da pele em modo de cordão, bem marcadas.
- Linha dorsal verde.

Caudados:

Salamandra-de-costelas-salientes (*Pleurodeles waltl*)

- Cor castanha-acinzentada. Pele áspera.
- Duas fiadas laterais de poros e de manchas alaranjadas por onde podem sobressair as extremidades das costelas.

Salamandra-de-pintas-amarelas (*Salamandra salamandra*)

- Glândulas parótidas bem evidentes.
- Corpo negro com manchas amarelas e vermelhas.

Tritão-de-ventre-laranja (*Lissotriton boscai*)

- Ventre de cor laranja com pontitos negros.
- Fêmeas com cloaca cônica.
- Machos com cloaca abobada.

Tritão-marmorado-pigmeu (*Triturus pygmaeus*)

- Cor verde brilhante com manchas negras.
- Fêmeas com uma linha dorsal laranja.
- Machos com crista dorsal (na época de reprodução) e linha lateral branca na cauda. Cloaca muito abobada.