

VITOR MIGUEL MONTEIRO LIMA

ESTUDO COMPARATIVO DE ALGUNS ASPECTOS DA BIOLOGIA
DE *Chioglossa lusitanica* EM DUAS POPULAÇÕES
DO NOROESTE DE PORTUGAL

Dissertação de Mestrado em Ecologia
Aplicada apresentada à Faculdade de
Ciências da Universidade do Porto.

Porto 1995

AGRADECIMENTOS

A investigação desenvolvida só foi possível devido ao Projecto de Investigação conjunto, entre o Instituto de Zoologia "Dr. Augusto Nobre" - Faculdade de Ciências do Porto e o Instituto de Conservação da Natureza (ICN), intitulado "Biologia e Conservação de *Chioglossa lusitanica* em Portugal" e financiado pelo Programa Comunitário Life.

Ao Doutor Nuno Ferrand de Almeida devo a possibilidade de trabalhar nesta área de investigação. A ele quero exprimir o meu profundo agradecimento pelos incentivos, conselhos, orientação e o seu empenhamento na resolução das diversas dificuldades surgidas ao longo do trabalho, contribuindo muito para o seu enriquecimento.

Ao meu co-orientador, Doutor Jan Willem Arntzen agradeço as várias sugestões no plano de trabalho, informação facultada, bem como todos os ensinamentos prestados.

Ao Professor Doutor Jorge Eiras agradeço as facilidades concedidas na utilização dos laboratórios e apoio que sempre demonstrou ao longo deste trabalho.

Ao coordenador do Mestrado, Professor Doutor João Machado Cruz agradeço todo o interesse demonstrado neste trabalho.

Ao Dr. António Múrias quero agradecer a revisão deste manuscrito, bem como a sua ajuda na análise de alguns resultados e resolução de problemas informáticos.

Ao Dr. Filipe Oliva Teles devo toda a aprendizagem na área da avaliação da qualidade da água. Para além da revisão e críticas desta parte do trabalho, a ele agradeço, também, a total disponibilidade desde a recolha das amostras até à análise dos resultados.

À Cristina Silva agradeço todas as sugestões que tornaram possível o desenvolvimento da técnica esqueletocronológica.

Ao Dr. Rui Rebelo, da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, agradeço a ajuda prestada na interpretação dos cortes histológicos.

Ao Professor Doutor Eduardo Crespo e ao Doutor Humberto Rosa, da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, agradeço a disponibilidade apresentada durante a recolha de documentação.

Ao meu amigo Osorio Cunha e à Ana Cristina Cerdeira um agradecimento especial pelo encorajamento e apoio durante todas as fases deste trabalho. Quero, também, agradecer o

interesse, ajuda e disponibilidade dispensada pelo meu colega João Alexandrino ao longo do trabalho de campo.

Aos funcionários do Laboratório de Ecologia do Instituto de Zoologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto agradeço a total disponibilidade e a ajuda prestada.

À Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica agradeço a bolsa de Mestrado concedida.

À EDP, quero agradecer a colaboração com o projecto pela cedência de uma viatura para o trabalho de campo.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO GERAL

1

ÁREAS DE ESTUDO

5

CAPÍTULO I - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE QUÍMICA E BIOLÓGICA DA ÁGUA

11

1. INTRODUÇÃO

11

1.1 Avaliação da Qualidade da Água

12

1.2 Objectivos

14

2. MATERIAL E MÉTODOS

15

2.1 Estratégia e Locais de Amostragem

15

2.2 Tratamento Laboratorial

16

2.3 Análise de Dados

16

3. RESULTADOS

19

3.1 Parâmetros Físico-Químicos

19

3.2 Dados Biológicos

21

3.2.1 Análise Multivariada

21

3.2.2 Abundância e Número de Taxa

24

3.2.3 Parâmetros Biológicos

26

3.2.4 Grupos Funcionais

27

4. DISCUSSÃO

29

CAPÍTULO II - REPRODUÇÃO E ECOLOGIA LARVAR DE *Chioglossa lusitanica*

35

1. INTRODUÇÃO

35

1.1 Reprodução de *Chioglossa lusitanica*

36

1.2 Objectivos

38

2. MATERIAL E MÉTODOS

39

3. RESULTADOS

40

4. DISCUSSÃO

45

CAPÍTULO III - ESTUDO DA DENSIDADE POPULACIONAL, ACTIVIDADE E		
DISTRIBUIÇÃO DE <i>Chioglossa lusitanica</i>	49	
1. INTRODUÇÃO	49	
1.1 Alguns aspectos da Ecologia de <i>Chioglossa lusitanica</i>	50	
1.2 Objectivos	51	
2. MATERIAL E MÉTODOS	53	
3. RESULTADOS	55	
3.1 Époda de Reprodução	55	
3.2 Densidade Populacional e Distribuição Temporal e Espacial	58	
3.2.1 Densidade Populacional e Sex-ratio	58	
3.2.2 Distribuição Temporal e Espacial	59	
4. DISCUSSÃO	64	
4.1 Época de Reprodução	64	
4.2 Densidade a Actividade	66	
3.5 Estrutura Etária, Longevidade e Crescimento	86	
3.6 Idade de Maturação Sexual	87	
4. DISCUSSÃO	91	
4.1 Esqueletocronologia	91	
4.2 Reabsorção e Reconstrução Óssea	93	
4.3 Linhas Duplas	94	
4.4 Idade / Comprimento do Corpo, Crescimento e Dimorfismo Sexual	95	
4.5 Maturação Sexual	96	
CONSIDERAÇÕES FINAIS	99	
CONCLUSÕES	103	
BIBLIOGRAFIA	107	
ANEXOS	121	
CAPÍTULO IV - APLICAÇÃO DA ESQUELETOCRONOLOGIA NO ESTUDO		
DA IDADE, CRESCIMENTO E LONGEVIDADE DE <i>Chioglossa lusitanica</i>	71	
1. INTRODUÇÃO		
1.1 Métodos Esqueletocronológicos	71	
1.2 Objectivos	73	
2. MATERIAL E MÉTODOS	75	
2.1 Desenvolvimento da Técnica e Caracterização das Amostras	75	
2.2 Técnica Utilizada	75	
A- Preparação das Peças Ósseas	75	
B- Inclusão em Parafina	76	
C- Cortes Histológicos e Coloração	76	
D- Análise das Preparações e Tratamento dos Dados	77	
3. RESULTADOS	78	
3.1 Estrutura e Região Óssea Utilizada	78	
3.2 Validade do Método Esqueletocronológico em <i>Chioglossa lusitanica</i> :		
Periodicidade e Momento de deposição das LPC	78	
3.2.2 Linhas de Paragem de Crescimento em Larvas	78	
3.2.3 Linhas de Paragem de Crescimento em Juvenis	79	
3.3 Análise dos Dados Histológicos	80	
3.3.1 Fenómenos de Reabsorção e Reconstrução Óssea	81	
3.3.2 Linhas de Paragem de Crescimento Duplicadas	83	
3.4 Idade e Comprimento do Corpo	83	

INTRODUÇÃO GERAL

A Salamandra-lusitânica (*Chioglossa lusitanica*, Bocage) é uma espécie que habita as margens de ribeiros de montanha na parte mais noroeste da Península Ibérica. Das espécies endémicas presentes nesta região, é um dos anfíbios menos conhecidos, sendo referida como uma espécie **insuficientemente conhecida** em Portugal (SNPRCN, 1990) e como **rara** em Espanha (Blanco e González, 1992). Na União Internacional de Conservação da Natureza, *Chioglossa lusitanica* é referida com um estatuto de conservação **indeterminado**.

Os ribeiros bastante rochosos, com correntes relativamente fortes e aos quais está, geralmente, associada uma vegetação autóctone densa e uma atmosfera saturada de humidade, constituem o habitat mais favorável à sua presença. Quando estas características se reunem, a Salamandra-lusitânica é, frequentemente, o anfíbio mais abundante ao longo dos cursos de água. Desta forma, pode ser considerada como uma espécie típica de regiões de montanha, dependendo fortemente dos valores de precipitação e das condições do habitat nas imediações de pequenos cursos de água.

As grandes exigências ecológicas de *Chioglossa lusitanica* levam a que a sua presença se restrinja a este tipo de biótopos, cuja importância é fundamental para a reprodução e recrutamento juvenil. É interessante referir que a Salamandra-lusitânica apresenta um conjunto de características mais próximas das verificadas em Pletodontídeos Americanos (p.ex. *Eurycea longicauda guttolineata*) do que as outras espécies de Urodelos da Fauna peninsular. De entre essas características podem salientar-se i) a forma delgada do corpo, com uma cauda excedendo consideravelmente o comprimento corporal, ii) a coloração formada por linhas de côntraste laranja-cobre na parte dorsal do corpo, iii) a capacidade de autotomia da cauda, e iv) a sua localização em microhabitats com elevados teores de humidade junto aos ribeiros e escorrências de água.

A presença destas características e a ocupação de nichos ecológicos muito semelhantes levantam a hipótese de uma evolução convergente entre o grupo dos Pletodontídeos Americanos e a Salamandra-lusitânica. Contudo, algumas características particulares desta espécie, nomeadamente o tipo de esqueleto e o mecanismo altamente especializado de propulsão da língua, sugerem uma origem evolutiva independente (Arntzen, 1994). Neste contexto, é importante referir a existência de uma espécie de salamandra do

Cáucaso (*Mertensiella caucasica*), muito semelhante a *Chioglossa lusitanica*, quer a nível morfológico, quer a nível dos requisitos ecológicos (Tarkhnishvili e Serbinova, 1993).

Atendendo à necessidade de condições ecológicas muito particulares para a presença de *Chioglossa lusitanica*, é notório que qualquer alteração no habitat terá consequências negativas para as suas populações. A sua distribuição, confinada em Portugal à região Noroeste, coincide com uma área de grande densidade demográfica, intensa pressão urbanística e elevado índice de industrialização. Por outro lado, a existência de elevados interesses a nível económico leva a que, muitas vezes, o aproveitamento das potencialidades de determinados recursos naturais raramente seja planeado por forma a conciliar a sua gestão e conservação, ocorrendo, assim, uma degradação progressiva do meio ambiente.

Os ecossistemas aquáticos são um dos recursos mais perturbados pelo Homem, quer pela utilização directa da água, quer pelo uso das zonas ripícolas para os mais variados fins. A poluição, destruição de florestas originais e alteração dos habitats devido ao desvio de cursos de água são alguns exemplos dos problemas que afectam este tipo de ecossistemas naturais. Em espécies com exigências ambientais muito específicas, como a Salamandra-lusitânica, a alteração das condições locais do meio ambiente poderá reflectir-se de uma forma bastante significativa nas características populacionais.

Em Portugal e durante a última década, os programas de reflorestação têm sido dominados pela monocultura do Eucalipto, principalmente por *Eucalyptus globulus* Labill. Estas plantações têm vindo a substituir parte da vegetação original das encostas ribeirinhas, atingindo em 1989 cerca de 400.000 ha, correspondente a aproximadamente 16% da cobertura vegetal do território português (Feio, 1989). Esta espécie possui um sistema radicular muito desenvolvido com grande capacidade e eficiência na utilização da água. Deste modo, as plantações de eucalipto, devido às suas exigências hídricas, poderão representar uma séria ameaça para o equilíbrio das populações de *Chioglossa lusitanica*. Durante os meses mais secos do ano, o decréscimo da água nos solos pode ser ainda mais intenso, agravando as condições necessárias à sua actividade (Arntzen, 1981; Veenstra, 1986).

Para além da alteração dos ciclos hidrológicos, a conversão da vegetação ribeirinha para uma floresta pode causar modificações nos processos do ecossistema, como, por exemplo, na erosão e ciclos de nutrientes (Versfeld, 1981). Em consequência, poderão surgir alterações na estrutura das comunidades vegetais ainda existentes e na camada de detritos à superfície do solo, factores que podem ter um papel importante sobre o microclima já que exercem influência no balanço energético do meio e intercepção da chuva e transpiração (Versfeld, 1981).

Diversos estudos têm demonstrado que muitas espécies de salamandas americanas são negativamente afectadas pela transformação dos seus habitats durante o uso das florestas para

a recolha de madeira (p. ex. Welsh, 1990; Dodd, 1991; Raymond e Hardy, 1991; Petranka et al., 1993). As actividades que alteram a cobertura vegetal e a vegetação rasteira associada parecem ter um impacto negativo sobre as populações locais de salamandras (Mitchell, 1991 in Kramer et al., 1993).

A compatibilização entre a utilização e conservação dos ecossistemas naturais requer, antes de tudo, um conhecimento detalhado do equilíbrio e estabilidade entre os seus componentes. No entanto, a utilização dos ecossistemas aquáticos e florestais raramente é acompanhada pelo estudo da diversidade biológica, qualidade da água ou outros aspectos que poderão ser utilizados como base para medir a extensão com que as medidas de conservação implementadas actuaram no meio ambiente.

Neste âmbito, pretendeu-se contribuir para um melhor conhecimento da ecologia de *Chioglossa lusitanica*, relacionando alguns aspectos da sua dinâmica populacional em duas populações, uma sob a influência de um monocultivo de eucaliptos (Ribeira da Silveirinha - Serra de Santa Justa, Valongo) e outra habitando uma floresta original de caducifólias (Ribeiro do Covelo - Serra da Arada, Oliveira de Frades). Estabelecer a relação entre os factores ambientais e os vários parâmetros populacionais é um processo difícil e complicado, já que existem frequentemente pressões selectivas de diversos tipos que podem interferir na dinâmica populacional, e cujos efeitos nem sempre são possíveis de determinar (Stearns, 1976 in Houck, 1977). Desta forma, o estudo da acção de uma monocultura de eucaliptos sobre a ecologia de populações de *Chioglossa lusitanica* foi acompanhado pela análise conjunta de outros potenciais factores intervenientes na dinâmica de populações, como por exemplo as variações climáticas. A comparação entre as duas populações foi realizada tendo em conta todos estes factores.

Em espécies com ciclos de vida complexos, como a Salamandra-lusitânica, os factores externos podem influenciar, quer a fase larvar, quer a fase adulta das populações (Wilbur, 1980). Scott (1994) refere, também, que os efeitos causados no desenvolvimento larvar, pelas condições ambientais do meio aquático, se estendem para além desta fase, podendo chegar à fase adulta. Normalmente, os estudos de dinâmica populacional assumem que a idade e tamanho das larvas no momento da metamorfose são indicadores da adaptação adulta através dos possíveis efeitos no tamanho corporal dos adultos, fecundidade e sobrevivência. Por exemplo, Wilbur (1980), Morin (1983) e Semlitsch (1987) afirmam que as condições larvares são responsáveis pela variação das características dos juvenis, levando a admitir que os primeiros estados do ciclo de vida exercem uma influência na dinâmica populacional através das características que se estendem até à fase adulta.

Tendo em conta esta relação, foi desenvolvido um plano de trabalho que engloba a avaliação da qualidade da água, o estudo de alguns aspectos da ecologia larvar e o

conhecimento de algumas características populacionais supostamente dependentes da qualidade do habitat onde ocorre a reprodução e o desenvolvimento larvar.

A reprodução e desenvolvimento larvar de *Chioglossa lusitanica* está totalmente ligada aos cursos de água, que dependem da matéria orgânica alóctona como principal fonte de energia. Qualquer alteração a nível da zona ripícola poderá reflectir-se na qualidade do meio aquático e, consequentemente, nos organismos dependentes desse meio. Assim, o trabalho teve início com a avaliação da qualidade da água nos dois ribeiros, usando como indicador principal as comunidades de macroinvertebrados bentónicos.

Numa segunda parte são analisados alguns aspectos da fase larvar de *Chioglossa lusitanica*, nomeadamente os que se relacionam com o crescimento, duração e taxas de recrutamento. Estes dados serão confrontados com as variáveis ambientais e climatológicas registadas nos dois locais estudados.

No terceiro capítulo, estudam-se alguns aspectos populacionais da fase terrestre, incluindo o tamanho da população, actividade e movimentos individuais. Nesta análise, o contraste entre o meio ambiente dos dois tipos de floresta foi, mais uma vez, considerado, bem como o foram as características encontradas na fase larvar.

Ao longo destes capítulos desenvolve-se, simultaneamente, uma breve abordagem à evolução temporal da qualidade do meio na área ocupada pela monocultura de eucaliptos (Serras de Valongo) através da comparação da qualidade da água com valores registados em 1977/78 (Arntzen, resultados não publicados), e também pela análise das densidades populacionais determinadas ao longo dos últimos 15 anos (directamente, pela estimativa do número de indivíduos na Ribeira da Silveirinha, e indirectamente, pela contagem do número de ovos depositados em duas minas abandonadas: a mina das Águas Férreas e a mina do Inferno).

Por fim, entendeu-se ser importante proceder ao estudo da estrutura etária das populações de *Chioglossa lusitanica*, informação muito importante quando se pretende analisar a dinâmica das populações. Além disso, dados como a idade individual, crescimento, longevidade e idade de maturação sexual permaneciam ainda desconhecidos, tornando-se importante o seu conhecimento para entender alguns aspectos da sua ecologia.

Procurou-se, assim, avaliar a eficácia da esqueletocronologia na determinação da idade individual de *Chioglossa lusitanica* e relacionar a formação das marcas de crescimento com o ciclo de actividade da espécie. Os resultados obtidos permitiram elaborar um estudo comparativo entre os parâmetros demográficos das duas populações e relacionar as diferenças com alguns factores ambientais.

ÁREAS DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado em duas áreas compreendendo dois ribeiros semi-temporários: Ribeira da Silveirinha, localizada na Serra de Santa Justa (Valongo) e Ribeiro do Covelo, situado na Serra da Arada (Oliveira de Frades).

• Ribeira da Silveirinha

A Ribeira da Silveirinha é um pequeno curso de água situado na parte oeste da Serra de Santa Justa (367 m de altitude máxima). Com 4,2 km de extensão, percorre um vale bastante acidentado, até desaguar na margem direita do Rio Ferreira (figura 1).

O sector estudado apresenta um baixo declive (13%) e é formado frequentemente por pequenas cascatas, alternando com charcos de fraca corrente. Durante o Verão, o ribeiro quase não possui corrente, estando fortemente dependente das condições climáticas registadas nos meses anteriores. No seu percurso, o curso de água atravessa um pequeno túnel (com, aproximadamente, 1m de largura e altura) com 30 m de comprimento, formando-se uma queda de água grande à sua saída. O túnel, formado por paredes de xisto, é considerado como um excelente local de estivação e reprodução para *Chioglossa lusitanica* (Arntzen, 1981).

A bacia hidrográfica está inserida numa área constituída, predominantemente, por rochas xistosas (complexo xisto-grauváquico).

No leito do ribeiro, a vegetação aquática bêntica é muito escassa. Ao longo das margens, a vegetação rasteira encontra-se, fundamentalmente, junto ao curso de água, sendo dominada por silvas (*Rubus sp.*), dedaleiras (*Digitalis purpurea*), fetos-pente (*Blechum spicante*) e fetos reais (*Osmunda regalis*). A floresta original da serra foi substituída, há cerca de 20 anos, pela plantação de uma monocultura de eucaliptos. Na secção estudada, as margens encontram-se densamente povoadas por eucaliptos (*Eucalyptus gobulus*) e austrálias (*Acacia sp.*).

Do ponto de vista climático, esta região pode ser classificada em dois tipos principais:

- clima chuvoso, com valor médio anual de precipitação de 1150 mm. Os valores médios mensais variam entre 168,4 mm, registados em Dezembro, e 19,6 mm, registados em Julho. A partir de Abril, a precipitação diminui para valores médios inferiores a 90 mm (C.N.A., 1984a).
- clima temperado-continental (temperatura média diária de 14,4 °C). As temperaturas mais baixas são registadas nos meses de Janeiro e Fevereiro, com valores mensais de 13,2 (máx.) - 4,7 (mín.) e 14,2 - 5 °C.

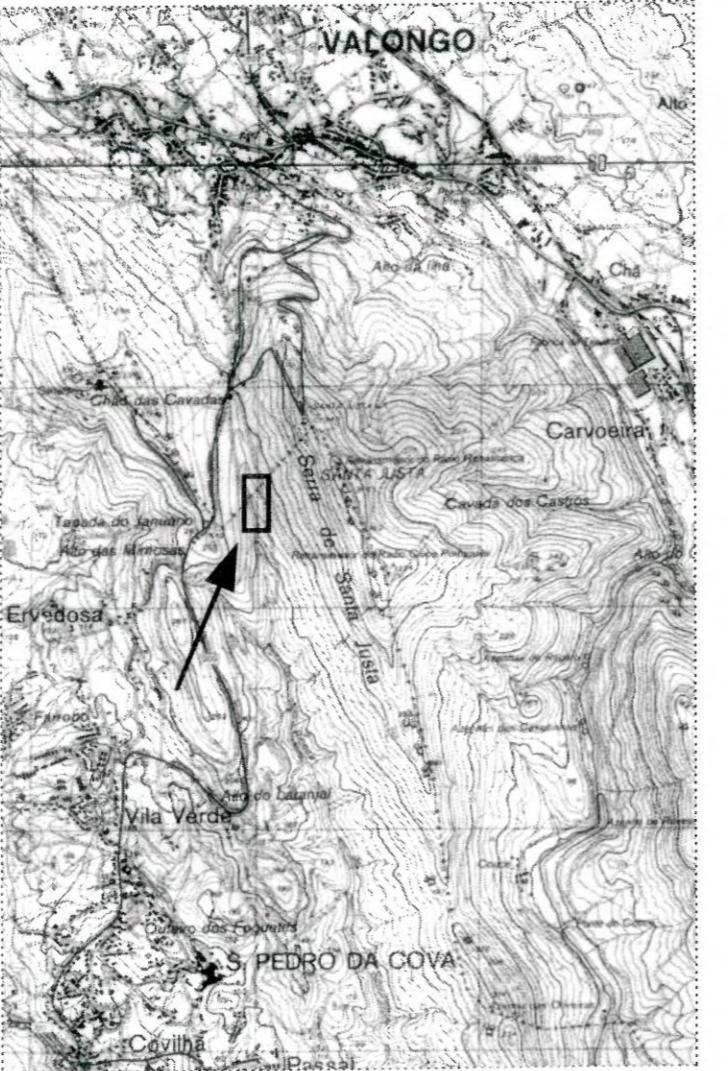


Figura 1 - Ribeira da Silveirinha (Serra de Santa Justa - Valongo). Localização do troço do curso de água utilizado no estudo (escala 1 : 25000).

Os meses mais quentes coincidem com os meses de menor precipitação, ou seja, Julho e Agosto, com 24,7 - 14,6 e 25 - 14,6 °C (C.N.A., 1984b). Os teores médios mensais de humidade relativa do ar variam entre 78 e 86% (valores registados às 21h) (C.N.A., 1985).

• Ribeiro do Covelo

Este curso de água foi designado por "Ribeiro do Covelo" devido à sua proximidade a uma localidade com o mesmo nome. Situado a 425 m de altitude, na parte oeste da Serra da Arada, é, igualmente, um curso de água de montanha semi-temporário, persistindo apenas alguns charcos de água com fraca corrente durante os meses de Verão. Com uma extensão inferior a 1 km, o ribeiro desagua na Ribeira de Covelo, pequeno afluente do Rio Vouga (figura 2). Com um declive pouco acentuado e sem vegetação aquática, percorre um vale bastante apertado, surgindo nas margens restos da floresta original e lameiros abandonados divididos em socalcos.

A área em estudo compreende uma secção do ribeiro situada a 50 m da ribeira onde desagua. Ao longo do seu percurso, o ribeiro passa por um túnel desmoronado com 15 m de extensão. Devido ao elevado número de larvas e juvenis de *Chioglossa lusitanica* aqui encontrado, o túnel deve constituir um excelente local de estivação e reprodução, à semelhança do que acontece na Ribeira da Silveirinha.

O leito do ribeiro e os terrenos adjacentes são fundamentalmente constituídos por xistos e granitos (complexo xisto-grauváquico).

Todo o vale até ao túnel se encontra ocupado por manchas de floresta de carvalhos (*Quercus* sp.), surgindo, frequentemente, outras espécies, como o castanheiro (*Castanea sativa*) e loureiro (*Laurus nobilis*). Junto ao túnel, uma das margens encontra-se florestada por pinheiro (*Pinus* sp.) juntamente com algumas espécies autóctones dispersas. Esta área apresenta-se, também, densamente ocupada por mato, predominando as urzes (*Erica* sp.), as giestas (*Spartium junceum*) e os tojos (*Genista* sp.). Na outra margem, para além do corredor de algumas espécies autóctones, surgem 5-6 lameiros divididos em socalcos, onde aparecem esporadicamente, alguns exemplares de carvalhos, castanheiros e oliveiras. Os lameiros, de vegetação maioritariamente herbácea, são locais muito húmidos, devido à existência de pequenas linhas de água, normalmente utilizadas para a rega. Como resultado, os muros xistosos que delimitam os socalcos e o ribeiro apresentam, na época mais húmida, bastantes escorrências e quedas de água.

Toda esta área possui habitats potencialmente favoráveis à ocorrência de *Chioglossa lusitanica*, principalmente devido às óptimas condições de abrigo e humidade aí existentes.

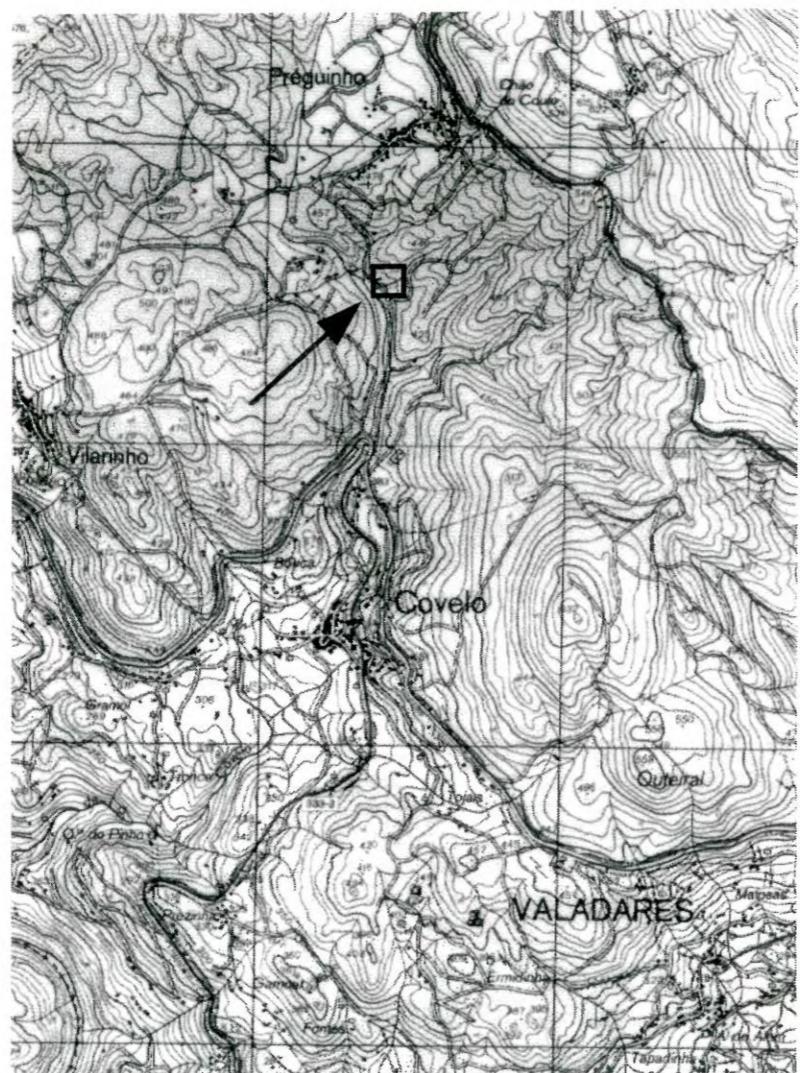


Figura 2 - Ribeiro do Covelo (Serra da Arada). Localização do troço do curso de água utilizado no estudo (escala 1 : 25000).

Relativamente ao clima, este local pode ser classificado em dois tipos distintos:

- clima excessivamente chuvoso (valor médio anual de precipitação: 2166 mm), com valores de precipitação bastante elevados até Maio. Os meses mais chuvosos são Janeiro e Março (331 e 316 mm), enquanto os meses mais secos têm início só em Junho (C.N.A., 1984a).
- clima temperado-continental (temperatura média diária 12,4 °C). Os meses mais frios surgem em Janeiro e Fevereiro, com temperaturas médias mensais de 8,6 - 3,0 e 10,0 - 3,4 °C. Os meses mais secos coincidem com os meses de temperatura mais elevada: 24,6 - 14,2 °C em Julho e 24,8 - 14,7 °C em Agosto (C.N.A., 1984b).

A humidade relativa do ar está fortemente correlacionada com os dois parâmetros anteriores, variando entre 66% (valor médio mensal) em Julho e Agosto, até 86%, registados em Dezembro e Janeiro (C.N.A., 1985).

Em anexo, encontram-se os valores médios destes parâmetros, para ambos os locais, registados no período de 1931-1960 (C.N.A., 1984a, 1984b, 1985).

CAPÍTULO I - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE QUÍMICA E BIOLÓGICA DA ÁGUA

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos, a utilização crescente e mais diversificada dos recursos naturais poucas vezes tem sido acompanhada por uma gestão adequada e eficaz, de modo a evitar a degradação do meio ambiente. Devido às suas potencialidades, os ecossistemas aquáticos têm sido largamente explorados e degradados, quer directamente, pela utilização, desvio e alteração dos cursos de água, quer indirectamente, pelo uso das margens para a monocultura de espécies vegetais exóticas e descarga de efluentes industriais.

O aproveitamento das zonas ripícolas raramente é planeado de forma a assegurar a conservação da diversidade de espécies e habitats, ocorrendo, assim, uma degradação progressiva da área adjacente ao curso de água. Esta situação pode agravar-se quando se verifica que estas zonas funcionam como fonte de energia e nutrientes para os ecossistemas fluviais. A principal fonte energética nos pequenos ribeiros resulta da matéria orgânica alóctona, podendo esta atingir 99% da energia total (Fisher e Likens, 1973). A matéria orgânica alóctona é constituída essencialmente por folhas e outro material vegetal produzido fora dos ecossistemas aquáticos, sendo provável que modificações na vegetação ripícola possam afectar a entrada de energia nos cursos de água.

O material vegetal, quando retido o tempo suficiente no rio, é colonizado por fungos e bactérias, num processo designado por condicionamento. O produto daí resultante, pela acção de um grupo de invertebrados aquáticos, os Trituradores, é consumido e transformado em biomassa animal e matéria orgânica finamente particulada, alimento, que por sua vez, é utilizado pelos Predadores e Colectores (Cummins *et al.*, 1973; Webster e Benfield, 1986; Chergui e Pattee, 1991a, 1991b).

A substituição da vegetação natural de uma zona ripícola poderá repercutir-se na qualidade e quantidade de matéria orgânica que entra no ribeiro. Por outro lado, podem surgir alterações na estrutura dos habitats ripícolas, com consequências para as comunidades de macroinvertebrados do ribeiro (Ormerod *et al.*, 1993).

Em ribeiros com margens ocupadas por florestas de caducifólias, as folhas constituem a principal fonte de energia alóctona (Boling *et al.*, 1975). Apesar da queda das folhas se dar principalmente no Outono, as diferentes taxas de decomposição do material vegetal permitem a existência de uma sucessão temporal de matéria orgânica disponível.

Com a prática de um monocultivo de eucaliptos, existe uma diminuição da variedade de materiais vegetais, reduzindo a disponibilidade temporal da matéria orgânica. Neste tipo de floresta, a queda de materiais vegetais ocorre durante todo o ano, atingindo maior intensidade no Verão (Pressland, 1982; Lamb, 1985). As folhas e outros materiais de eucalipto possuem baixos valores de azoto, muitos polifenóis e taninos condensados, altos conteúdos de óleo e uma espessa cutícula que podem retardar o ataque microbiano e, assim, atrasar a sua decomposição (Macauley e Fox, 1980).

A redução da entrada de energia nos cursos de água pode relacionar-se com a modificação da quantidade de materiais vegetais disponíveis, que resulta da alteração do padrão da queda dos materiais com a modificação da qualidade nutritiva da matéria orgânica (devido à diferente taxa de decomposição e diferente composição química dos materiais vegetais). Juntamente com estas alterações, a invasão de uma monocultura deste tipo traz consigo um grande aumento na biomassa de material vegetal no solo, alterando as suas características hidrológicas e influenciando o ciclo de nutrientes (Versfeld, 1978).

A diminuição da água existente na área da drenagem, devido à grande capacidade e eficiência na utilização deste recurso pelos eucaliptos, será uma outra alteração a considerar na dinâmica neste tipo de ecossistemas.

A estrutura das comunidades de macroinvertebrados bentónicos funciona em muitos destes casos como indicadora da existência de uma perturbação no meio ambiente. Este grupo de animais depende fortemente da matéria orgânica alóctona como fonte de alimento e reage rapidamente a qualquer alteração da estrutura dos habitats ripícolas e à redução do nível de água dos ribeiros.

1.1 Avaliação da Qualidade da Água

O meio aquático, apresenta um número de características físicas, químicas e biológicas intimamente relacionadas entre si e responsáveis pela sua estabilidade.

A distribuição, a diversidade e a abundância dos organismos aquáticos está dependente das respectivas tolerâncias aos diferentes factores físico-químicos que caracterizam a massa de água em que habitam por esses organismos (Weber, 1973). Com base neste equilíbrio, a avaliação da qualidade da água pode ser realizada utilizando dois tipos principais de métodos: os físico-químicos e os biológicos.

• Métodos físico-químicos

A principal causa da deterioração dos ecossistemas aquáticos consiste na entrada de substâncias químicas na água, complexo definido por várias substâncias qualitativamente e quantitativamente em equilíbrio. Os métodos físico-químicos baseiam-se, então, na análise dos seus principais parâmetros físicos e químicos por forma a avaliar as suas variações.

Na avaliação da qualidade da água por este método é necessário ter em conta as variações espaciais das propriedades do solo, a geologia e a topografia dos terrenos (Waters e Jenkins, 1992). Estes parâmetros podem variar muito, tanto no aspecto qualitativo como quantitativo, sendo necessária uma monitorização de valores durante um longo período para se demonstrar o impacto de uma determinada acção. Isto acontece porque a sua determinação permite apenas conhecer as condições do meio aquático de uma forma pontual, isto é, num instante e num local de amostragem preciso (Gauffin e Tarzwell, 1952). Por outro lado, verifica-se, também, que alguns compostos químicos podem influenciar a comunidade de organismos aquáticos em concentrações de detecção muito difícil (Cairns Jr., 1984) ou então sofrer uma degradação muito rápida, não deixando vestígios doseáveis (Ramade *et al.*, 1984).

Estas limitações são ultrapassadas quando se usam os métodos biológicos como complemento dos métodos físico-químicos. Os métodos baseados nas comunidades de organismos aquáticos são indicadores do estado das águas, enquanto que os químicos permitem determinar os factores responsáveis por esse estado.

• Métodos biológicos

Nestes métodos, a composição e a estrutura das comunidades de organismos presentes na água são utilizadas como fonte de informação das condições físico-químicas do sistema aquático. Estas comunidades encontram-se em equilíbrio e estão dependentes das características do local onde vivem (Warren, 1971; Garcia de Jalón *et al.*, 1981). Sempre que surge uma alteração das condições do meio ocorre uma regulação intra e interespecífica das populações, levando ao aparecimento ou desaparecimento de algumas espécies ou grupos faunísticos.

Os Macroinvertebrados bênticos constituem o grupo mais frequentemente utilizado em estudos de análise da qualidade biológica da água (Verneux, 1984). Este grupo apresenta numerosas vantagens, entre as quais se destacam a baixa capacidade de dispersão, o longo período de vida aquática, a facilidade e rapidez na identificação (Lafontaine *et al.*, 1979; De Brabander *et al.*, 1981) e o grande número de espécies com diferentes sensibilidades relativamente aos vários factores ambientais (Mason, 1981).

A comunidade de Macroinvertebrados é, geralmente, afectada por variações fisionómicas do curso de água (por exemplo, largura, natureza dos fundos, velocidade da corrente) e por perturbações de origem exterior (por exemplo, poluição) (Bournaud e Keck, 1980). A reflorestação com espécies introduzidas é também referida como factor perturbador das comunidades aquáticas (Blakburn e Petr, 1979; O'Keefe e Lake, 1987). Outros estudos sugerem, ainda, a relação entre a vegetação ribeirinha com os grupos funcionais de Macroinvertebrados (Molles, 1982; Cummins *et al.*, 1984), a abundância de grupos taxonómicos (Woodall e Wallace, 1972), a qualidade da água (Correll, 1986), os recursos alimentares e a taxa a que os nutrientes e sedimentos entram na água (Peterjohn e Correll, 1984).

Apesar da utilidade dos métodos biológicos na detecção e avaliação de qualquer perturbação que possa ocorrer nos ecossistemas aquáticos (Tittizer e Kothé, 1979), estes não são capazes de identificar a origem dessas perturbações (Bartsh e Ingram, 1959; Hynes, 1962). A avaliação da qualidade da água deverá, então, ser realizada com os dois tipos de métodos, que se complementam mutuamente: os biológicos, que utilizam a composição e estrutura das comunidades aquáticas como resposta integradora de todos os factores ambientais que condicionaram o seu desenvolvimento, e os químicos, que identificam e analisam separadamente esses factores.

1.2 Objectivos

Com este trabalho pretendeu-se comparar a estrutura e composição das comunidades de Macroinvertebrados bentónicos no Ribeiro do Covelo (ribeiro que atravessa uma floresta de caducifólias) e da Silveirinha (ribeiro que atravessa uma floresta de eucaliptos); adicionalmente, estudou-se, igualmente, o Ribeiro do Salto, também localizado na Serra de Valongo e com as duas margens florestadas com eucalipto.

O estudo do possível impacto do monocultivo de eucaliptos foi, também, complementado com uma análise temporal das comunidades presentes no Ribeiro do Salto e Ribeiro da Silveirinha, estudadas em 1977/78 (Arntzen, resultados não publicados).

A caracterização físico-química da água foi realizada de modo a permitir uma melhor interpretação das observações obtidas nos três ribeiros.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Estratégia e Locais de Amostragem

No sentido de comparar, em termos espaciais e temporais, as comunidades de macroinvertebrados, procedeu-se à colheita das amostras de acordo com as épocas do ano escolhidas em 1977/78 (Arntzen, resultados não publicados). A amostragem foi assim dividida em 3 campanhas: Outono (Novembro de 1994), Primavera (Abril de 1995) e Verão (Julho de 1995). Nesta última campanha, os níveis de água diminuiram muito, impossibilitando a recolha de amostras no Ribeiro do Salto.

No Ribeiro do Salto e Ribeira da Silveirinha, foram amostrados os mesmos locais escolhidos em 1977/78. No Ribeiro do Covelo, a secção do curso de água escolhida foi aquela que melhor se aproximava das características fisionómicas (largura, profundidade, velocidade da corrente, natureza do substrato) destas duas estações de amostragem previamente seleccionadas.

Em cada estação de amostragem foram recolhidas duas amostras distintas, uma correspondente às zonas de corrente - zonas lóticas - e outra resultante da amostragem em locais com água estagnada ou com fraca corrente - zonas lênticas.

As amostras de macroinvertebrados foram recolhidas com uma rede de mão, método frequentemente adoptado em águas pouco profundas e com correntes não muito fortes. A rede de mão utilizada é constituída por um cabo de madeira e um saco de rede de secção quadrangular (25×25 cm) com malha de 300 μ .

Na amostragem dos locais com corrente, a rede foi colocada no leito do rio de forma a que a abertura ficasse voltada para a corrente. Deste modo, perturbando o sedimento com a mão ou o pé, os animais desalojados foram arrastados, pela corrente, para dentro da rede. Nos locais de água estagnada, a rede foi movimentada de forma a ser arrastada pelo fundo, removendo o substrato depositado. Em cada local procurou-se prospectar todos os microhabitats existentes, inspecionando à mão pedras e vegetação, quando presentes.

O esforço de amostragem utilizado foi de 10 min. para cada tipo de amostra, sendo suficiente para se obter uma amostra representativa do total de espécies presentes no ribeiro (Elliot, 1971). As amostras foram fixadas e conservadas com uma pequena quantidade de formol (4% v/v) e guardadas em sacos de plástico devidamente etiquetados.

Durante a amostragem dos macroinvertebrados foram registados, *in situ*, alguns parâmetros físico-químicos: temperatura da água, quantidade de oxigénio dissolvido,

percentagem de saturação de oxigénio na água (Oxímetro-Modelo YSI 58) e pH (Portátil-WTW). Foram também recolhidas amostras de água (5L) para a determinação de mais alguns parâmetros em laboratório.

As características hidrológicas do curso de água, verificadas em cada amostragem, foram igualmente registadas na folha de campo.

2.2 Tratamento Laboratorial

No laboratório, a extracção dos organismos foi realizada com lavagem do material em 3 crivos de malhas diferentes (1, 0,5 e 0,25 mm). A amostra foi colocada sobre a série de crivos de malhas sucessivamente mais apertadas e lavada com água corrente.

O material retido nos crivos foi colocado num tabuleiro branco de fundo quadriculado para facilitar a triagem dos organismos. Os organismos recolhidos foram guardados em álcool a 70%, tendo sido, posteriormente, identificados e contados com o auxílio de uma lupa (determinação taxonómica até à família).

2.3 Análise dos Dados

Os dados físico-químicos foram utilizados para a determinação do índice químico "Lisec Method", que inclui informação sobre a percentagem de saturação de oxigénio na água, a carência bioquímica de oxigénio, o teor em amónia e o teor em fosfatos. A determinação do índice é feita através do somatório dos valores obtidos pelos parâmetros subdivididos em classes de diferentes concentrações (Beckers e Steegmans, 1979). O valor do índice corresponde a uma das 5 classes que avaliam a qualidade da água (Anexo B, tab.B.3).

Devido à grande quantidade de informação relativa às comunidades bentónicas, estes resultados foram inicialmente analisados através de uma técnica de ordenação espacial: Análise Factorial de Correspondências (AFC). Este tipo de análise é particularmente indicada quando se usam matrizes com um grande número de zeros (Legendre e Legendre, 1979). Os métodos de ordenação espacial agrupam as estações de acordo com as suas semelhanças e afinidades, facilitando a interpretação dos resultados de modo a compreender melhor a estrutura das comunidades e sua relação com as variáveis ambientais (Legendre e Legendre, 1979).

Paralelamente foram, também, calculados os seguintes parâmetros: abundância, índice de diversidade e índice biótico. Os grupos taxonómicos foram classificados segundo o seu modo de nutrição, de acordo com Tachet *et al.* (1980), de maneira a detectar alguma diferença funcional entre os dois tipos de ribeiro. O grupo dos colectores foi subdividido em limnívoros

(comedores de substrato, p.ex. oligoquetas) e filtradores.

A diversidade das amostras foi estimada pelo índice de diversidade de Shannon-Weaver (1949):

$$H = -\sum P_i \ln P_i$$

em que P_i é a percentagem de indivíduos do grupo taxonómico i , sendo estimado por N_i/N .

A diversidade incorpora, para além do número de taxa (riqueza faunística), a uniformidade com que os indivíduos são distribuídos pelos taxa (equitabilidade). Um valor alto de riqueza faunística corresponde, geralmente, a uma comunidade diversificada, estável, contendo múltiplas interrelações entre os seus componentes. Valores baixos podem ser devidos, quer à contaminação da água, quer a outras condições naturais especiais.

A distribuição do número de indivíduos pelos diferentes taxa da comunidade, designada por equitabilidade, tem sido considerada como de grande importância no estudo da organização de uma comunidade (McIntosh, 1967). Gause (1936 *in* McIntosh, 1967) refere que a propriedade estrutural mais importante de uma comunidade é a relação quantitativa entre as espécies abundantes e raras. O valor da equitabilidade pode ser calculado através da seguinte fórmula (Pielou, 1966):

$$R = \frac{H}{\ln N}$$

em que R é o índice de equitabilidade, que varia entre 0 e 1, H é o índice de diversidade de Shannon e Weaver e N o número de taxa. $\ln N$ representa a diversidade máxima possível. O máximo de diversidade é atingido quando os indivíduos estão distribuídos igualmente entre os grupos taxonómicos.

A similaridade entre os grupos faunísticos colhidos nos ribeiros do Salto e da Silveirinha em 1977 e 1994 foi determinada pelo índice de similaridade de Sorenson (1948):

$$S = \frac{2a}{2a + b + c}$$

onde "a" é o número de grupos comuns às duas amostras e "b" e "c" são o número de grupos unicamente presentes em uma e na outra amostra.

Uma outra forma de avaliar a qualidade da água, usando a comunidade de macroinvertebrados, consiste na determinação de índices bióticos. A estrutura de uma comunidade pode permanecer significativamente semelhante, mesmo que ocorram alterações no tipo de organismos que a compõem (Washington, 1984). Esta informação pode ser obtida através da determinação de índices bióticos, uma medida específica da perturbação causada

nos ecossistemas aquáticos, baseada no conhecimento da tolerância de certos organismos (Washington, 1984). Para o cálculo deste índice, foi utilizado o Índice Biológico Global (I.B.G.) da AFNOR (Association Française de Normalisation, 1985).

Este método de avaliação da qualidade biológica dos cursos de água requer a identificação dos organismos até ao nível taxonómico Família, com exceção de alguns grupos faunísticos fracamente representados ou em que a identificação dos taxa é demorada e difícil. A lista dos taxa utilizados para a determinação do índice (I.B.G.) possui 135 grupos, dos quais 38 são agrupados em 9 classes de indicadores (Anexo B, Tab. B.1). A determinação do I.B.G. é efectuada a partir da tabela de análise compreendendo as 9 classes de indicadores e 12 classes de diversidade taxonómica. O valor é calculado tendo em conta os grupos de indicadores presentes e o número de unidades sistemáticas encontradas. O I.B.G. varia entre os valores 0 e 20, podendo ser sintetizado em 5 classes de qualidade da água (Anexo B, Tab. B.2).

3. RESULTADOS

Durante os meses da Primavera e Verão foram encontradas algumas dificuldades na recolha das amostras nos dois ribeiros situados nas florestas de eucalipto. Nestes meses, o nível de água diminuiu muito, impossibilitando, mesmo, a amostragem de Verão no ribeiro do Salto.

3.1 Parâmetros Físico-químicos

Na Tabela I.1 estão representados os valores dos parâmetros físico-químicos das amostras de água colhidas nos três ribeiros ao longo da campanha de amostragem.

Tabela I.1 - Parâmetros físico-químicos avaliados nos três ribeiros.

	SALTO		SILVEIRINHA			COVELO				
	17/11/94	21/04/95	17/11/94	22/02/95	21/04/95	2/07/95	26/11/94	22/02/95	30/04/95	2/07/95
Oxigénio dissolvido (mg/l)	8,3	4,20	9,72	11,7	9,25	9,55	11,3	12,37	9,47	9,8
Saturação (%)	79	39,5	-	111	85,3	97,1	108	113	91,5	99
C. B. O. (mg/l)	2,25	1,03	2,44	2,11-6	1,59	0,66-7	-	3,12-6	1,32	1,47-7
Nitratos (mg/l)	0,015	0,028	0,041	0,236	0,024	0,006	0,743	0,918	0,674	0,790
Nitritos (mg/l)	0	0	0,0002	0	0	0,0008	0,0008	0,0013	0	0,0024
Amónia (mg/l)	0	0	0	0	0	0	0	0,0016	0	0
Fosfatos (mg/l)	0	0,001	0	0,001	0,005	0,001	0,005	0,001	0,007	0,003
Fósforo Total (mg/l)	0,007	0,010	0,008	-	0,019	0,014	0,022	-	0,026	0,019
pH	4,86	6,6	-	5,85	6,5	5,95	5,8	6,6	7,0	7,15
Temperatura (°C)	13,2	13,3	14,1	12,6	11,9	15,9	13,5	10,6	13,7	15,5
Dureza (ppm CaCO ₃)	8	10	8	9	10	12	8	9	15	15
Alcalinidade total (ppm)	5	9	6	8	9	10	10	7	8	8

O oxigénio dissolvido na água, que depende fundamentalmente da temperatura da água, turbulência, vegetação aquática e matéria orgânica dissolvida, variou entre os 9 mg/l e os 12 mg/l nos ribeiros da Silveirinha e do Covelo. No ribeiro do Salto, os valores registados são inferiores, salientando-se a descida brusca no mês de Abril, com 4,20 mg O₂/l.

Nos meses de Primavera e Verão, houve um decréscimo do oxigénio dissolvido na água, registando-se níveis superiores no Ribeiro do Covelo. À excepção do mês de Abril no ribeiro do Salto, as percentagens de saturação em O₂ encontram-se dentro das condições biológicas normais. Tal como para o oxigénio dissolvido, o ribeiro do Covelo apresenta valores ligeiramente superiores deste parâmetro.

Os valores de C.B.O., teoricamente proporcionais à quantidade de matéria orgânica presente na água, foram sempre inferiores a 3 mg/l (característico de águas não poluídas; Nisbet e Verneaux, 1970). O valor de 3,12 mg/l obtido em Fevereiro no ribeiro do Covelo tem pouco significado, uma vez que a amostra de água permaneceu em incubação durante 6 dias.

Os valores de nitratos, nitritos, amónia, fosfatos e fósforo total são muito baixos, ou mesmo nulos em alguns casos, sendo indicadores de águas naturais não poluídas (Nisbet e Verneaux, 1970).

O pH, que depende do terreno que o curso de água atravessa, mantém-se, no ribeiro do Covelo, dentro dos valores geralmente verificados em águas naturais (entre 6,6 e 7,8). No Salto e na Silveirinha, os valores são sempre inferiores a 6,6, ultrapassando mesmo, no primeiro caso, o valor de pH 5, característico de águas geralmente pouco favoráveis à vida aquática (Nisbet e Verneaux, 1970).

A dureza das águas apresenta valores muito baixos, indicadores de águas muito pobres e de fraca produtividade. A fraca alcalinidade total dos ribeiros indica, também, que estamos na presença de águas muito pouco produtivas.

Na tabela seguinte são apresentados os valores do índice químico determinados para cada ribeiro e época de amostragem.

Tabela I.2 - Índices químicos determinados para os três ribeiros usando o "Lisec Method". (nos locais assinalados por um traço não foi possível a determinação do índice devido à ausência de um dos parâmetros).

	Novembro	Fevereiro	Abril	Julho
SALTO	5	-	7	-
SILVEIRINHA	-	5	5	4
COVELO	-	4	4	4

Exceptuando o valor obtido no mês de Abril para o Ribeiro do Salto, os índices químicos classificam os ribeiros como tendo água não poluída.

3.2 Dados biológicos

No Anexo C estão representadas as listas e abundâncias dos grupos faunísticos encontrados, em cada ribeiro, nos três períodos de amostragem. O ribeiro do Salto não apresenta valores referentes ao mês de Julho pelo facto de o rio já se encontrar seco. Os grupos faunísticos encontrados na Ribeira da Silveirinha e no Ribeiro do Salto durante a campanha de 1978/1979 (Arntzen - resultados não publicados) são também indicados no Anexo C (Tab.C.4).

3.2.1 Análise multivariada

A análise factorial de correspondências permitiu ordenar espacialmente, de acordo com as suas afinidades, as várias estações estudadas. Esta análise foi aplicada a dois tipos de matrizes: 1) Matriz de abundâncias, relativamente aos dados obtidos em 1994/95 nos três ribeiros e, 2) Matriz de presença/ausência, relativamente aos dados obtidos na Ribeira da Silveirinha nos dois períodos estudados (1977/78 e 1994/95).

Esta técnica permite, também, identificar simultaneamente os taxa responsáveis pela ordenação das estações. Como os dois primeiros eixos expressam as variações mais importantes do conjunto de dados, optou-se, também, pela representação bidimensional das estações e taxa directamente envolvidos na ordenação.

• Análise de correspondências aplicada à matriz de abundâncias

A ordenação tridimensional dos locais permite distinguir 5 grupos principais (fig I.1) destacando-se os seguintes resultados: 1) nos dois grupos que englobam as estações do Covelo são encontradas apenas as amostras de Abril dos ribeiros de eucalipto. Estes agrupamentos estão positivamente associados com a abundância de algumas famílias de macroinvertebrados, nomeadamente HYDROPSYCHIDAE, SIMULIDAE (grupos filtradores), HYDROCHIDAE, NEMOURIDAE, (grupos fragmentadores) e CHIRONOMIDAE (fig I.2); 2) as estações dos ribeiros de eucalipto amostradas no mês de Novembro estão separadas das restantes, o que se deve, principalmente, à forte presença oligoquetas neste período; 3) as estações SAA95LO e SIJ95LO destacam-se das restantes ao nível do 3º eixo, disposição influenciada pela elevada percentagem de contribuição absoluta de LEUCTRIDAE (grupo fragmentador) (Anexo D, Tab D.1).

- Análise de correspondências aplicada à matriz de presenças/ausências

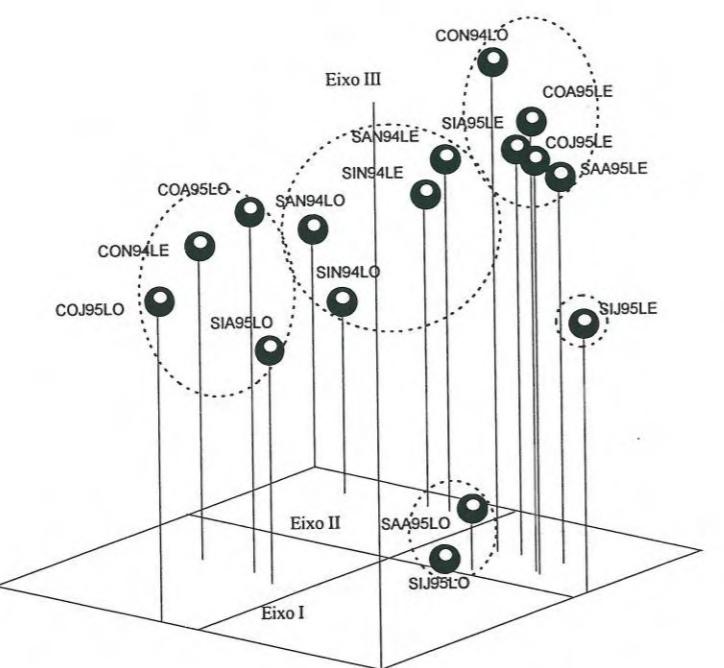


Figura I.1 - Ordenação dos locais nos três primeiros eixos pela análise de correspondências aplicada à matriz de abundâncias dos três ribeiros. As estações estão representadas segundo as seguintes siglas: letras iniciais do ribeiro (CO- Covelo, SI- Silveirinha, SA- Salto), mês da amostragem (N- Novembro, A- Abril, J- Julho), ano de amostragem e zonas do ribeiro amostrada (LE- zonas lênticas, LO- zonas lóticas).

A ordenação dos locais relativamente aos três primeiros eixos, resultante da aplicação da análise de correspondências à matriz de presenças/ausências (fig. I.3) permite distinguir dois grupos principais, de acordo com o eixo I : 1) grupo constituído pelas amostras de 1977/78, situado na parte positiva e 2) grupo formado pelas amostras recolhidas em 1994/95, situado na parte negativa.

No 2º eixo observa-se uma separação bastante acentuada entre a SIA78LE e as restantes amostras.

Ao longo do 3º eixo parece existir uma ordenação dos locais segundo os meses de amostragem: na parte mais inferior surgem as amostras de Julho, seguindo-se as de Novembro, até atingir a parte mais superior, dominada pelas amostras de Abril.

Na figura I.4 está representada a ordenação bidimensional simultânea das espécies e locais amostrados, observando-se, mais uma vez, a separação nítida entre os dois grupos principais. Os taxa que mais contribuiram para a distinção do grupo de 1977/78 encontram-se no lado positivo do eixo I, destacando-se a grande percentagem de contribuição absoluta de grupos predadores NEPIDAE, RHYACOPHILIDAE, NEMATHELMINTES E NOTONECTIDAE (Anexo D, Tab.D.2). Os limnívoros CHIRONOMIDAE, CERATOPOGONIDAE E LIMONIIDAE estão fortemente associados às amostrações realizadas durante 1994/95

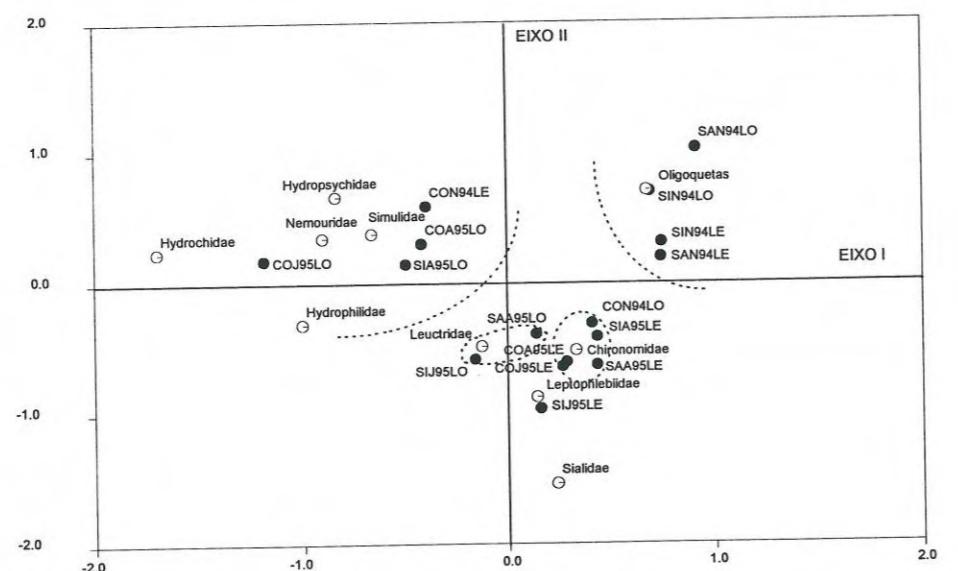


Figura I.2 - Representação simultânea da ordenação das espécies e locais nos dois primeiros eixos resultantes da análise de correspondências aplicada aos dados de abundância. As estações estão representadas segundo as seguintes siglas: letras iniciais do ribeiro (CO- Covelo, SI- Silveirinha, SA- Salto), mês da amostragem (N- Novembro, A- Abril, J- Julho), ano de amostragem e zonas do ribeiro amostrada (LE- zonas lênticas, LO- zonas lóticas).

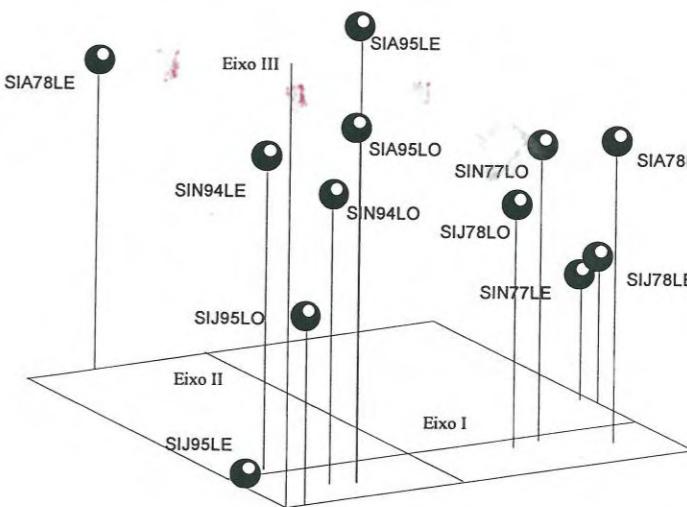


Figura I.3 - Ordenação das estações nos três eixos pela análise de correspondências aplicada à matriz de presenças/ausências da Ribeira da Silveirinha. As estações estão representadas segundo as seguintes siglas: letras iniciais do ribeiro (CO- Covelo, SI- Silveirinha, SA- Salto), mês da amostragem (N- Novembro, A- Abril, J- Julho), ano de amostragem e zonas do ribeiro amostrada (LE- zonas lênticas, LO- zonas lóticas).

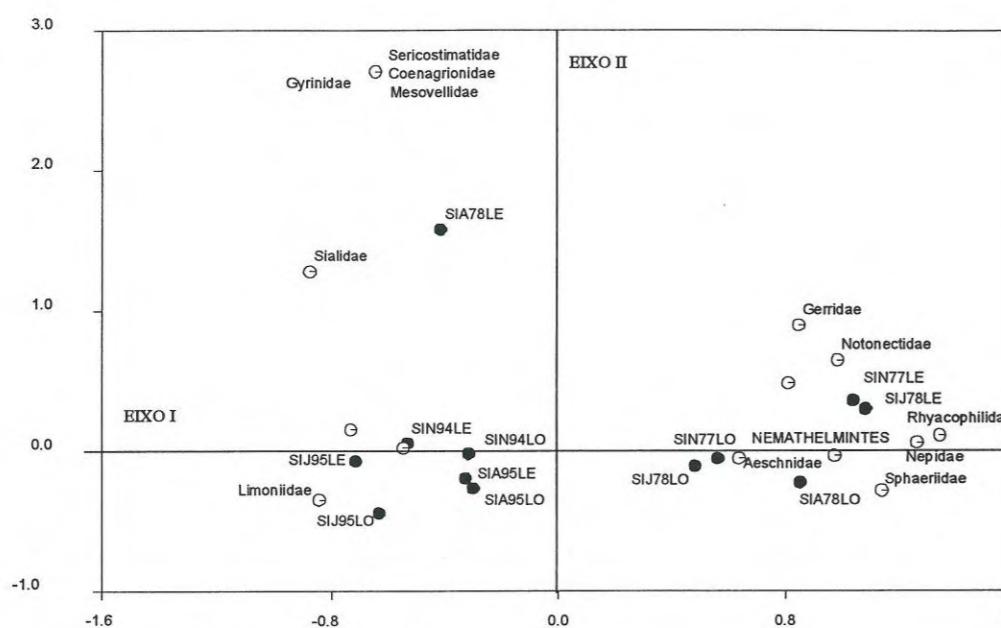


Figura I.4 - Representação simultânea da ordenação das espécies e locais nos dois primeiros eixos resultantes da análise de correspondências aplicada aos dados de presença/ausência da Ribeira da Silveirinha. As estações estão representadas segundo as seguintes siglas: letras iniciais do ribeiro (CO- Covelo, SI- Silveirinha, SA- Salto), mês da amostragem (N- Novembro, A- Abril, J- Julho), ano de amostragem e zonas do ribeiro amostrada (LE- zonas lênticas, LO- zonas lóticas).

3.2.2 Abundância e número de taxa

Na Figura I.5 estão representados os padrões temporais da abundância de indivíduos e número de taxa nos três ribeiros.

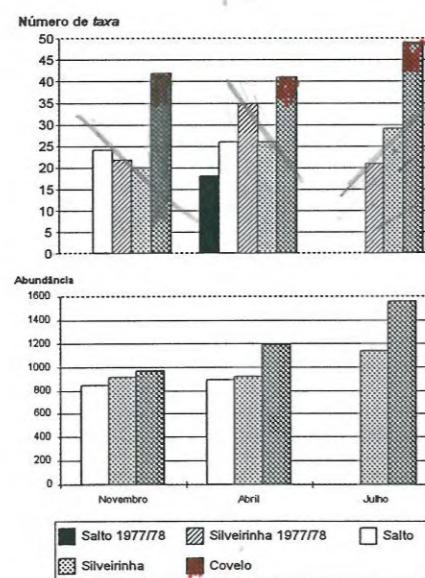


Figura I.5 - Número de taxa e indivíduos recolhidos nos três ribeiros em três períodos de amostragem (nos locais de eucalipto são, também, referidos os números dos grupos faunísticos encontrados durante 1977/78).

Nos ribeiros de eucaliptos, ambos os parâmetros apresentam valores significativamente inferiores aos do Ribeiro do Covelo, não se evidenciando tão nitidamente o aumento registado neste último local ao longo das estações do ano, principalmente na passagem da Primavera para o Verão.

Relativamente às zonas lênticas e lóticas, a maior diferença na abundância entre os o Covelo e Silveirinha é verificada entre o Outono e as restantes estações estudadas (figura I.6). Nas zonas lênticas, a maior abundância no Ribeiro do Covelo é apenas registada no Outono, enquanto nas zonas lóticas se verifica o inverso.

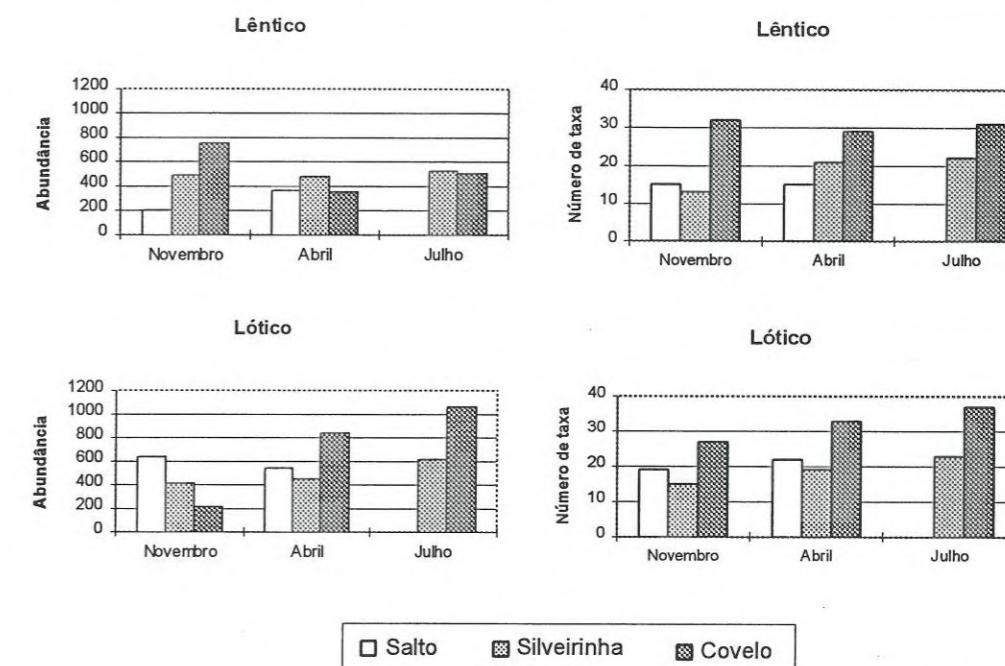


Figura I.6 - Abundância e número de *taxa* recolhidos nos três ribeiros em três períodos de amostragem.

Quanto ao número de taxa, o Ribeiro do Covelo apresenta valores sempre superiores, verificando-se nas zonas lóticas um acentuado aumento, tal como o registado na abundância, ao longo das épocas de amostragem.

- Comparação dos resultados com os obtidos em 1977/78

Em relação ao número de taxa, a Ribeira da Silveirinha apresenta menores valores no Outono e Primavera, invertendo-se a situação na última época amostrada. No Salto observou-se, em Abril, um ligeiro acréscimo do número de grupos taxonómicos.

Entre 1977/78 e 1994/95, ao longo das três campanhas de amostragem efectuadas, a alteração dos grupos faunísticos parece ter ocorrido de uma forma semelhante no Ribeiro do

Salto e Ribeira da Silveirinha (tabela I.3). Na Ribeira da Silveirinha, a comunidade de macroinvertebrados apresenta maiores alterações nos locais de água estagnada. No Salto não se regista o mesmo, no entanto, é necessário ter em conta que, em 1978, só se efectuou a amostragem de Abril e no ano de 1995 o ribeiro quase não apresentava água.

Tabela I.3 - Cálculo do índice de similaridade (Sorenson, 1948) entre as amostras realizadas em 1977/1978 e 1994/1995 para os ribeiros do Salto e Silveirinha.

	Lêntico	Lótico	Lêntico+Lótico
SILVEIRINHA			
Novembro	0,35	0,52	0,47
Abril	0,42	0,47	0,52
Julho	0,30	0,48	0,45
SALTO			
Abril	0,42	0,34	0,45

3.2.3 Parâmetros biológicos

Na tabela I.4 estão indicados os valores de alguns parâmetros biológicos determinados para os três ribeiros.

Tabela I.4 - Parâmetros biológicos (Equitabilidade (R), Número de unidades sistemáticas (US), Índice de diversidade de Shannon-Weaver (ID) e Índice Biológico Global (IB)).

		Salto 1977/78	Salto 1994/95	Silveirinha 1977/78	Silveirinha 1994/95	Covelo 1994/95
Nov	R	-	0,40	-	0,46	0,76
	US	-	24	22	20	42
	ID	-	1,15	-	1,32	2,64
	IB	-	13	13	13	19
Abr	R	-	0,61	-	0,74	0,75
	US	18	26	35	26	41
	ID	-	1,93	-	2,22	2,63
	IB	13	15	17	14	19
Jul	R	-	-	-	0,57	0,71
	US	-	-	21	29	49
	ID	-	-	-	1,76	2,60
	IB	-	-	12	15	19

Nos ribeiros situados numa floresta de eucaliptos, a diversidade máxima foi atingida no mês de Abril, enquanto no Ribeiro do Covelo os elevados valores de diversidade permaneceram constantes ao longo do ano, e sempre bastante elevados.

A elevada uniformidade com que os indivíduos se distribuem pelos diferentes grupos taxonómicos ao longo das amostras do ribeiro do Covelo só é alcançada, aproximadamente, nos restantes ribeiros durante o mês de Abril.

Os valores do índice biótico no Ribeiro do Covelo mantêm-se no valor 19, muito perto do máximo e claramente indicativo de águas limpas. Nos restantes ribeiros, os valores variam entre 13 e 15, pertencentes à segunda classe de qualidade da água e indicadores de água ligeiramente poluída. Pela comparação com os valores obtidos na Silveirinha em 78/79, registam-se diferenças nas duas últimas campanhas: um substancial decréscimo da qualidade da água em Abril e uma melhoria no mês de Julho, com igual amplitude.

Tabela I.5 - Proporção dos grupos faunísticos em cada tipo de floresta (nos meses de Novembro e Abril, na floresta de eucaliptos, são apresentados os valores médios dos dois locais amostrados)

	Eucaliptos			Caducifólias		
	Novembro	Abril	Julho	Novembro	Abril	Julho
MOLLUSCA	-	-	-	-	0,08	0,06
OLIGOCHAETA	68,1	14,81	4,58	19,56	12,04	7,25
HIRUDINEA	0,40	0,44	0,08	2,91	2,27	1073
EPHEMEROPTERA	-	2,46	4,75	2,81	3,87	2,25
PLECOPTERA	8,14	29,96	58,1	14,98	16,66	22,78
ODONATA	2,45	4,39	4,40	4,37	4,46	3,66
HETEROPTERA	0,17	0,83	0,26	0,10	0,42	0,45
COLEOPTERA	2,60	7,94	4,22	1,66	3,11	28,17
MEGALOPTERA	-	-	3,08	0,10	-	0,13
TRICHOPTERA	2,46	1,82	1,58	30,18	19,11	8,47
DIPTERA	16,52	36,63	18,84	22,48	36,36	24,33
NEMATHELMINTES	0,24	0,38	-	0,10	-	-
HYDRACARINA	0,6	-	0,18	0,10	-	0,06
PLATHELMINTES	-	0,22	-	0,62	1,60	0,64

3.2.4 Grupos funcionais

O número de taxa presente em cada grupo funcional foi relativamente constante ao longo do tempo no ribeiro do Covelo, que atravessa uma floresta de caducifólias (figura I.7). Na Ribeira da Silveirinha, os números de taxa correspondentes aos predadores e fragmentadores parecem apresentar um reduzido acréscimo na passagem do Outono para as restantes estações. Destaca-se, também, o maior número de grupos faunísticos de raspadores no Ribeiro do Covelo.

No Silveirinha, as diferenças mais importantes em relação ao ano de 1977/78 correspondem a uma diminuição do número de grupos de predadores em Novembro e Abril, e

um aumento do número de grupos de predadores e fragmentadores em Julho.

A distribuição dos indivíduos pelos grupos funcionais faz-se de uma forma relativamente semelhante nos dois tipos de ribeiro. Apesar da evolução desta distribuição, ao longo das campanhas, ser muito semelhante, a magnitude das alterações é, por vezes, significativamente diferente. Na Ribeira da Silveirinha torna-se mais evidente a grande percentagem de limnívoros no Outono, e de fragmentadores no Verão. Refira-se, ainda, o reduzido número de indivíduos e taxa, pertencentes aos grupos de filtradores e raspadores, ao longo das amostragens da Ribeira da Silveirinha.

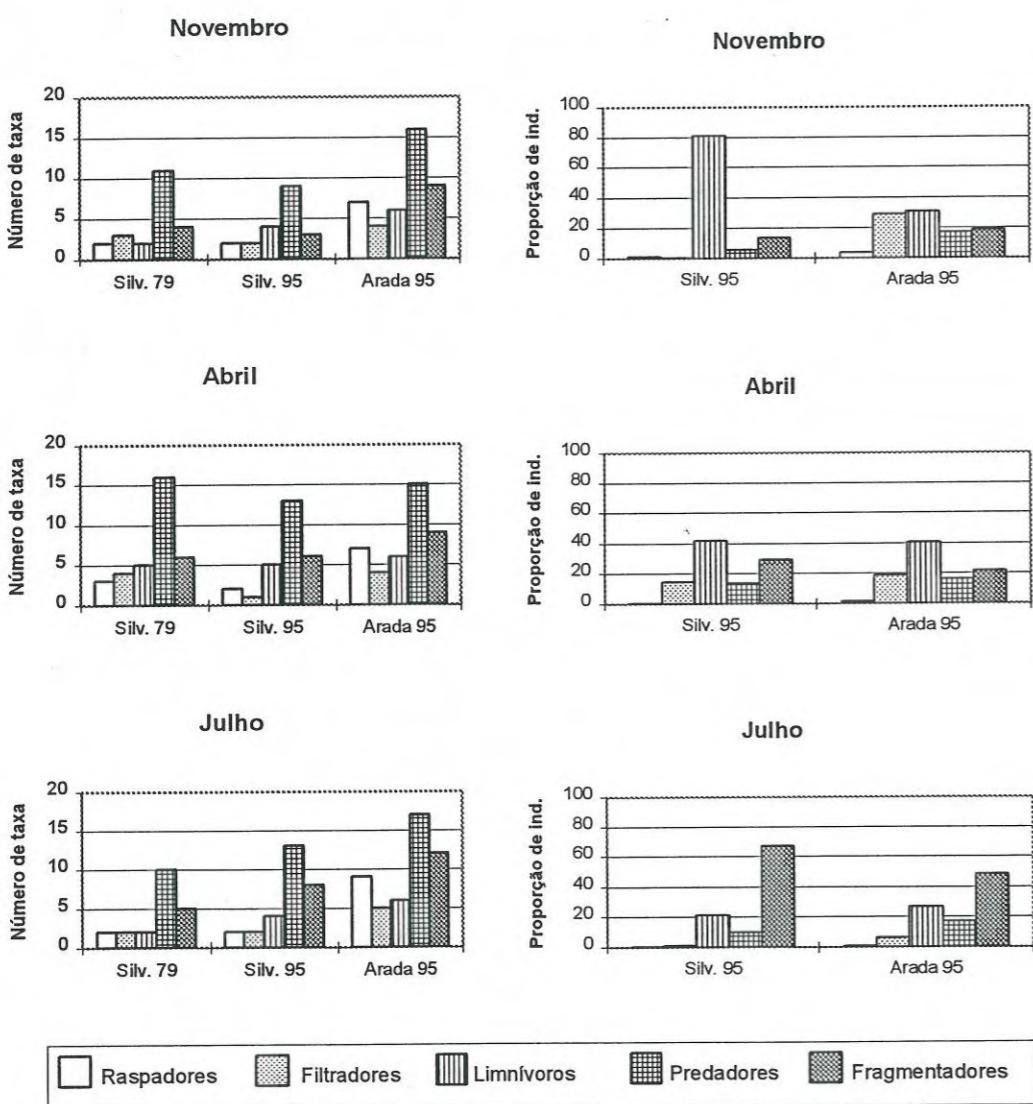


Figura I.7 - Número de taxa e distribuição dos indivíduos em cada grupo funcional presente na Ribeira da Silveirinha e Ribeiro do Covelo, nas três campanhas de amostragem.

4. DISCUSSÃO

As bacias hidrográficas sofrem flutuações nos caudais de uma forma sazonal devido ao tipo de clima registado em Portugal. As épocas de cheia surgem como resultado da elevada precipitação durante o Inverno, enquanto o período mais seco e com baixa precipitação corresponde aos meses de Verão.

A baixa precipitação durante o último Inverno (1994/95) conduziu, já no início da Primavera, a uma acentuada redução do nível da água nos pequenos ribeiros. Os ribeiros de eucaliptos (Salto e Silveirinha) acabaram mesmo por secar, impedindo a realização da amostragem no mês de Julho. No ribeiro de caducifólias (Covelo) apesar da diminuição registada, principalmente no mês de Julho, nunca foi atingido um nível da água tão baixo como nos anteriores. Esta diferença parece estar relacionada com a hidrofobicidade dos solos de florestas de eucaliptos.

Por definição, a hidrofobicidade dos solos é uma propriedade edáfica físico-química onde as forças coesivas das moléculas da água são mais fortes do que as forças coesivas entre as moléculas de água e as partículas do solo (Wessel, 1988 in Terry, 1992). As substâncias responsáveis por esta característica dos solos são compostos orgânicos derivados da cobertura vegetal, dos detritos e do húmus (Burch *et al.*, 1989). Nas florestas de eucaliptos, os solos apresentam-se bastante hidrofóbicos (Burch *et al.*, 1989; Terry, 1992; Shakesby *et al.*, 1993), podendo mesmo alterar os níveis e fluxo de água dos ribeiros (Hendrickx *et al.*, 1993; Shakesby *et al.*, 1993).

A avaliação dos valores dos parâmetros físico-químicos classifica todos os ribeiros como não poluídos e de baixa produtividade, característica de ribeiros de montanha. A única exceção encontrada refere-se ao mês de Abril, no ribeiro do Salto, provavelmente devido ao reduzido nível de água afi registado, com valores de oxigénio dissolvido (4,20 mg/l) e de saturação (39,5%) muito baixos.

Os altos valores de oxigénio dissolvido, percentagem de saturação e pH, associados a valores de temperatura mais baixos, reflectem as melhores condições biológicas do Ribeiro do Covelo. Na Ribeira da Silveirinha e Ribeiro do Salto, a elevada acidez da água parece ser a característica físico-química mais relevante na regulação da estrutura das comunidades de macroinvertebrados. Waters e Jenkins (1992) referem que existe uma acidificação dos cursos de água durante a reflorestação das margens. Segundo Ormerod *et al.* (1993), esta acidificação é significativamente maior em ribeiros onde se pratica um monocultivo de espécies introduzidas do que em cursos de água que atravessam florestas de caducifólias. O facto de os ribeiros em

estudo atravessarem o mesmo tipo de terreno leva a crer que as diferenças nos valores de pH se devam ao uso das margens.

O aumento da acidez pode conduzir ao declínio da riqueza faunística neste tipo de locais, e grupos como EPHEMEROPTERA, PLECOPTERA e TRICHOPTERA diminuem significativamente com o aumento deste parâmetro nos cursos de água (Ormerod *et al.*, 1993). De facto, os valores mais baixos de pH, registados nos primeiros meses, são acompanhados por uma acentuada redução da proporção destes grupos nos ribeiros de eucalipto.

Um outro factor que poderá alterar a abundância e diversidade faunística de um curso de água está relacionado com o teor de metais presentes na água e sedimentos. O ferro, cobre e zinco, quando presentes em grandes quantidades, alteram significativamente a estrutura das comunidades aquáticas (Brown, 1977). Na região de Valongo encontra-se um elevado número de minas abandonadas junto aos cursos de água. Tal como as paredes destas minas, os sedimentos dos ribeiros apresentam uma coloração intensamente alaranjada, provavelmente como resultado da grande quantidade de óxidos de ferro. Segundo Brown (1977), nos ribeiros que recebem água do escoamento de minas, a fauna dominante é composta por larvas de insectos, com uma redução do número de MOLLUSCA, HIRUDINEA, OLIGOCHAETA e PLATHELMINTHES. Com excepção dos Oligoquetas, estes grupos estão menos representados, ou mesmo ausentes, nos ribeiros das Serras de Valongo.

Os valores de abundância, e de riqueza faunística, que são sempre superiores no ribeiro de floresta autóctone, reflectem, uma vez mais, as melhores condições ambientais aí existentes. A maior abundância e diversidade observada nos meses de Primavera e de Verão está relacionada, sobretudo, com a presença de uma grande variedade de larvas de insectos que emergem no Verão. Além disso, a partir da Primavera, as condições físicas do meio, tal como a velocidade da corrente, tendem a ser menos severas, o que favorece uma maior proliferação da fauna (Hawkes, 1979).

Nos ribeiros de eucalipto, a abundância e número de taxa não variaram de uma forma tão significativa, provavelmente como reflexo de uma adaptação das comunidades às alterações do meio em relação à fonte de alimento e estrutura dos habitats. Os pequenos ribeiros de floresta estão dependentes da matéria orgânica alóctona, principal fonte de alimento para os macroinvertebrados (Vannote *et al.*, 1980). A variação temporal na entrada desta energia, entre os dois tipos de ribeiro (eucalipto e caducifólias), poderá influenciar a estrutura das comunidades de macroinvertebrados.

Nos eucaliptais, a maior queda de materiais vegetais ocorre no Verão (Pressland, 1982; Lamb, 1985). Contudo, o retardamento do ataque microbiano e a baixa taxa de decomposição fazem com que a quantidade de matéria orgânica finamente particulada seja mais elevada no fim do Verão e Outono, como resultado da sua fragmentação ao longo do ano (Abelho, 1994). A

grande abundância de Oligoquetas (61,7%) na colheita de Outono, responsável pelo agrupamento das estações de Novembro na análise multivariada, pode estar relacionada com este facto: trata-se de um grupo que prolifera com bastante facilidade em águas afectadas por um enriquecimento de matéria orgânica (Hynes, 1966). Ao longo do ano, o número de Oligoquetas diminui muito, e são os Plecópteros que passam a dominar quando se atinge o Verão. Esta alteração parece estar relacionada com a diminuição de matéria orgânica disponível, uma vez que os Plecópteros apresentam baixa tolerância ao enriquecimento orgânico das águas, sendo típicos de águas oligotróficas.

Os baixos índices de diversidade e equitabilidade registados nos meses de Novembro e Julho, nos ribeiros de eucalipto, devem-se ao predomínio de Oligoquetas e de Plecópteros, respectivamente. Na floresta de caducifólias, os valores mantêm-se estáveis ao longo do ano, como resultado de uma maior estabilidade das condições ambientais neste tipo de habitat. Nestes cursos de água, apesar da queda das folhas atingir o máximo no Outono, a variedade de materiais vegetais é muito elevada, com taxas de decomposição diferentes, o que permite uma sucessão temporal de matéria orgânica disponível ao longo do ano.

• Distribuição zonas lóticas/zonas lênticas

A distribuição dos grupos faunísticos de acordo com as características hidrológicas dos cursos de água parece registar-se de forma distinta entre os vários tipos de ribeiro. No Ribeiro do Covelo, o número de taxa variou de acordo com as condições físicas do meio, menos severas durante os meses de Primavera e Verão: houve um acréscimo do número de taxa nos locais com corrente, enquanto nas águas mais paradas este número se manteve relativamente constante (pequena redução do número de indivíduos). Na Silveirinha, o provável aumento do número de grupos faunísticos e indivíduos em ambas as zonas parece sugerir um padrão de distribuição condicionado ao tipo de decomposição de materiais vegetais em ribeiros de eucaliptos e não pelo efeito das condições físicas adversas. Desta forma, parecem não existir diferenças na distribuição do número de taxa e indivíduos entre as zonas lóticas e zonas lênticas de um ribeiro situado num eucaliptal.

• Estrutura trófica

A proporção entre limnívorus e fragmentadores parece reflectir, também, os padrões de disponibilidade dos recursos alimentares nos ribeiros de eucaliptos. Nestes ribeiros, os limnívorus (maioritariamente constituídos por oligoquetas) são mais abundantes no Outono, enquanto na Primavera e Verão dominam os fragmentadores, coincidindo com a transformação

da matéria orgânica presente neste tipo de cursos de água. Depois do Verão, o número de taxa e de indivíduos fragmentadores vai aumentando, possivelmente como resposta ao lento condicionamento do material vegetal depositado nesta estação do ano. Segundo Abelho (1994), a quantidade de matéria orgânica fragmentada em ribeiros de eucalipto é mais elevada no Verão, permitindo uma grande abundância de limnívoros. Na Ribeira da Silveirinha, a elevada percentagem de indivíduos deste grupo, no Outono, parece resultar do mesmo padrão de disponibilidade alimentar.

No ribeiro de caducifólias, estes dois grupos funcionais apresentam uma evolução semelhante, mas muito menos evidente, o que parece ser resultado das diferentes taxas de decomposição e sucessão temporal de matéria orgânica disponível. A proporção entre os diferentes grupos funcionais é mais equilibrada, apresentando um maior número de indivíduos filtradores e raspadores.

Os índices bióticos seguem um padrão semelhante à variação deste conjunto de dados, revelando um valor constante e muito alto no Ribeiro do Covelo, indicador de qualidade de água muito boa, e valores mais baixos nos restantes ribeiros, indicadores das perturbações exteriores neste tipo de cursos de água. A melhor qualidade de água na Primavera e início do Verão nos ribeiros de eucalipto revela, uma vez mais, a disponibilidade temporal da matéria orgânica neste tipo de florestas.

• Ribeiros de Eucaliptos - Comparação com os resultados de 1977/78

A separação entre as estações de 1977/78 e 1994/95 surge bastante evidente na análise de correspondências. Os grupos taxonómicos mais envolvidos nesta ordenação expressam a adaptação da comunidade de macroinvertebrados às novas condições de alimento impostas após a plantação dos eucaliptos. A elevada percentagem de contribuição dos limnívoros no agrupamento das estações de 1994/95 levam a crer que estes foram capazes de aproveitar a alteração do alimento disponível neste tipo de ribeiros. A presença de vários grupos de predadores no ano de 1977/78 sugere a existência de uma comunidade mais uniforme e diversificada em presas. Com a alteração da fonte de alimento e da qualidade da água, parece ter ocorrido uma regulação interespecífica das populações, que levou a um crescimento das espécies limnívoras e a uma redução de outros grupos taxonómicos, nomeadamente filtradores e raspadores, resultando numa menor diversidade específica.

A Primavera e o Verão parecem ser os períodos em que essa alteração é mais visível, seguindo, contudo, uma tendência oposta. Na Primavera, para além da ligeira redução da riqueza faunística, ocorreu uma degradação muito acentuada da qualidade da água. No Verão, o aumento de grupos faunísticos foi acompanhado pelo aumento do índice biótico. Estas

diferenças seguem um padrão geralmente admitido neste tipo de ecossistemas, ou seja, a diminuição da qualidade da água pelo enriquecimento da matéria orgânica, no Outono, e o aumento das condições biológicas favoráveis no fim da Primavera, pela diminuição de matéria orgânica e melhoria das condições físico-químicas da água, entre as quais o aumento de pH.

Nas zonas lênticas, as alterações parecem ser mais significativas, provavelmente como resultado da maior acumulação de detritos orgânicos e maior sujeição à depleção do oxigénio dissolvido na água causada pela decomposição da matéria orgânica. Além disso, estas zonas, frequentes em ribeiros de eucaliptos durante as condições climatéricas mais secas, estão mais sujeitas à influência de qualquer poluente, uma vez que o seu factor de diluição será menor. Também a temperatura, no Verão, poderá ser fortemente limitativa em pequenos charcos de água.

CAPÍTULO II - REPRODUÇÃO E ECOLOGIA LARVAR DE *Chioglossa lusitanica*

1. INTRODUÇÃO

Em organismos com ciclos de vida complexos, a identificação dos factores ambientais e o conhecimento da forma como eles actuam na regulação das populações torna-se, por vezes, muito complicado.

Nos anfíbios, as características físicas e biológicas do meio aquático afectam o desenvolvimento e crescimento das larvas (Blakely, 1981; Lynch, 1989; Buns e Ratte, 1991), condicionando, assim, a biologia e a adaptação dos indivíduos adultos (Shneider, 1980; Semlitsch *et al.*, 1988; Lynch, 1989).

A metamorfose, transição entre a fase aquática e terrestre, está associada a uma mudança abrupta na ontogenia, morfologia, fisiologia, comportamento e habitat (Wassersug, 1974, 1975). O momento desta transição pode ser uma característica fenotípicamente adaptável como resposta a alterações da qualidade do habitat larvar (Werner e Gilliam, 1984; Rowe e Ludwig, 1991). Os períodos larvares longos estão frequentemente associados com grandes tamanhos corporais na metamorfose, aumentando a probabilidade de sobrevivência, sucesso na reprodução, fecundidade e diminuição da idade da primeira maturação (Berven e Gill, 1983; Smith, 1987; Semlitsch *et al.*, 1988; Berven, 1990).

Segundo Bruce (1982), a duração do período larvar, a taxa de crescimento e o tamanho das larvas no momento da metamorfose, em Urodelos, difere marcadamente entre populações. Estas diferenças interpopulacionais são frequentemente associadas a variações fenotípicas induzidas por características ambientais locais, como, por exemplo, a temperatura, os recursos alimentares, a densidade de indivíduos, os competidores e os predadores (Berven, 1982; Berven e Gill, 1983; Stearns, 1983; Petranka, 1984).

Em locais com baixas temperaturas, o período larvar dos Urodelos é, geralmente, prolongado e o tamanho das larvas na metamorfose é maior (Sprules, 1974; Ohdachi, 1994). Este tipo de resposta é frequentemente encontrado em salamandras adaptadas a ribeiros de montanha: possuem taxas de crescimento baixas e um período larvar longo de 2 a 3 anos (Thorn, 1968; Bruce, 1980).

A eficácia da alimentação pode, também, ter efeitos significativos nas características do desenvolvimento larvar (Wilbur, 1977; Berven e Chadra, 1988). A falta de alimento reduz, indirectamente, a sobrevivência das larvas pelo aumento do período larvar até à metamorfose e redução do tamanho corporal nesse momento. Deste modo, é aumentada a susceptibilidade às alterações das características hidrológicas do ribeiro (como por exemplo a seca ou o aumento brusco da corrente de água) (Wilbur e Collins, 1973; Petranka, 1984; Smith, 1987; Semlitsch et al., 1988).

O sucesso da fase larvar de uma população depende, também, da interrelação entre as condições climatéricas, tipo de ribeiro e estratégias de reprodução. Em meios aquáticos temporários, existe uma tendência para as populações apresentarem uma frequência de metamorfose significativamente maior, embora com indivíduos de menor tamanho (Semlitsch e Gibbons, 1985). O início da época reprodutiva de determinadas espécies pode estar relacionado com a queda das primeiras chuvas, após o tempo mais seco. Estas populações podem, assim, tirar vantagem dos anos em que a época chuvosa se inicia mais cedo, pelo aumento da taxa de sobrevivência das larvas e obtenção do tamanho da metamorfose antes dos meses mais secos da Primavera e Verão (Warburg, 1992).

O estudo das características larvares em populações sujeitas a diferentes condições ambientais constitui um aspecto de grande importância, quer no conhecimento da biologia da espécie (crescimento juvenil, sobrevivência, adaptações reprodutivas e dinâmica populacional), quer na avaliação da qualidade do meio.

1.1 REPRODUÇÃO DE *Chioglossa lusitanica*

• Reprodução e postura de ovos

O período reprodutivo da Salamandra-lusitânica tem início com a deslocação dos indivíduos adultos para os locais de estivação e reprodução nos primeiros meses quentes da Primavera e Verão (Arntzen, 1981). Os túneis formados ao longo dos cursos de água e as galerias de minas abandonadas são locais frequentemente escolhidos para refúgio, durante os meses mais secos, e para a postura dos ovos.

A ovogénese de *Chioglossa lusitanica*, que decorre ao longo do Verão, resulta, provavelmente, do material de reserva armazenado no corpo (Thorn, 1968; Arntzen, 1981). A utilização deste material pode dever-se à maior dificuldade na obtenção de alimentos nos locais de refúgio e reprodução, desempenhando a cauda um papel importante no armazenamento de energia. Durante este período, os ovos são facilmente visíveis através da pele ventral, existindo

uma correlação positiva entre o número de ovos e o comprimento do corpo das fêmeas (Arntzen, 1981).

A cópula pode ser realizada em águas superficiais ou em terra, nos locais onde normalmente se processa a postura e desenvolvimento dos ovos. A deposição dos ovos é realizada no fim do Verão e Outono, embora já se tenham encontrado fêmeas com ovos no início de Agosto e em Janeiro (Arntzen, 1981; Vences, 1990).

Nos ribeiros, a observação dos ovos depositados é geralmente difícil, já que aparecem debaixo de pedras e em paredes de rochas localizadas em águas estagnadas ou com fraca corrente. Grande parte dos ovos depositados é encontrada nas galerias de minas abandonadas (Gonçalves, 1962; Arntzen, 1981), atingindo, por vezes, grupos de 100 ovos. Nestes locais, a deposição ocorre principalmente em paredes rochosas fortemente inclinadas, cuja humidade é mantida por uma corrente de água muito fraca e superficial. Nas minas, os ovos também podem ser observados debaixo de pedras, não só em pequenos cursos de água, como também em charcos de água estagnada com 20 a 30 cm de profundidade.

Os ovos possuem uma coloração amarelada, têm um diâmetro de 4mm e apresentam uma cápsula gelatinosa de forma esférica ou ovóide.

O tamanho da postura pode variar entre 14 a 17 ovos por fêmea (Gonçalves, 1962; Busack, 1976). A baixas temperaturas, o desenvolvimento dos ovos, entre a postura e a eclosão, leva 6 a 9 semanas (Arntzen, 1981; Vences, 1990).

• Ecologia larvar

As larvas recém-eclodidas apresentam um comprimento corporal de 12 a 13 mm, uma forma bastante delgada, brânquias reduzidas, pequenos membros e uma cauda bem desenvolvida, aproximadamente do tamanho do corpo. A pigmentação dorsal, muito reduzida, aumenta com a idade até atingir, no final do primeiro ano, uma coloração castanha escura.

Na fase larvar, a Salamandra-lusitânica vive principalmente escondida no curso de água entre pedras, ramos e folhas. Do mesmo modo, podem ser encontradas em pequenos buracos e fendas, ou entre a vegetação e raízes submersas pela água. No entanto, as larvas podem frequentar locais na superfície terrestre desde que as condições de humidade o permitam (p.ex. terra, musgo molhado, ou entre os adultos) (Aellen, 1965).

Mais frequentemente do que outras espécies de salamandras, as larvas de *Chioglossa lusitanica* podem ser encontradas em zonas de correntes fortes (Arntzen, 1979; 1981; Thiesmeier, 1994).

As larvas ecloididas no Outono crescem muito pouco durante o Inverno, adquirindo, até ao mês de Maio, um comprimento corporal de 13-14 mm. Durante a Primavera e Verão, o

crescimento atinge valores de 2-3 mm por mês, ocorrendo a metamorfose em larvas com um comprimento corporal médio de 22 mm em Julho, Agosto e Setembro. Contudo, algumas larvas podem permanecer na água durante outro Inverno, sofrendo metamorfose só na Primavera ou princípio do Verão seguinte, com aproximadamente 24 mm (Arntzen, 1981).

Quando atingem a metamorfose, as larvas possuem brânquias ainda mais reduzidas e apresentam riscas dorsais com uma coloração acobreada.

1.2 Objectivos

Para o êxito da fase aquática a qualidade do meio desempenha um papel importante. Num meio aquático com condições mais favoráveis haverá um rápido crescimento dos indivíduos e a metamorfose pode ocorrer em larvas com grandes dimensões ou com idades mais reduzidas (Wilbur e Collins, 1973; Wilbur, 1980).

Em *Chioglossa lusitanica*, o efeito da variabilidade das condições ambientais sob o desenvolvimento e taxas de crescimento larvar é ainda desconhecido. O objectivo deste trabalho consistiu, principalmente, na análise das características larvares procurando correlacionar eventuais diferenças entre as populações estudadas e os factores bióticos e abióticos registados nos dois ribeiros. No estudo do desenvolvimento larvar foram analisadas as distribuições de frequência dos tamanhos obtidos ao longo dos meses, de forma a determinar o crescimento larvar, o tamanho das larvas no momento da metamorfose e a duração do período da fase aquática.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Entre Dezembro e Junho foram efectuadas colheitas mensais de larvas nos dois cursos de água em estudo, à excepção de Janeiro para a Ribeira da Silveirinha, e de Fevereiro para o Ribeiro do Covelo. As amostras foram recolhidas usando sempre a mesma secção do rio, determinada no início do estudo. Na Silveirinha foi utilizado um percurso com 150 m a jusante do túnel, enquanto no Ribeiro do Covelo se procurou escolher uma secção com características hidrológicas semelhantes, perfazendo um percurso com 30 m a jusante do túnel desmoronado.

O tempo dispendido em cada amostragem variou entre 1 a 2 horas, utilizando como armadilha a rede de mão usada na recolha de Macroinvertebrados. A rede foi colocada em locais onde se verificavam correntes fortes e onde a largura do curso de água não permitisse a fuga lateral das larvas. Os animais desalojados através da remoção de pedras, areia, detritos acumulados ao longo do rio e margens eram arrastados pela corrente e capturados. Em locais com águas mais paradas, a rede foi deslocada de forma a remover e arrastar o material depositado no fundo, levantando pedras, detritos e vegetação.

As larvas de *Chioglossa lusitanica* capturadas foram medidas *in situ*, sendo libertadas posteriormente ao longo do curso de água amostrado. Para cada larva foi registado o comprimento do corpo, ou seja, a distância entre a parte mais anterior da cabeça e a inserção dos membros posteriores. As medições foram efectuadas com uma precisão de 1mm usando uma folha de papel milimétrico.

Ao longo do ano foram registados alguns parâmetros físico-químicos da água como a temperatura, oxigénio dissolvido, percentagem de saturação de oxigénio e pH. Os parâmetros obtidos foram, posteriormente, comparados com o desenvolvimento larvar nos dois locais.

A análise dos comprimentos foi feita através da elaboração de histogramas e curvas de crescimento para as duas populações. Para comparar as diferenças registadas no crescimento entre os grupos de larvas foi usado o teste de Mann-Whitney (Sokal e Rohlf, 1995).

3. RESULTADOS

O número total de larvas analisadas nos dois locais de estudo foi de 782, das quais 475 correspondem ao Ribeiro do Covelo e 307 à Ribeira da Silveirinha.

Na figura II.1 está representada a frequência dos tamanhos corporais na série de 6 amostras obtidas em cada ribeiro. Em ambos os locais, a distribuição dos comprimentos é bimodal, indicando a existência de duas classes de idade larvar bem definidas.

As duas populações apresentam duas coortes bem distintas ao longo de todos os meses, a primeira com tamanhos mais reduzidos, correspondente aos indivíduos que passaram o primeiro Inverno na água, e uma segunda coorte com dimensões superiores, correspondente às larvas que permaneceram mais um Inverno em meio aquático. Os limites de cada classe de idade estão perfeitamente definidos, permitindo que os parâmetros de cada coorte sejam directamente estimados através dos valores da frequência dos tamanhos.

• Crescimento larvar

O menor comprimento de corpo encontrado foi de 13 mm em ambos os locais, tendo-se registado larvas com este tamanho até Abril no Covelo, e até Maio na Silveirinha (figura II.1)

No início do estudo, as larvas recém-ecclodidas encontradas na Ribeira da Silveirinha apresentavam um tamanho médio do corpo ($\bar{x}=14,06$, $s=0,80$, $n=46$) superior ao determinado para o Covelo ($\bar{x}=13,79$, $s=0,69$, $n=52$). Nos restantes meses verificou-se o oposto, provavelmente devido a diferenças na taxa de crescimento.

As curvas de crescimento (figura II. 2), obtidas nos dois locais estudados, evidenciam as diferentes taxas de crescimento registadas em cada população. Na Silveirinha, registou-se um crescimento muito lento da primeira coorte até ao mês de Abril, quase não se verificando diferenças no comprimento médio entre os meses de Dezembro e Fevereiro. No Covelo, verifica-se que a taxa de crescimento durante o Inverno é mais elevada, permitindo que em Março o comprimento médio seja já significativamente superior ao da Silveirinha (Tabela II.1). Ao longo dos restantes meses, as diferenças tornam-se ainda mais evidentes. Em Junho, o tamanho corporal médio atingido no Covelo foi de 17,5 mm ($s=1,23$, $n=50$), enquanto na Silveirinha é apenas de 16,06 mm ($s=1,04$, $n=46$). A partir do mês de Abril, os tamanhos máximos variaram entre 19 e 20 mm no Covelo, enquanto na Silveirinha não ultrapassaram, em cada mês, os 16, 17 e 18 mm.

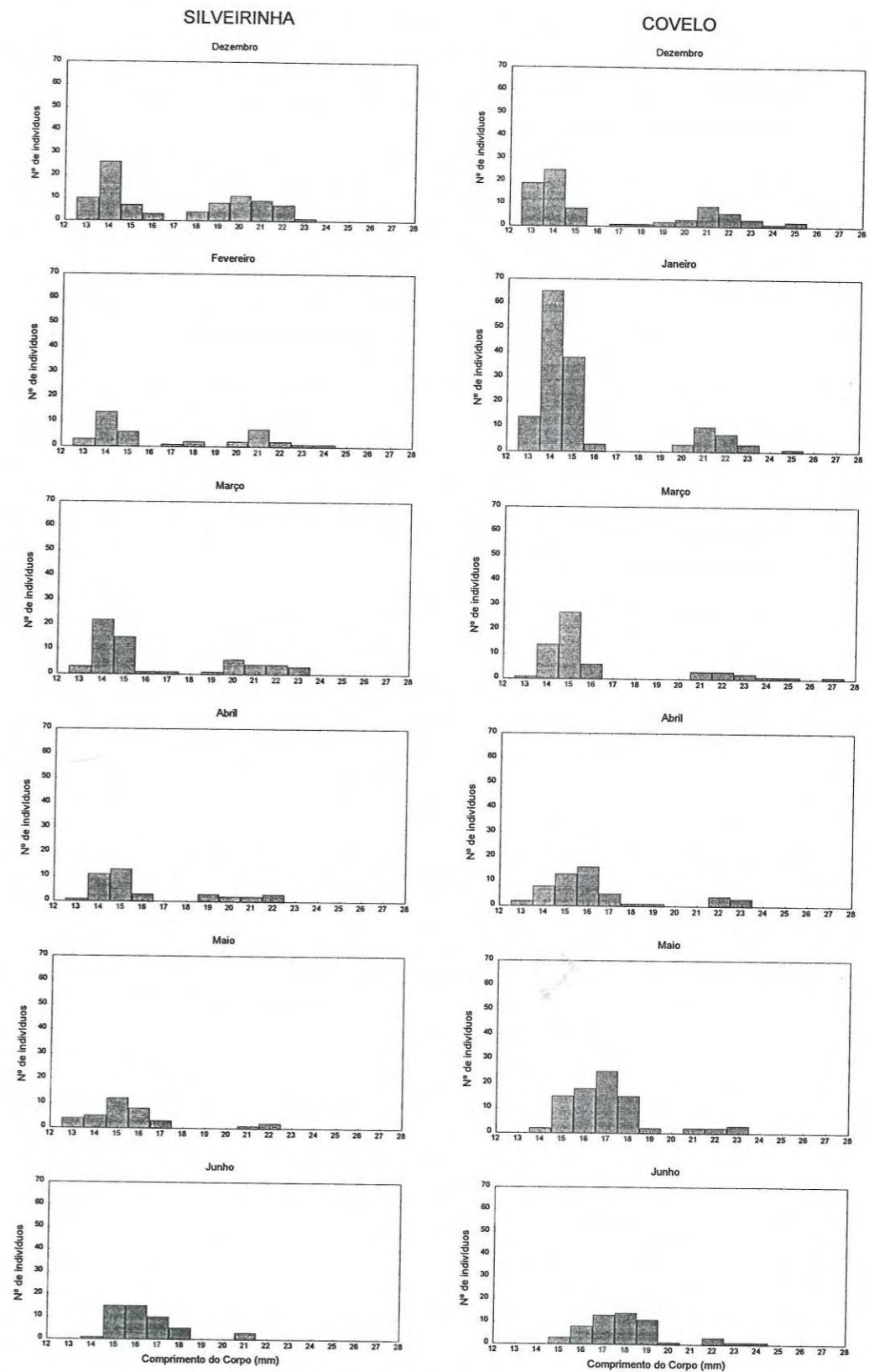


Figura II. 1 - Distribuição das larvas pelos diferentes tamanhos corporais registados nas amostras mensais de cada ribeiro.

Nas larvas da segunda coorte, a taxa de crescimento foi, também, diferente; no Covelo observou-se um aumento médio de 1,5 mm entre os meses de Dezembro e Março, aproximadamente o dobro do crescimento verificado na Silveirinha, com um valor médio de 0,86 mm.

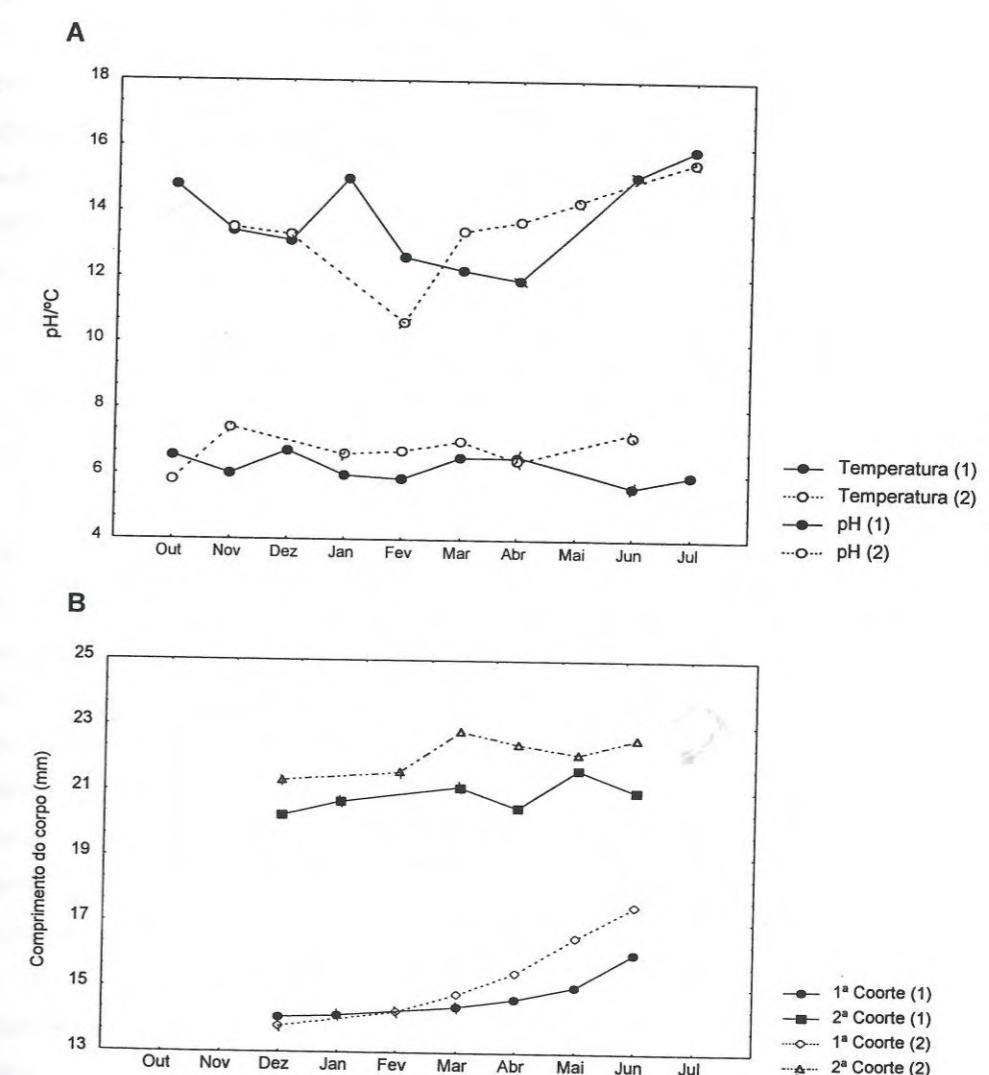
Tabela II.1 - Comparação dos valores obtidos em cada coorte e para cada mês através do teste de Mann-Whitney (*n*- número de indivíduos, \bar{X} - valor médio do comprimento do corpo, *s*- desvio padrão).

Comparação	<i>n</i>	\bar{X}	<i>s</i>	U	Z	P
1^a coorte						
Dezembro						
Silveirinha vs. Covelo	46	14,06	0,80	986	-1,641	P>0,05
Março						
Silveirinha vs. Covelo	42	14,40	0,77	698	-2,745	P<0,01
Abril						
Silveirinha vs. Covelo	48	14,79	0,68	374	-3,127	P<0,01
Maio						
Silveirinha vs. Covelo	46	15,46	1,22	470	-5,201	P<0,001
Junho						
Silveirinha vs. Covelo	77	16,54	1,16	458	-5,192	P<0,001
2^a coorte						
Dezembro						
Silveirinha vs. Covelo	40	20,25	1,32	350,5	-2,662	p<0,01
Março						
Silveirinha vs. Covelo	18	21,11	1,23	45	-2,427	P<0,05
Abril						
Silveirinha vs. Covelo	11	22,82	1,89	6	-2,830	P<0,01
Maio						
Silveirinha vs. Covelo	7	22,42	0,53	7	-0,798	P>0,05
Junho						
Silveirinha vs. Covelo	3	21,67	0,58	0	-2,236	P<0,05

A diferença significativa entre os valores médios deixa apenas de se registrar no mês de Maio, que corresponde ao início da metamorfose. Os comprimentos médios, mínimos e máximos, com exceção do mês de Dezembro, são sempre superiores no Ribeiro do Covelo, quer no período de Inverno, quer durante os meses em que ocorre a metamorfose.

• Período larvar

Os primeiros indivíduos metamorfoeados foram encontrados durante o mês de Março, no Ribeiro do Covelo, e em Abril, na Ribeira da Silveirinha. A diminuição do número de larvas da segunda classe de idade durante estes meses reforça a hipótese do início da metamorfose neste período. No Covelo, 47% das larvas (*n*=19) da segunda coorte apresentaram, após o mês de Abril, transformações características da metamorfose, enquanto na Silveirinha apenas 6,25% (*n*=16) deste grupo de larvas atingiram esse estado.



O número de juvenis recém-metamorfoseados difere, da mesma forma, entre os cursos de água: no Covelo foram encontrados 3 indivíduos em Março e 2 em Maio, enquanto na Silveirinha se registou apenas 1 indivíduo no período compreendido entre Abril e Maio.

• Comprimento das larvas na metamorfose

O menor comprimento encontrado em larvas durante a metamorfose foi de 22 mm ($\bar{x}=22,6$, $n=9$) no Covelo e de 21 mm ($n=1$) na Silveirinha. O registo de um único indivíduo em metamorfose na Ribeira da Silveirinha poderá reflectir o menor número de larvas que atingem esta fase com sucesso.

A análise do comprimento do corpo durante os meses em que ocorre a metamorfose (Figura II. 1) permite, também, distinguir os diferentes tamanhos com que as larvas atingem o estado de transição nos dois tipos de ribeiros. No Ribeiro do Covelo, as larvas possuem comprimentos médios próximos dos 23 mm, enquanto na Ribeira da Silveirinha registam valores médios entre 20,5 e 21,66 mm. Os comprimentos mínimos e máximos, durante os meses em que se verifica a metamorfose, são sempre superiores no Ribeiro do Covelo.

4. DISCUSSÃO

O tamanho das larvas de *Chioglossa lusitanica* pode variar substancialmente durante o início do desenvolvimento devido à variação da época de postura e duração do período de desenvolvimento dos ovos. Sabendo que as larvas recém-eclodidas possuem um tamanho corporal de 12-13 mm, o valor médio de 14,06 mm na Ribeira da Silveirinha, encontrado durante o mês de Dezembro e superior ao detectado no Covelo (13,78 mm), poderá estar relacionado com o início precoce da época de reprodução.

No ano de 1977, o período de postura, fortemente dependente das primeiras chuvas, teve início no fim do Verão e princípio do Outono, após um período seco (Arntzen, 1981). Durante os últimos anos, a existência de Invernos menos chuvosos, e de meses de Primavera mais quentes e com períodos anormais de precipitação elevada (Anexo E, fig. E.1), variação relativamente semelhante à verificada no Verão e Outono, poderá ter levado à formação de condições favoráveis para a reprodução da Salamandra-lusitânica. A Ribeira da Silveirinha, devido à densidade de acáias e eucaliptos presentes nas margens, encontra-se mais suscetível a alterações climáticas (Capítulo I), podendo apresentar grandes modificações nas características hidrológicas.

Durante este ano (1995) verificou-se um período seco, com temperaturas relativamente altas, entre o início de Março e o fim de Abril. Consequentemente, o nível de água sofreu um decréscimo muito grande a partir do mês de Abril. No final desse mês e durante Maio, registaram-se valores altos de precipitação, aumentando, ligeiramente, o caudal do ribeiro. Sob estas condições climatéricas observou-se i) a deposição de um grande número de ovos em minas da região a partir de Maio, ii) a presença de 26 fêmeas com ovos ao longo do ribeiro, entre Maio e Junho, e iii) um início mais precoce da migração para os locais de estivação e reprodução (ainda durante o mês de Abril). A ocorrência deste tipo de condições climatéricas (período seco e com temperaturas altas, seguido por dias bastante chuvosos), normalmente muito semelhantes às verificadas na transição do Verão para o Outono, desencadeou o início da reprodução de *Chioglossa lusitanica*. Desta forma, torna-se mais evidente que o aparecimento de um período muito húmido a seguir a períodos secos e quentes constitui um factor de grande importância na determinação daquele período. Quando estas condições se verificam em locais mais secos, como a Ribeira da Silveirinha, a importância deste tipo de condições climatéricas pode ser, ainda, maior.

Na Silveirinha, uma das vantagens de um início precoce da reprodução, poderá ser a maior permanência das larvas em águas mais quentes durante o Verão e Outono. Desta forma,

um maior período de crescimento alargado, se as condições do Verão o permitirem, pode levar as larvas a atingir maiores dimensões no início do Inverno.

Na Ribeira da Silveirinha o crescimento das larvas da primeira coorte foi muito lento entre Dezembro e Abril, aumentando em média apenas 0,6 mm, enquanto no Covelo e durante o mesmo período de tempo, houve um aumento de 1,67 mm. Em Junho, a diferença de crescimentos entre as populações dos dois locais estudados é, ainda, mais significativa, registando-se um aumento total (desde Dezembro de 1994) de 2 mm no primeiro ribeiro e de 3,72 mm no segundo.

Os recursos alimentares, juntamente com a temperatura, são, em muitos locais, os principais factores responsáveis pela existência de variações no desenvolvimento das larvas de anfíbios (p. ex. Semlitsch, 1980; Juterbock, 1990). As diferenças no crescimento das larvas de *Chioglossa lusitanica* poderão estar, em parte, relacionadas com a variação da temperatura registada ao longo do ano: na Silveirinha, verificam-se valores muito baixos até Abril (mês em que se registou a temperatura mais baixa do ano), aumentando bastante nos meses seguintes; no Covelo, e a partir de Março, registaram-se valores mais altos e muito próximos dos 14º C.

Outro factor importante refere-se aos recursos alimentares disponíveis e à sua possível influência nas taxas de crescimento verificadas nos dois locais. Os ribeiros que atravessam eucaliptais apresentam baixos índices de diversidade e menor abundância de macroinvertebrados ao longo do ano (Capítulo I). A acidez da água, bem como outras alterações provocadas no ribeiro pela floresta de eucaliptos, modificam a estrutura das comunidades de macroinvertebrados (Harte e Hoffman, 1989), alterando e reduzindo o alimento disponível para as larvas de anfíbios.

Para além dos dois factores referidos, registaram-se, também, diferenças significativas entre os valores de oxigénio dissolvido, percentagem de saturação e pH. Estes parâmetros foram quase sempre superiores no Covelo, salientando-se a presença constante de valores de pH mais baixos na Ribeira da Silveirinha (entre 5,4 e 6,7). A este respeito Harte e Hoffman (1989) referem que a acidez da água parece reduzir as populações de salamandras através de cinco mecanismos: 1) inibe o desenvolvimento dos ovos, 2) exerce um efeito tóxico sobre os embriões, 3) exerce um efeito tóxico sobre a população adulta, 4) inibe a actividade reprodutiva, e 5) afecta a cadeia alimentar.

Entre as larvas do segundo ano, as diferenças são relativamente menores. No entanto, volta a registar-se um grande aumento no crescimento nas larvas do Covelo após o mês de Fevereiro, o que pode, mais uma vez, reflectir as boas condições de temperatura, pH e recursos alimentares neste local. Aqui, o aumento de comprimento atingiu 1,5 mm entre Dezembro e Março contra os 0,86 mm verificados na Silveirinha.

Na Ribeira da Silveirinha, as larvas do primeiro ano crescem apenas 3,06 mm após a

eclosão, atingindo em Junho um comprimento médio 5-6 mm inferior ao registado durante a metamorfose. Apesar do ligeiro aumento de crescimento na Primavera e da existência de mais alguns meses até ao Outono com condições favoráveis para o crescimento, o tamanho alcançado em Junho sugere que a proporção de larvas que atinge a metamorfose no primeiro ano é muito baixa. Neste mês, o nível da água baixou muito, persistindo apenas alguns charcos durante os meses de Verão. A redução do número de locais adequados para as larvas reflecte-se no aumento da densidade de indivíduos, um factor que poderá influenciar o crescimento e desenvolvimento larvar. Uma densidade grande de larvas reduz o crescimento e atrasa a metamorfose (Wilbur e Collins, 1973; Wilbur, 1980), modificações certamente agravadas quando a abundância e diversidade do alimento potencial é menor. Na colheita de Dezembro, as larvas da segunda coorte, correspondendo a 50% do total de indivíduos capturados, apresentavam um tamanho médio de 20,25 mm. Esta grande proporção apoia a hipótese de que grande parte das larvas, neste local, atinge a metamorfose durante o seu segundo ano na água.

No Ribeiro do Covelo, o crescimento de 4,5 mm após a eclosão permite às larvas atingir, no mês de Junho, um comprimento médio de 17,5 mm, já mais próximo do tamanho em que sofrem metamorfose. Este facto, aliado à existência de um nível da água superior e a uma maior abundância e diversidade de alimento, permitem supôr que o sucesso da metamorfose em larvas do primeiro ano é maior neste curso de água. As larvas que permanecem mais um ano na água, devido aos mesmos factores, apresentam um tamanho médio superior ao verificado na Silveirinha no início do Inverno.

A metamorfose parece ocorrer mais cedo no Covelo e em larvas com dimensões maiores. Os primeiros juvenis recém-metamorfoseados foram encontrados no mês de Março, enquanto as larvas com características indicadoras deste estado de desenvolvimento representaram, até Junho, 47% do total de animais da segunda coorte. Neste mês, das 5 larvas capturadas, 4 apresentavam um avançado desenvolvimento. Na Ribeira da Silveirinha, esta época tem início, provavelmente, mais tarde, prolongando-se até aos meses de Verão. O primeiro juvenil recém-metamorfoseado foi registado no mês de Abril, enquanto a única larva indicadora dessa transição foi encontrada somente no mês de Junho.

Em suma, a duração do período larvar e o tamanho dos indivíduos de *Chioglossa lusitanica* na altura da metamorfose estão fortemente correlacionados com a variação da taxa de crescimento, por sua vez dependente das condições ambientais e climatéricas de determinada área. As diferenças interpopulacionais verificadas na primeira e segunda coortes parecem estar relacionadas com o tipo de alterações das condições ambientais observadas. As variações de temperatura, a disponibilidade de recursos alimentares e a variabilidade das características hidrológicas dos cursos de água, parecem ser os factores mais determinantes

nestas diferenças. A presença de temperaturas superiores a 13-14°C e uma grande abundância e diversidade de alimento nos ribeiros permitem o rápido crescimento das larvas no primeiro ano. Quando estas condições não são as melhores, as larvas atingem o Verão com pequenos tamanhos, atrasando o desenvolvimento das características necessárias à metamorfose e aumentando, consequentemente, a proporção de indivíduos que permanecem no meio aquático mais um Inverno. Neste segundo ano, o período larvar prolonga-se mais 2-3 meses e as larvas sofrem metamorfose com comprimentos mais reduzidos.

Pelo contrário, a presença de condições óptimas permite um maior sucesso da fase larvar através de um rápido crescimento, menor período larvar e maiores comprimentos das larvas durante a metamorfose.

CAPÍTULO III - ESTUDO DA DENSIDADE POPULACIONAL, ACTIVIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE *Chioglossa lusitanica*

1. INTRODUÇÃO

Um dos principais objectivos da ecologia consiste na identificação do factor, ou factores, que influenciam as características e parâmetros populacionais de uma determinada espécie. O estudo de diferentes populações, residindo em locais distintos, poderá ser importante na identificação e avaliação dos mecanismos que intervêm na dinâmica populacional. Este tipo de análise é fundamental para compreender as adaptações evolutivas em populações naturais, uma vez que as diferenças interpopulacionais podem representar adaptações às condições locais (Schaffer e Elson, 1975; Pianka, 1976; Gill, 1985).

Um determinado recurso pode ser limitante se as alterações na sua abundância provocarem mudanças na densidade das populações que o utilizam (Wilbur, 1972; Vance, 1972). Devido à diversidade das condições dos habitats nos vários tipos de floresta, a forma como as populações se adaptam à alteração dos ecossistemas nem sempre é fácil de prever.

Em alguns ecossistemas florestais, as salamandras são os vertebrados mais abundantes, podendo possuir uma biomassa duas vezes superior à das aves e igual à dos pequenos mamíferos (Burton e Likens, 1975a, 1975b). No caso das florestas portuguesas, a sua representatividade não é tão grande, surgindo, podendo, no entanto, surgir em grande abundância em determinados tipos de ecossistemas. Apesar disto, as salamandras e os Anfíbios em geral, são muitas vezes esquecidos em estudos de ecologia, o que não deixa de ser preocupante quando se sabe que este grupo exige condições muito especiais para completar os seus ciclos de vida.

A Salamandra-lusitânica, tal como outras espécies de Urodelos, necessita de condições muito particulares para a sua sobrevivência, estando dependente de microclimas e microhabitats existentes em determinados tipos de floresta. Estas condições estão por sua vez relacionadas com a estrutura e tipo de vegetação que afecta os regimes de temperatura e humidade à superfície das florestas. Qualquer alteração que provoque a diminuição significativa da cobertura vegetal e reduza a densidade da vegetação rasteira ou a camada de manta morta do solo poderá afectar a abundância e actividade desta espécie.

O monocultivo de eucalipto é apontado como o responsável pelo decréscimo do nível de

água no solo, elevada erosão e alteração da estrutura vegetal à superfície do solo (Terry, 1992; Shakesby et al., 1993). Este tipo de floresta permite um aumento da penetração da luz sobre a superfície conduzindo a um aumento das temperaturas do solo. Como resultado, a perda de água por evaporação aumenta, o que, juntamente com a grande capacidade de utilização da água pelos eucaliptos, torna os solos muito áridos e pobres. A erosão da superfície do solo é outro factor importante neste tipo de florestas, principalmente em regiões onde a precipitação ao longo do ano é elevada. Todas estas alterações reduzem a camada de material vegetal do solo e a diversidade da vegetação, aspectos responsáveis pela manutenção dos microclimas e microhabitats para muitas espécies animais, entre as quais se encontra *Chioglossa lusitanica*.

1.1 Alguns aspectos da ecologia de *Chioglossa lusitanica*

• Habitat

A salamandra-lusitânica é uma espécie que habita preferencialmente ribeiros de montanha de correntes rápidas, inseridos em regiões constituídas por rochas graníticas ou xistosas. A humidade, a existência de locais de abrigo e a presença de áreas sombrias, parecem ser alguns dos principais factores que determinam a presença ou ausência desta espécie ao longo dos ribeiros. O habitat típico, e provavelmente o que reúne as melhores condições para *Chioglossa lusitanica*, é composto por zonas ribeirinhas encaixadas em vales rochosos de densa vegetação, formando um microclima com elevado teor de humidade. Os ribeiros são, em regra, muito sinuosos, surgindo frequentemente quedas de água devido ao tipo de relevo. Nestes microhabitats pode ser encontrado um elevado número de indivíduos.

Os campos cultivados nas margens de ribeiros constituem, também, áreas onde se regista muitas vezes uma grande abundância de *Chioglossa lusitanica*. Estas zonas são geralmente muito húmidas, com bastantes escorrências de água ao longo dos terrenos divididos por socalcos e muros construídos pelo homem, por sinal excelentes locais de abrigo para as salamandras. Ocionalmente, podem ser encontrados indivíduos ao longo de ribeiros atravessando florestas de eucalipto (Goux, 1957; Thireau e Saldanha, 1972; Arntzen, 1981).

As populações estão, geralmente, confinadas às margens dos cursos de água, embora, caso as condições do habitat o permitam se possam encontrar adultos a uma distância que vai dos 20-30 metros até 150-200 metros do ribeiro. Os juvenis encontram-se mais dependentes das margens dos ribeiros (Almaça et al., 1976; Arntzen, 1981; Vences, 1990).

Durante os meses de estivação e reprodução, pode ser encontrado um elevado número de indivíduos em minas abandonadas ou túneis localizados nas proximidades de cursos de água.

• Actividade

A actividade de *Chioglossa lusitanica* parece depender da humidade, parâmetro directamente relacionado com os valores de precipitação e temperatura verificados ao longo do ano. Os períodos de maior actividade registam-se na Primavera, momento em que ocorre a migração para os locais de estivação e reprodução, e no Outono, período em que se dá a reprodução e se processa o regresso dos indivíduos aos ribeiros. Os juvenis não frequentam normalmente os refúgios de Verão e os locais de reprodução, apresentando maior actividade nos meses da Primavera e Outono.

Contrariamente ao período reprodutivo definido para as populações de Valongo (Arntzen, 1981), Vences (1990) refere a existência de épocas de reprodução no Inverno e início do Verão em algumas populações do Norte de Espanha, com um pico mais alto no mês de Junho.

Durante o período de maior actividade, cerca de 90% dos adultos permanecem numa zona até 13 metros do curso de água, enquanto 90% dos juvenis foram observados até 7 metros do ribeiro (Arntzen, 1995). Os adultos parecem ser marcadamente sedentários, com movimentos diários inferiores a 10 metros, junto às margens dos cursos de água (Arntzen, 1979). No entanto, quando estes locais não oferecem as melhores condições de humidade, as salamandras podem migrar para locais de estivação, cobrindo, durante a noite, distâncias que alcançam 200 metros. Estes movimentos terminam, geralmente, em locais de abrigo com elevada taxa de saturação de humidade. A distância máxima percorrida por indivíduos na época migratória atingiu, aproximadamente, 700 metros (Arntzen, 1979, 1981), e foi observada na deslocação para as minas (Serra de Santa Justa).

No Inverno, e durante os períodos mais longos com temperaturas baixas, a observação de indivíduos activos é muito difícil. Segundo Arntzen (1979), as salamandras só não são observadas a temperaturas abaixo de 0 °C. Durante a estivação, os indivíduos permanecem no interior de minas, com condições óptimas de humidade e temperatura, ou então executam deslocações subterrâneas entre as galerias destas minas. No entanto, logo que as condições ambientais sejam mais favoráveis, as salamandras tornam-se imediatamente mais activas e deslocam-se para os abrigos ao longo do ribeiro (Arntzen, 1979), sendo 1mm de precipitação o suficiente para interromper o período de inactividade (Veenstra, 1986).

1.2 Objectivos

A influência dos factores bióticos e abióticos sobre algumas características populacionais de *Chioglossa lusitanica* ainda está pouco conhecida. Por outro lado,

desconhece-se a importância dessas características (p.ex. densidade, estrutura populacional, etc.) nas várias fases do seu ciclo de vida.

Com este trabalho pretendeu-se obter informação sobre a variação local de populações de *Chioglossa lusitanica* sob a influência de uma plantação de eucaliptos, examinando, simultaneamente, uma população em condições ambientais distintas (floresta de caducifólias). Com a finalidade de avaliar a dinâmica destas populações foram efectuadas observações em relação à: 1) estrutura e densidade populacional, 2) distribuição e ocorrência em diferentes tipos de habitat, 3) preferência por determinados tipos de substrato, 4) padrões de actividade e relação com alguns parâmetros ambientais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A grande abundância de indivíduos ao longo dos dois ribeiros estudados permitiu o desenvolvimento de um estudo comparativo entre os meses de Novembro e Junho. A existência, em anos anteriores, de trabalhos na Ribeira da Silveirinha e nas minas da mesma região, permitiu, também, avaliar a tendência de alguns parâmetros populacionais durante a época reprodutiva.

Durante o mês de Novembro, procedeu-se à contagem do número de ovos depositados em duas minas da Serra de Santa Justa: Mina das Águas Férreas e Mina do Inferno. Na visita a cada uma das minas foram registados alguns parâmetros físico-químicos e recolhidas amostras de água para posterior análise em laboratório.

Nos cursos de água estudados foi delimitada uma área adjacente ao ribeiro, onde se efectuaram as prospecções ao longo do ano. Na Ribeira da Silveirinha, a área de amostragem foi dividida em três secções, uma compreendendo um troço anterior ao túnel, o túnel, e uma área situada a jusante. As margens do ribeiro foram prospectadas até uma distância de 20-30 metros do curso de água, ao longo dos 35 m da 1^a secção e 50 m da 3^a secção.

No Ribeiro do Covelo, dada a impossibilidade da entrada no túnel, apenas foram prospectadas a secção anterior e secção posterior ao túnel. Em cada visita, foram prospectados os vários campos em socalcos, bem como as margens do ribeiro ocupadas pela floresta. A parte prospectada mais a montante compreendeu o corredor de floresta autóctone ao longo do ribeiro e 4 lameiros da margem direita (até uma distância de 27m do curso de água), perfazendo uma secção do ribeiro de 16,5 m. A segunda secção estudada consistiu, igualmente, no troço de 28 m do curso de água, delimitado por muros xistosos, e na margem direita de menor declive, formada por dois lameiros nos primeiros 10 metros da margem e, depois, por uma floresta de pinheiros.

As prospecções foram efectuadas, quer durante as condições mais favoráveis para a actividade de *Chioglossa lusitanica* (dias chuvosos e 2-3 dias seguintes), quer durante as condições mais adversas, com tempo seco e temperaturas baixas. Com a ajuda de lanternas, uma a duas pessoas começavam, durante o início da noite, a prospecção no 1º troço de cada curso de água. O tempo dispendido em cada amostragem foi muito variável (1 a 3 horas), uma vez que estava dependente do número de indivíduos encontrados ao longo da área em estudo.

O método de detecção usado pretendeu ser não-destrutivo, analisando-se, apenas, as salamandras visíveis à superfície. Os indivíduos capturados foram marcados através do corte de um dos dedos das patas posteriores, tendo sido utilizado, para ambos os ribeiros, um código

diferente entre as secções a montante e a jusante do túnel. Para cada indivíduo encontrado foi registado o sexo, posição em relação ao curso de água (distância ao ribeiro ou curso de água mais próximo), substrato utilizado, tipo de marcação quando presente, bem como outras informações relevantes. O sexo foi identificado pela presença de tumefacções nos membros anteriores e papila cloacal mais dilatada nos machos. As salamandras foram libertadas no local onde tinham sido capturadas, após o registo da informação necessária.

Em cada prospecção procedeu-se, igualmente, ao registo da temperatura e humidade junto ao solo, bem como das condições climáticas e características hidrológicas verificadas nessa altura.

A informação obtida a partir dos dados de marcação e recaptura foi usada na estimativa do tamanho da população e movimentos ao longo de cada ribeiro. O tamanho das populações foi estimado usando o método definido por Begon (1979).

Na primeira parte deste capítulo procurar-se-á determinar a época de reprodução das populações estudadas e a respectiva densidade populacional nesse período, procedendo-se ao estudo comparativo com dados obtidos ao longo dos últimos 16 anos na Serra de Santa Justa. Na segunda parte são apresentados os resultados sobre alguns aspectos da dinâmica populacional ao longo das três estações mais húmidas.

3. RESULTADOS

3.1 Época de Reprodução

O período reprodutivo de *Chioglossa lusitanica* pode variar geograficamente, surgindo biótopos onde a reprodução ocorre entre Dezembro e Julho, e biótopos em que a época se inicia no mês de Junho e se estende até Novembro (Vences, 1990). Em Portugal, o estudo efectuado nas Serras de Valongo aponta para o início mais tardio da reprodução (Arntzen, 1979, 1981): ocorre durante o Outono, estando geralmente associado com as primeiras chuvas após o Verão. Durante o ano de estudo (1994/1995), a época reprodutiva parece ter sofrido algumas alterações.

Na figura III.1 está representado o número médio mensal de indivíduos encontrados no túnel da Ribeira da Silveirinha.

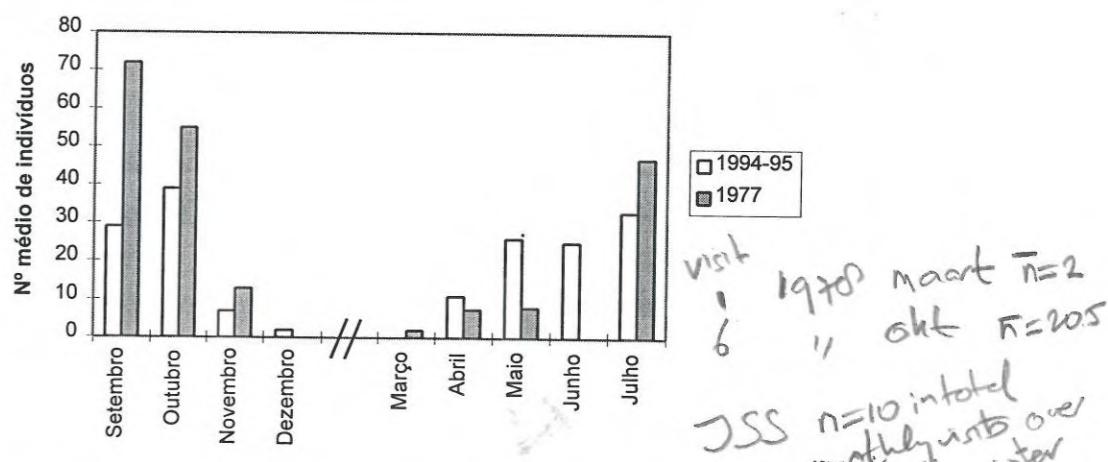


Figura III.1- Número médio de animais observados no túnel da Ribeira da Silveirinha durante os anos de 1977 e 1994-95 (no ano de 1977 não foram realizadas prospecções nos meses de Junho e Dezembro).

No ano de 1977, o grande fluxo de animais para os locais de estivação e reprodução parece ter ocorrido entre os meses de Junho e Julho. Observou-se, ainda, que as salamandras permaneceram nestes locais até muito tarde (Outubro). Relativamente ao ano de 1977, verificou-se um aumento do número de animais entre os meses de Abril e Maio, e uma diminuição nos meses do Outono, sugerindo o início mais precoce da migração e, consequentemente, do período reprodutivo. Esta hipótese é apoiada pelo facto de o aumento de indivíduos dentro do túnel, a partir do mês de Abril, ser acompanhado pela observação de um número elevado de fêmeas com ovos entre Março e Junho (figura III.2).

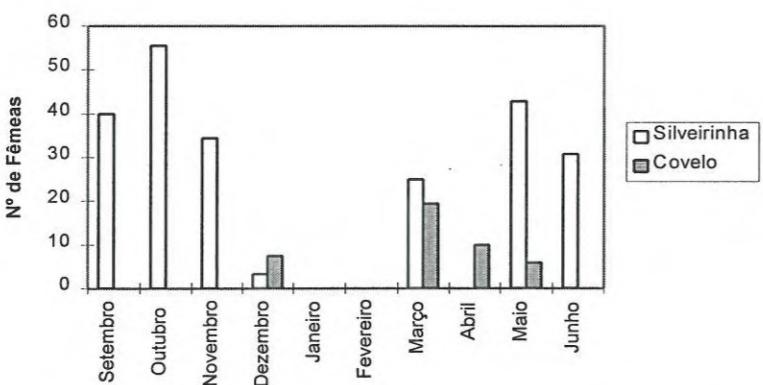


Figura III.2 - Percentagem de fêmeas com ovos observadas ao longo da Ribeira da Silveirinha e Ribeiro do Covelo durante o ano de 1994/95. No segundo ribeiro não se apresentam os valores referentes aos meses de Setembro, Outubro e Novembro pelo facto do estudo só ter iniciado em Dezembro.

Na Ribeira da Silveirinha, aproximadamente 50% das fêmeas apresentava, em Maio, ovos bem visíveis no seu abdómen, proporção semelhante às registadas durante a época de reprodução "normal" (Setembro, Outubro e Novembro). No Ribeiro do Covelo, a presença de algumas fêmeas com ovos atingiu o máximo em Março (19%), diminuindo nos restantes meses. Neste ribeiro, o estudo teve início apenas em Dezembro, registando-se, nesse mês, uma proporção de fêmeas com ovos ligeiramente superior à da Silveirinha.

O grande número de fêmeas com ovos e a presença de um elevado número de animais do mesmo sexo no túnel apontam para um começo prematuro da reprodução. A presença de fêmeas com ovos no início da Primavera, no Covelo, sugere que as condições climatéricas verificadas durante o Inverno e Primavera poderão ter sido favoráveis para a reprodução de *Chioglossa lusitanica*, e até suficientes para se iniciar a ovogénese em alguns animais.

•Tamanho da população

A avaliação da densidade populacional de *Chioglossa lusitanica* durante a época reprodutiva, na Serra de Santa Justa, seguiu uma metodologia semelhante à utilizada em estimativas efectuadas ao longo de vários anos. Estas estimativas têm sido realizadas desde 1976, através da contagem do número de ovos depositados em duas galerias de minas abandonadas e através de métodos de captura e recaptura no túnel da Ribeira da Silveirinha.

Na população da Ribeira da Silveirinha, os dados obtidos ao longo dos anos (Arntzen, 1981; Veenstra, 1986; Vences, 1990) apontam para um aumento da população de *Chioglossa lusitanica* após a plantação de eucaliptos. Veenstra (1986) refere que as populações não têm sido afectadas pela plantação de eucaliptos, uma vez que a sua densidade aumenta de acordo com os valores estimados nas minas, áreas que são menos alteradas.

Tabela III.1 - Estimativa do número de indivíduos adultos de *Chioglossa lusitanica* no túnel da Ribeira da Silveirinha calculada através do método de Begon (1979).

	Setembro	Setembro	Outubro
Nº de salamandas marcadas	-	59	93
Nº de salamandas capturadas	59	35	17
Nº de salamandas recapturadas	-	1	1
<u>Estimativa do tamanho da população</u>			1974
<u>Estimativa do erro padrão</u>			1352

Tabela III.2 - Número de ovos depositados de *Chioglossa lusitanica* nas minas do Ribeiro do Inferno e estimativa do tamanho da população na Ribeira da Silveirinha (1976 e 1977 por J.W.Arntzen, 1984 por G. Veenstra, 1988,1989 e 1991 por M. Vences, 1990 por J. W. Arntzen e M. Vences, 1994 este trabalho).

	1976	1977	1984	1988	1989	1990	1991	1994
Nº de ovos	487	334	97	56	506	150	213	2536
Mina do Inferno								
Nº de ovos	169	208	922	987	1200	1562	2043	1394
Mina das Á. Féreas								
Nº total de ovos	656	542	1019	1043	1706	1712	2256	3932
Tamanho da população	-	1324	2234	-	-	2117	-	1974
Erro padrão	-	265	488	-	-	-	-	1352

Durante este estudo, o número de animais capturados e recapturados no túnel foi insuficiente para permitir uma avaliação precisa do tamanho da população (tabela III.1). Este resultado deve-se, além das condições climatéricas desfavoráveis para a sua observação, ao início da migração, que teve lugar mais cedo, bem como a diversos factores que impossibilitaram uma amostra mais extensa. Apesar da pouca precisão da estimativa do tamanho da população, o seu número não difere muito do registado em 1984, por Veenstra (1986), e em 1990, por Vences (1990) (tabela III.2).

O número de ovos depositados em ambas as minas tem aumentado de forma bastante significativa ao longo dos anos, destacando-se a elevada densidade registada no ano de 1994. Na Mina do Inferno, o número de ovos observados tem variado de forma bastante irregular ao longo dos anos, atingindo em 1994, pela primeira vez, um valor superior ao da Mina das Águas Féreas. Nesta mina foi observado um aumento contínuo desse número até 1991, verificando-se, depois, uma redução em 1994.

Na tabela III.3 apresentam-se alguns parâmetros físico-químicos utilizados na avaliação da água das minas durante o período de desenvolvimento dos ovos. As diferenças mais significativas dizem respeito, sem dúvida, à quantidade de oxigénio dissolvido e percentagem de saturação. Ambos os parâmetros atingem, na Mina das Águas Férreas, valores muito baixos, situação que se afasta muito das condições biológicas normais. Neste local foi, igualmente, registado um grau de acidez elevado.

Tabela III.3 - Parâmetros físico-químicos da água avaliados nas duas minas.

	Oxigénio dissolvido (mg/l)	Saturação (%)	Temperatura (°C)	Nitratos (mg/l)	Nitritos (mg/l)	Amónia (mg/l)	Fosfatos (mg/l)	PH	Dureza (ppm CaCO ₃)	Alcalinidade total (ppm)
Mina das Águas Férreas	1,20	12,5	15,3	0,072	0,0021	0,0042	0,122	5,5	8	7
Mina do Inferno	6,67	66,5	14,6	0,174	0	0,0264	0,003	6,4	9	5

3.2 Densidade populacional e distribuição temporal e espacial

A análise das capturas e recapturas efectuadas após a época de reprodução permite estimar e comparar a densidade e actividade das populações de *Chioglossa lusitanica* durante época de maior actividade (Outono e Primavera) e a época de menor actividade (Inverno).

3.2.1 Densidade populacional e sex-ratio

A estimativa do tamanho das populações permite verificar que existe pouca variação entre as duas áreas estudadas (tabela III.4 e III.5). Contudo, refira-se que a área prospectada na Ribeira da Silveirinha (1140 m²) representa aproximadamente o dobro da utilizada no Ribeiro do Covelo (690 m²). Na primeira foram estimados 11-12 indivíduos por metro de margem ribeirinha, enquanto no segundo se encontraram 16-17 indivíduos no mesmo espaço.

Tabela III.4 - Estimativa do número de indivíduos adultos de *Chioglossa lusitanica* ao longo da Ribeira da Silveirinha através do método de Begon (1979).

Ribeira da Silveirinha	Dezembro 10-11	Dezembro 15	Janeiro 15	Fevereiro 21-24
Nº de salamandras marcadas	-	86	132	182
Nº de salamandras capturadas	86	51	56	15
Nº de salamandras recapturadas	-	5	6	2
<u>Estimativa do tamanho da população</u>				971
<u>Estimativa do erro padrão</u>				184

Tabela III.5 - Estimativa do número de indivíduos adultos de *Chioglossa lusitanica* ao longo do Ribeiro do Covelo através do método de Begon (1979).

Ribeiro do Covelo	Fevereiro 10-13	Março 11-12	Março 17-18
Nº de salamandras marcadas	-	91	137
Nº de salamandras capturadas	91	52	43
Nº de salamandras recapturadas	-	6	8
<u>Estimativa do tamanho da população</u>			742
<u>Estimativa do erro padrão</u>			146

Os valores do *sex-ratio* indicam uma predominância dos machos em ambas as populações, sendo a proporção mais acentuada durante os meses de Outono e Inverno (tabela III.6). Na Primavera, o elevado número de fêmeas activas reduz a razão entre os sexos para proporções muito próximas de 1:1. Esta alteração poderá resultar da diferente distribuição espacial relacionada com fenómenos ligados à reprodução.

Tabela III.6 - Número de machos e fêmeas de *Chioglossa lusitanica* observados nas duas áreas estudadas (os valores a cheio diferem significativamente da proporção 1:1, p<0,05).

	Silveirinha				Covelo			
	Outono	Inverno	Primavera	Total	Outono	Inverno	Primavera	Total
Machos	126	54	94	274	56	82	53	191
Fêmeas	53	19	79	151	27	50	61	138
<i>Sex-ratio</i>								
(M:F) 2,3:1 2,8:1 1,2:1 1,8:1					2,1:1 1,6:1 0,87:1 1,4:1			

3.2.2 Distribuição temporal e espacial

Durante o Outono, a observação de indivíduos activos ao longo dos ribeiros foi muito elevada (figura III.3).

A diminuição da temperatura dentro do túnel da Ribeira da Silveirinha e o aparecimento das primeiras chuvas do Outono foram acompanhados pela migração dos indivíduos para as margens do ribeiro. Este período de migração prolongou-se até Dezembro. No exterior, a actividade parece estar fortemente relacionada com a temperatura ambiente, uma vez que se observa um maior número de animais no terreno adjacente ao curso de água quando são registados valores superiores a 10 °C, independentemente da precipitação.

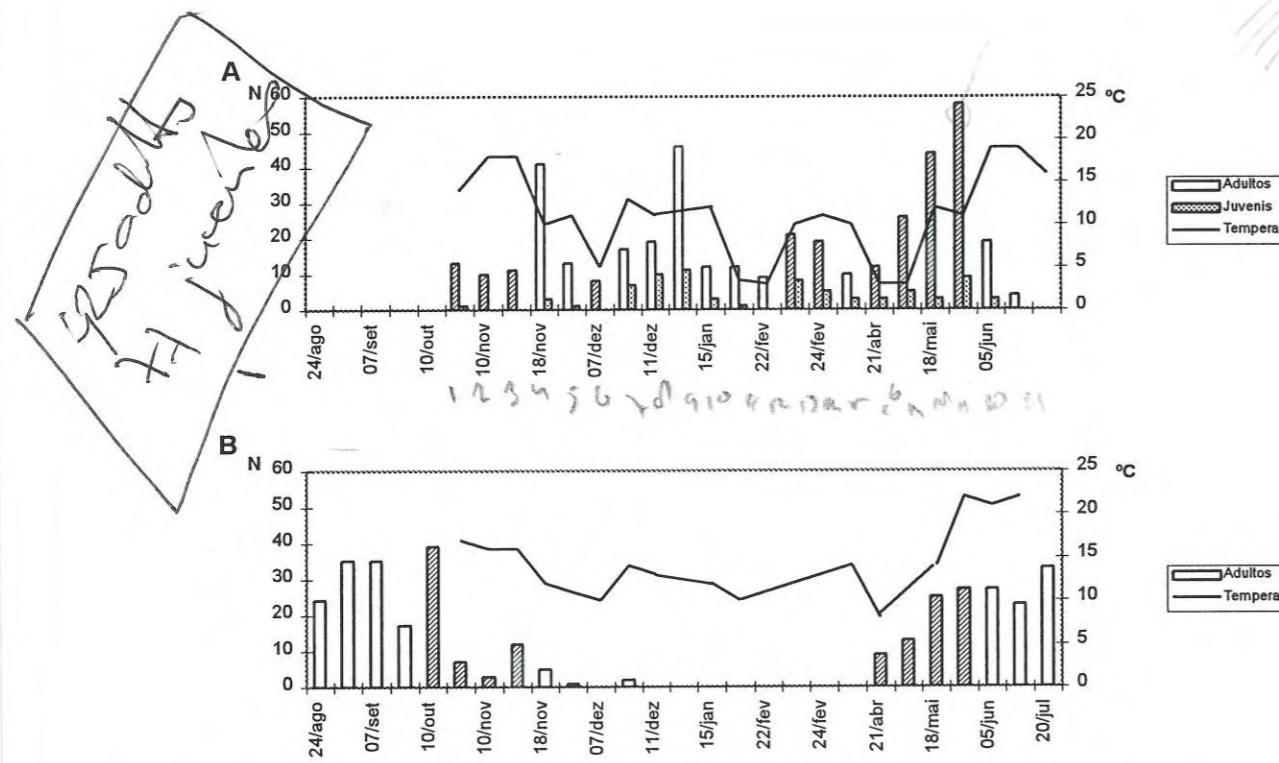


Figura III.3 - A - Número de animais observados ao longo das margens da Ribeira da Silveirinha e temperatura ambiente (as barras a tracejado correspondem a dias com chuva). B - Número de animais observados no túnel e temperatura registada no seu interior.

No Ribeiro do Covelo, a ocorrência destes valores de temperatura, juntamente com a precipitação, parecem ser as condições responsáveis pela grande actividade de *Chioglossa lusitanica* (figura III.4).

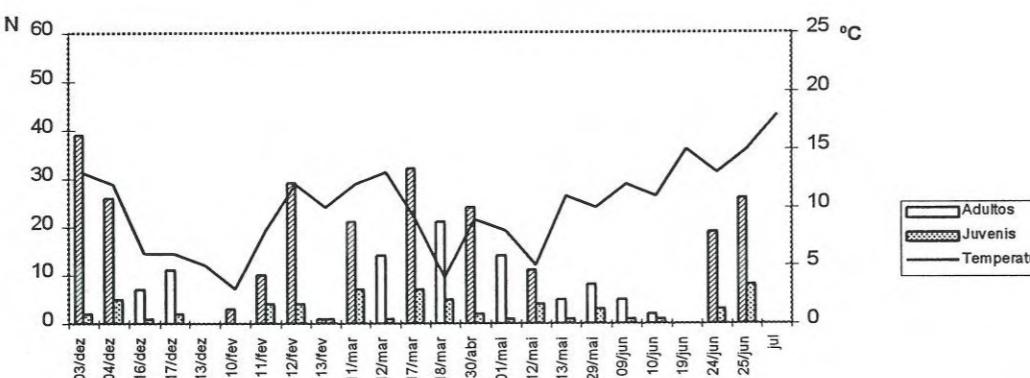


Figura III.4 - Número de animais observados ao longo do Ribeiro do Covelo e temperatura ambiente (as barras a tracejado correspondem a dias com chuva).

Nos meses de Inverno, o número de indivíduos observados difere substancialmente entre os dois ribeiros: na Silveirinha, a actividade é mais reduzida e coincide com dias de temperatura próxima dos 10 °C, enquanto no Covelo as maiores densidades de animais estão

associadas principalmente aos dias chuvosos. Esta relação foi, também, bastante evidente durante as amostragens correspondentes ao Outono.

Durante a Primavera, a precipitação parece ser o factor climático mais importante na actividade dos adultos. As observações só aumentaram quando a ocorrência de temperaturas favoráveis foi acompanhada por dias com precipitação. O registo destas condições entre Abril e Maio, na Ribeira da Silveirinha, foi seguido pelo início da migração para o túnel. No Ribeiro do Covelo, e sob as mesmas condições climatéricas, detectou-se a movimentação dos animais adultos para junto do ribeiro, sendo estes observados, durante o mês de Junho, somente em orifícios de muros que delimitam o curso de água (segunda secção do ribeiro).

A observação dos juvenis esteve fortemente relacionada com a temperatura e a humidade ao longo do ano, parecendo seguir um padrão semelhante ao dos adultos em cada ribeiro. Esta dependência foi mais evidente na Silveirinha, não se observando juvenis, no Outono e Inverno, em noites com temperaturas inferiores a 10 °C.

A distribuição dos animais pelas margens dos ribeiros processa-se de uma forma diferente entre os dois locais. Na Ribeira da Silveirinha, cerca de 90% dos adultos encontram-se à distância máxima de 5m do curso de água durante o Outono e Primavera (figura III.5).

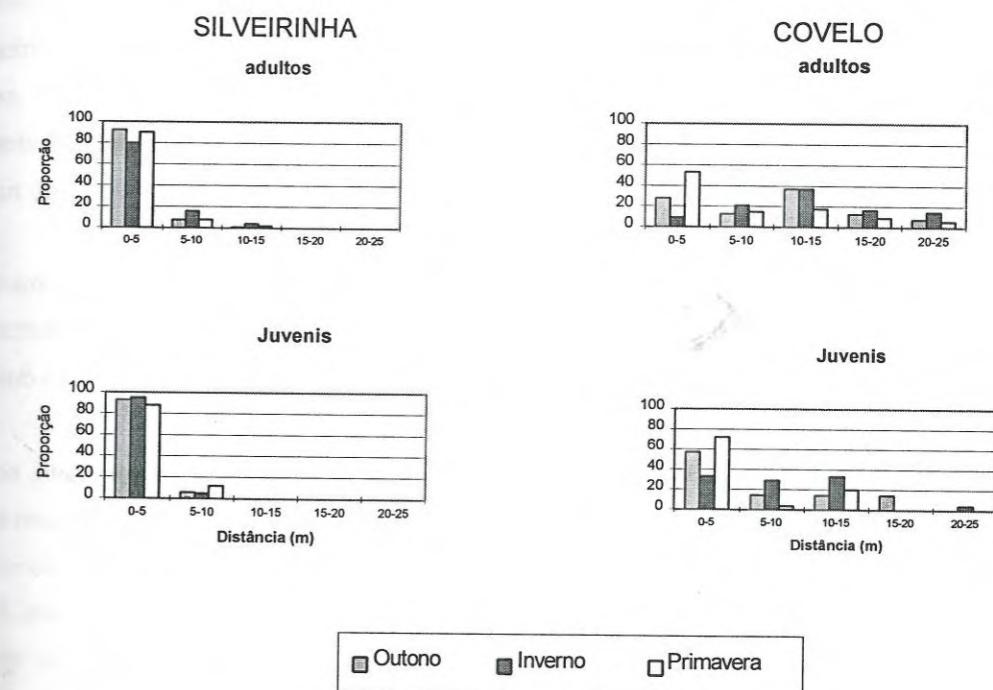


Figura III.5 - Distribuição de adultos e juvenis de *Chioglossa lusitanica* perpendicularmente ao curso de água.

No Inverno, esta proporção reduz-se ligeiramente: 80% dos indivíduos são encontrados até 5 m do curso de água, cerca de 20% situam-se entre 5 a 10 m, enquanto apenas alguns adultos são registados a distâncias superiores. O maior afastamento ocorre sobretudo durante noites chuvosas, podendo os adultos alcançar zonas mais abertas formadas por materiais vegetais de eucalipto.

No Ribeiro do Covelo, e em qualquer das estações, os animais atingiram uma distância máxima de 25 m do curso de água. A Primavera parece ser o período menos favorável para os indivíduos utilizarem locais mais distantes do ribeiro, já que cerca de 55% dos adultos se encontram no corredor florestal até 5m da água. No Outono e Inverno, o segundo lameiro (10-15m) foi a área mais frequentada pelos adultos, provavelmente devido à presença de muros com escorrências de água, o que não se verificou nos outros lameiros.

Para os juvenis da Silveirinha, a actividade até aos 5 m junto ao ribeiro é ainda mais evidente, qualquer que seja a estação. No Covelo são alcançadas distâncias de 25m no Inverno, enquanto nas restantes estações a utilização das margens é mais limitada do que a dos adultos, não ultrapassando os 15 e 20 m na Primavera e Verão, respectivamente. Tal como acontece para os adultos, a Primavera oferece piores condições, encontrando-se cerca de 70% dos animais a 5 m, ou menos, do curso de água.

Em ambos os ribeiros foram registados movimentos horizontais de animais previamente marcados (11 no Covelo e 10 na Silveirinha). A deslocação, em qualquer dos ribeiros, ocorreu para jusante do túnel, em aproximadamente 90% dos animais, enquanto somente 10% se movimentaram no sentido oposto. Apesar de dados bastante similares, a deslocação dos animais deu-se em períodos diferentes: durante a Primavera, na Silveirinha, e no Inverno, no Covelo.

O musgo, a vegetação herbácea e as folhas secas constituem os substratos mais utilizados por *Chioglossa lusitanica* (figura III.6). Contudo, a proporção de juvenis e adultos presentes em materiais formados por musgo e folhas é superior no Covelo, em detrimento dos restantes substratos, preferencialmente utilizados na Silveirinha.

Quando se analisa a distribuição dos animais sob condições climáticas adversas, ou seja, com tempo seco, verifica-se que, quer os adultos, quer os juvenis do Covelo preferem o musgo em relação à camada herbácea e folhas secas. Este resultado deve-se ao facto de os animais permanecerem em locais de maior abrigo, como por exemplo nos orifícios de muros. A presença de musgos nestes locais reflecte, também, as melhores condições em teor de humidade durante o tempo mais seco. Na Silveirinha, a maior utilização deste tipo de substrato é registada apenas nos juvenis que evitam as folhas secas de eucalipto.

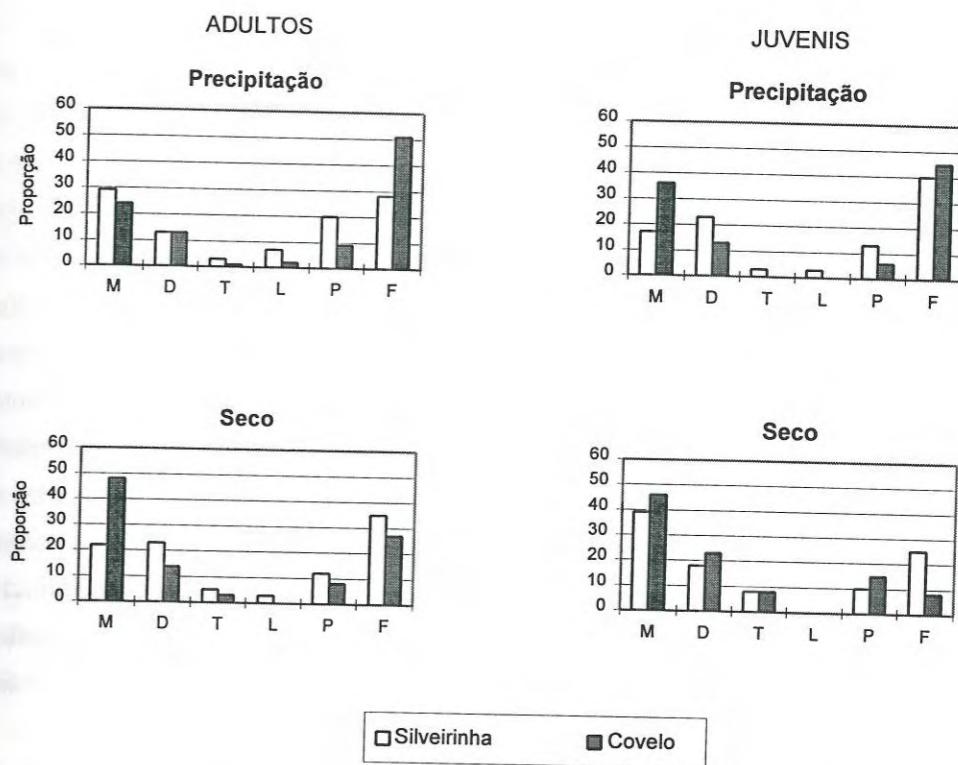


Figura III.6 - Tipo de substrato utilizado por *Chioglossa lusitanica* em condições climáticas diferentes. (M-musgo, D-detritos, T-solo nú, L-madeira, P-pedras, F-folhas secas e vegetação herbácea).

4. DISCUSSÃO

4.1 Época de reprodução

A migração com fins reprodutivos e o aparecimento de animais junto a minas e túneis constituem, em *Chioglossa lusitanica*, fenómenos ainda pouco compreendidos. Segundo Arntzen (1981), o início da época reprodutiva da Salamandra-lusitânica verifica-se no Outono, estando associado à queda das primeiras chuvas. Porém, Vences (1993), ao referir a existência de diferenças entre os períodos reprodutivos de várias populações espanholas e de populações do Norte de Portugal (Valongo), afirma que estas diferenças não se explicam satisfatoriamente através dos dados climatéricos. Muitos investigadores (p. ex. Shneider, 1980; Semlitsch *et al.*, 1988; Lynch, 1989) referem que a biologia e adaptação dos juvenis e adultos de anfíbios está dependente das características físicas e biológicas da água, meio onde se processa o crescimento e desenvolvimento larvar.

Neste sentido, podem surgir adaptações em algumas características populacionais, nomeadamente na duração do período larvar e tamanho dos animais no momento da metamorfose como resposta às condições menos favoráveis do meio ambiente de forma a garantir o êxito da reprodução (Stearns, 1983; Petranka, 1984; Semlitsch *et al.*, 1988; Berven, 1990). Além disso, podem aparecer diferenças interpopulacionais no momento do início do período reprodutivo correspondentes a diferenças na utilização da água nos habitats (Houghton, 1976 *in* Allison *et al.*, 1994). Os ciclos reprodutivos dos anfíbios são frequentemente considerados como adaptações à variação das condições climatéricas (Salthe e Mecham, 1974 *in* Allison *et al.*, 1994), de forma a que, quando os habitats aquáticos são irregulares, estes organismos podem apresentar períodos reprodutivos acíclicos de oportunista (van Beurden, 1979). Quando as condições climáticas permitem a redução do nível da água dos cursos de água, processo que é, provavelmente, intensificado pelo efeito de drenagem causado nos solos de floresta de eucaliptos, as condições ambientais poderão levar a alterações no início da época de reprodução (Capítulo II).

A precipitação e a temperatura são frequentemente referidos como factores importantes que podem desencadear a reprodução nas Salamandras (Hurlbert, 1969; Semlitsch, 1983; Semlitsch, 1985). Além destes, outros factores, como o nível e a temperatura da água podem desempenhar um papel significativo no período reprodutivo. Curiosamente, em *Mertensiella caucasica* (espécie semelhante a *Chioglossa lusitanica*) o início do período reprodutivo é determinado, precisamente, pela temperatura do ar e da água (Tarkhnishvili e Serbinova, 1993).

Durante este trabalho verificaram-se, na Ribeira da Silveirinha, valores de temperatura do ar bastante elevados a partir do mês de Março (Anexo F, fig. F.1), enquanto a temperatura da água sofreu um aumento significativo nos meses de Maio e Junho. A presença de uma grande proporção de fêmeas com ovos nesta altura do ano constitui, ainda, um aspecto relevante, uma vez que a época de reprodução desta população ocorre sobretudo no Outono (Arntzen, 1979; Arntzen, 1981).

Outro resultado interessante diz respeito à distribuição de sexos nos locais de reprodução. Em *Chioglossa lusitanica*, os primeiros indivíduos a migrarem para esses locais são maioritariamente fêmeas, que iniciam este movimento mais cedo do que os machos (Arntzen, comunicação pessoal). A chegada tardia dos machos provoca a inversão da razão entre os sexos no final do período reprodutivo. Esta característica comportamental foi registada de forma bastante clara no período estudado. Durante os meses de Outono, os machos predominaram de uma forma bastante significativa. Já nos meses de Primavera e até Junho, os indivíduos encontrados no túnel eram maioritariamente do sexo feminino, invertendo-se a situação em Julho.

A observação directa da deposição de um grande número de ovos nas minas da Serra de Santa Justa após o mês de Abril comprova que o início da época reprodutiva sucede durante a Primavera. Este fenómeno estará, possivelmente, relacionado com o aumento dos valores de temperatura da água e do ar registados muito cedo durante o último ano, seguindo-se um período de chuva.

No Covelo, a proporção de fêmeas com ovos observada na Primavera coincide, igualmente, com os meses de temperatura mais elevada da água. Contudo, a observação de uma reduzida proporção de fêmeas, das quais nenhuma apresentava ovos, no mês de Junho, leva a supor que a existência de reprodução na Primavera e início do Verão é muito baixa, ou mesmo nula.

Estes resultados parecem indicar que a estratégia reprodutiva de *Chioglossa lusitanica* está dependente das condições ambientais/climatéricas de uma determinada região. A temperatura da água, do ar e a precipitação, são factores que parecem determinar o início da sua época reprodutiva. Quando as condições do habitat interferem nestes factores (neste caso, as alterações provocadas pela plantação de uma monocultura de eucaliptos), a acção do meio ambiente sobre a estratégia reprodutiva de *Chioglossa lusitanica* pode ser ainda mais intensa.

• Tamanho da população

O tamanho das populações de *Chioglossa lusitanica* na região das duas minas da Serra de Santa Justa tem sido avaliado indirectamente, ao longo de vários anos de estudo, através da

contagem de ovos depositados. Devido às boas condições de temperatura e humidade durante a estação do Verão, as galerias das minas funcionam como excelentes locais para a reprodução da Salamandra-lusitânica. Ao longo da Ribeira da Silveirinha, o reduzido número de ovos (apenas 10) encontrados durante o mês de Novembro, foi depositado, separadamente, debaixo de pedras e contra rochas ou musgos submersos por corrente muito fraca. Nas minas, o contínuo aumento do número total de ovos leva a crer que a densidade populacional não tem sido afectada pela alteração dos seus habitats. Após a plantação dos eucaliptos, a população da Silveirinha sofreu um aumento dos seus efectivos até 1984, mantendo-se relativamente constante até 1994. O elevado aumento do número de ovos depositados nas minas a partir de 1984 (1019 para 3930) parece, então, não ser seguido pelo aumento do tamanho da população na Ribeira da Silveirinha. Veenstra (1986) supõe que as condições dos Verões secos anteriores a 1977 podem ter contribuído para uma diminuição da densidade de *Chioglossa lusitanica*. Entre os anos de 1980 e 1984 tornaram a registar-se Verões com precipitações normais, período no qual se verificou um grande aumento no número de ovos nas minas e aumento da densidade populacional na Ribeira da Silveirinha. A partir de 1989, o aparecimento de Verões mais secos foi, curiosamente, acompanhado por um aumento significativo no número de ovos. Perante estas variações, torna-se provável que as populações possam produzir um maior número de ovos como consequência das condições mais adversas neste tipo de habitat. O aumento do número de ovos está associado a uma redução da sobrevivência das larvas, diminuição do tamanho no momento da metamorfose e aumento do período larvar (Berven, 1990), características verificadas em larvas de *Chioglossa lusitanica* neste local. Por outro lado não será de excluir que o aumento do número de ovos resulte de uma maior concentração das populações nestes locais, devido à destruição e redução de habitats ribeirinhos ao longo das Serras de Valongo.

4.2 Densidade e actividade

Um dos aspectos mais notáveis que caracteriza as populações de salamandras de montanha e que habitam as margens de ribeiros é o grande número de indivíduos que ocupa uma área relativamente pequena (Huheey e Brandon, 1973). O elevado número de indivíduos estimados numa área adjacente ao curso de água sugere que as populações de *Chioglossa lusitanica* seguem um padrão semelhante. Os animais encontram-se confinados às margens dos ribeiros, tornando-se indispensável para a sua actividade a presença de locais com elevados teores de humidade e com temperaturas não muito baixas.

O uso das margens na Ribeira da Silveirinha parece não exercer um efeito significativo na densidade populacional quando comparada com uma zona menos perturbada. No entanto,

os dados sugerem que um número semelhante de animais está distribuído de uma forma diferente ao longo do curso de água como reflexo das condições ambientais de cada área.

Os movimentos de migração dificultam, por vezes, a estimativa da abundância desta espécie; contudo, os escassos movimentos registados ao longo do curso de água e o facto de não se terem realizado observações fora da área estudada durante o Inverno permite supor que estes factores não influenciaram o cálculo da densidade populacional.

A actividade, tal como a densidade elevada, pode reflectir a qualidade do habitat e constância de humidade e temperatura, factores que parecem ser determinantes na dinâmica das populações de *Chioglossa lusitanica*. A existência de microhabitats com elevados teores de humidade torna-se essencial para espécies que usam a pele como órgão respiratório, fazendo com que as salamandras permaneçam em abrigos subterrâneos durante o dia e estejam activas à superfície do solo durante a noite, quando a humidade relativa é elevada (Petránka et al., 1994). Quando o seu habitat é modificado, poderão surgir alterações de actividade e de distribuição espacial, em resposta às novas condições ambientais do meio.

Através da análise da distribuição temporal e espacial de *Chioglossa lusitanica* verifica-se que, em florestas de eucalipto, as populações se encontram fortemente confinadas às margens dos ribeiros. Em locais menos perturbados, as salamandras utilizam, em qualquer das estações do ano, locais muito mais distantes do curso de água. A disponibilidade de água é um dos factores mais importantes que influencia o comportamento e, frequentemente, a existência de salamandras em determinados tipos de habitat (Marangio e Anderson, 1977). Uma vez que, nas florestas de eucalipto, a disponibilidade da água parece ser mais reduzida, a limitação das salamandras ao curso de água pode estar relacionada com a presença de condições de humidade óptimas apenas junto ao ribeiro. A humidade do solo pode, então, ser considerada como um factor que limita os movimentos e actividade destes animais, influenciando grandemente a sua distribuição local (Jaeger, 1971; Marangio e Anderson, 1977).

Para além da secura, os solos das florestas de eucaliptos são muito pobres, alterando a estrutura e reduzindo a vegetação rasteira. Estas modificações poderão, por sua vez, repercutir-se sobre o microclima e influenciar o balanço energético, alterando a intercepção da chuva e a transpiração (Versfeld, 1978). No ribeiro estudado, grande parte do solo das margens é ocupado por folhas secas e restos de outros materiais de eucaliptos e acácas, substratos de difícil decomposição. Além disso, libertam compostos que tornam o ambiente menos favorável para outras espécies vegetais. Segundo Vences (1993), a Salamandra-lusitânica evita as folhas de eucalipto, preferindo como substrato a areia, as folhas de caducifólias e as folhas de pinheiro.

A maior humidade registada na área contígua ao curso de água neste tipo de floresta reflecte-se no aparecimento de microhabitats mais favoráveis para *Chioglossa lusitanica*:

surgem locais onde a camada de folhas é substituída por musgo, detritos, solo n ú, raízes e rochas. À excepção do musgo, estes substratos foram mais utilizados do que no Covelo. Este tipo de superfície permite, também, o aparecimento de um maior número de locais de refúgio e abrigo (p.ex. cavidades no solo, entre raízes, rochas e troncos). A maior percentagem de animais encontrados em musgo no Ribeiro do Covelo deve estar relacionada com a abundância deste substrato, reflectindo os maiores teores de humidade neste tipo de habitat. Estas condições permitem que os animais executem grandes deslocações perpendicularmente à margem até ao início dos meses mais quentes de Primavera. O tipo de locais ocupado pelos adultos e juvenis está dependente das condições climatéricas: em dias h úmidos, os indivíduos deslocam-se entre folhas e vegetação herbácea, permanecendo durante os períodos mais secos em locais mais abrigados. Estes refúgios s ão constituídos, principalmente, pelas cavidades dos muros revestidas por grande quantidade de musgos.

Na Silveirinha, a maior preferência pelo musgo, sob condições de menor humidade, s ão foi registada nos juvenis. Este comportamento deve-se, provavelmente, à maior perda de água através de evaporação por parte dos juvenis, referida, por exemplo, para *Salamandra salamandra* (Warburg e Degani, 1979), facto que os poderá tornar mais vulneráveis aos efeitos t óxicos das folhas de eucalipto.

Com temperaturas inferiores a 10 °C, a observação de animais é muito reduzida em qualquer dos ribeiros, mesmo em dias com teores de humidade muito elevados. No entanto, a influência destes dois parâmetros parece ser diferente em cada tipo de habitat, levando a admitir as seguintes hipóteses: na Ribeira da Silveirinha, a actividade muito limitada às margens do curso de água diminui a dependência pelos teores de humidade e, consequentemente, pelos dias com precipitação. Torna-se, assim, mais importante o registo de temperaturas superiores a 10 °C para se verificar maior actividade. Ao contrário, a população do Covelo, com uma distribuição mais ampla, est á sujeita a maiores flutuações de humidade, dependendo fortemente da precipitação para os animais deixarem os locais de refúgio. De facto, o n úmero de animais observados durante os dias chuvosos foi bastante superior no Covelo, enquanto na Silveirinha a maior actividade dependeu, em primeiro lugar, da temperatura registada. Desta forma, justificam-se os movimentos registados durante o Inverno, no Covelo, e durante a Primavera, na Silveirinha.

Na análise do período migratório para os locais de estivação e reprodução, estes factores parecem desempenhar uma função diferente. Em Valongo, quer a saída dos animais das minas e túneis no Outono, quer o início da migração na Primavera, coincidem com os dias chuvosos, independentemente da temperatura, ap ós um período mais quente e seco. Na população do Covelo, o aumento da temperatura na Primavera coincidiu com a diminuição do n úmero de indivíduos distribuídos pelos v ários lameiros, surgindo no inicio do Verão

estritamente confinados aos muros que delimitam o ribeiro.

O sex-ratio das populações sugere uma situação de desequilíbrio, com o predomínio de machos. Na Primavera, a redução desta diferença pode estar relacionada com a deslocação das fêmeas para os locais de reprodução, aumentando a probabilidade da sua captura e observação.

CAPÍTULO IV - APLICAÇÃO DA ESQUELETOCRONOLOGIA NO ESTUDO DA IDADE, CRESCIMENTO E LONGEVIDADE DE *Chioglossa lusitanica*

1. INTRODUÇÃO

Um dos principais objectivos em estudos de dinâmica populacional consiste no conhecimento dos mecanismos que intervêm na estrutura das populações, e o modo como eles se traduzem nas características dos indivíduos dessas mesmas populações. A interpretação da acção dos factores climáticos e ambientais em populações naturais está, muitas vezes, relacionada com o crescimento e idade de maturação dos indivíduos (Bruce, 1989; Bruce e Hairston, 1990). O conhecimento da idade individual dos animais pode fornecer informações importantes sobre a dinâmica das suas populações, dependente das condições ambientais dos seus habitats. Por outro lado, permite, também, a obtenção de dados sobre a idade de maturação, longevidade e crescimento nas diferentes classes de idade.

Entre os muitos métodos propostos para a determinação da idade, a recaptura de indivíduos marcados e a esqueletocronologia encontram-se entre os mais seguros (Halliday e Verrell, 1988).

Apesar da grande fidelidade dos resultados, o primeiro método requer um período de estudo muito longo, estando dependente do sucesso no número de recapturas. A esqueletocronologia, baseada na análise das estruturas esqueléticas dos animais, permite, para além da idade, o acesso rápido a um conjunto informações sobre a biologia de uma espécie (p. ex., idade de maturação sexual, crescimento, longevidade, dimorfismo sexual e interpopulacional, ciclos de actividade e reprodução; Castanet *et al.*, 1993). Além disso, a análise do esqueleto pode fornecer informações acerca das condições ambientais em que ocorre uma determinada população (Caskel, 1972, 1976 *in* Castanet *et al.*, 1993).

1.1 Métodos esqueletocronológicos

A análise esqueletocronológica consiste na identificação, contagem e interpretação das marcas de crescimento observadas no esqueleto dos animais que apresentam um crescimento descontínuo (Castanet *et al.*, 1977). Estas marcas estão relacionadas com os ritmos endógenos, fortemente sincronizados e reforçados pelos ciclos ambientais (sazonalidade).

As marcas de crescimento, registadas ao nível do tecido ósseo e que representam variações na taxa do crescimento, podem ser observadas em secções transversais da diáfise de ossos longos. A estrutura do tecido ósseo compacto apresenta-se organizada em camadas concéntricas, relacionadas com o tipo de deposição rítmica que forma as marcas de crescimento. A diáfise, zona onde o diâmetro do osso se torna mais constante, é formada pela camada medular e pelo córtex, ou periósteo (tecido conjuntivo responsável pela osteogénesis). É devido à acção do periósteo que se verifica a deposição centrífuga de tecido ósseo na área cortical diafisária. Na sua parte mais interna, o tecido conjuntivo, dotado, igualmente, de propriedades osteogénicas, forma o endósteo, zona responsável pela deposição em direcção centrípeta do osso endosteal.

Por vezes, ocorrem fenómenos de erosão nas duas camadas, dando-se a formação de uma camada endosteal secundária separada da camada perióstica por uma linha crenada designada por Linha Cimentante de Reabsorção (Castanet, 1979). Ao longo desta linha, verificam-se fenómenos de reabsorção osteoclástica seguidos de reconstrução óssea.

As marcas de crescimento resultantes da deposição rítmica de camadas concéntricas de tecido ósseo, utilizadas na determinação da idade, podem ser agrupadas em três categorias (Castanet et al., 1993):

1. Camadas opacas (camadas de crescimento rápido)

Inicialmente designadas por "Zonas" (Peabody, 1961), correspondem a períodos de intensa actividade osteogénica, formados durante períodos de elevado metabolismo. São as marcas mais largas, opacas e ricas em osteócitos aleatoriamente distribuídos. Em luz polarizada, apresentam-se completamente escuras.

2. Annuli (camadas de reduzido crescimento)

Os annuli representam períodos de menor actividade osteogénica. São camadas ósseas mais estreitas do que as camadas opacas, possuem poucas células e são mais cromófilas. Em luz polarizada, apresentam-se muito claras.

3. Linhas de Paragem de Crescimento (LPC)

Estas estruturas, designadas por "Lines of Arrested Growth" (LAG) (Castanet et al., 1993) ou "Lignes d'Arrêt de Croissance" (LAC) (Castanet, 1974, 1981), representam uma paragem temporária da osteogénesis local que, segundo Smirina et al. (1986), pode durar algumas semanas. As Linhas de Paragem de Crescimento (LPC) são muito estreitas e aparecem como as estruturas mais brilhantes submetidas a luz polarizada. Com corantes como a hematoxilina, as LPC são as formações mais cromófilas. Estas podem aparecer num annulus, ou mais frequentemente, alternando com as zonas e limitando os annuli.

A determinação da idade através da leitura das estruturas rítmicas registadas, principalmente, no periósteo, está dependente do conhecimento da periodicidade de deposição das marcas de crescimento.

O conjunto formado pela camada opaca e um annulus e/ou LPC corresponde a um ciclo de crescimento completo. Em animais poiquilotérmicos, de climas temperados, a sazonalidade das condições climáticas é o principal factor responsável pela variação do ritmo de crescimento, registado ao nível do tecido ósseo (Castanet et al., 1993). Nestes locais, muitos estudos assumem que a série de marcas de crescimento (camada opaca e annuli e/ou LPC) é formada cada ano e, por conseguinte, a idade cronológica é determinada pelo número de annuli ou LPC.

Em animais homeotérmicos e poiquilotérmicos, sob a acção de condições ambientais menos irregulares, o crescimento anual permite, também, a formação de marcas de crescimento (Castanet e Gasc, 1986 in Castanet et al., 1993). Nestes casos, as marcas são menos evidentes, confirmando, contudo, a existência de um ritmo endógeno de crescimento. Deste modo, pensa-se que a periodicidade das marcas de crescimento está directamente relacionada com o ritmo interno de crescimento dos organismos (e, portanto, geneticamente determinada) que, sob a acção de condições naturais, se torna sincronizado e reforçado pelos ciclos sazonais (Castanet, 1985, 1986-1987; Castanet e Naulleau, 1985), mesmo que esses ciclos tenham baixa amplitude (Meunier et al., 1979).

Embora esteja demonstrado que, na maior parte dos vertebrados, as séries de marcas de crescimento têm uma periodicidade anual, existem excepções em que se pode formar mais do que uma LPC ou annulus. A existência de acontecimentos não cíclicos, quer estejam ou não ligados aos ritmos biológicos, podem afectar o crescimento do organismo e formar marcas de crescimento designadas por Linhas Suplementares. Geralmente, estas alterações estão muito relacionadas com um forte stress a nível fisiológico causado por 1) eclosão (Smirina, 1974; Castanet, 1978, 1985; Lecomte et al., 1985), 2) metamorfose (Hemelaar, 1985), e 3) doenças, períodos de alimento reduzido e variações climáticas anormais (Storey, 1958). As linhas suplementares apresentam a mesma estrutura das marcas de crescimento, dificultando a sua identificação, o que, por sua vez, complica a estimativa da idade.

1.2 Objectivos

A importância do conhecimento da estrutura etária e outros componentes demográficos, aliada à inexistência deste tipo de informação para *Chioglossa lusitanica*, tornou de extrema importância a realização de um trabalho neste domínio, usando como suporte a técnica esqueletocronológica. Deste modo, o objectivo deste trabalho consistiu no estudo da

aplicabilidade desta técnica na identificação, interpretação e contagem do número de LPC eventualmente presentes em secções de fémures e húmeros de *Chioglossa lusitanica*.

Pretendeu-se, ainda, analisar a relação entre o comprimento do corpo e a idade estimada para cada animal, bem como utilizar simultaneamente este conjunto de informações na análise das características demográficas de *Chioglossa lusitanica*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Desenvolvimento da técnica e caracterização das amostras

A aplicação da esqueletocronologia na determinação da idade em *Chioglossa lusitanica* teve início em Dezembro de 1994. Nos primeiros meses, o desenvolvimento do trabalho consistiu no aperfeiçoamento da técnica e comparação das marcas de crescimento ao nível das diferentes peças ósseas.

Os primeiros cortes histológicos foram realizados em falanges, húmeros e fémures incluídos em parafina. Durante esta fase, a grande dificuldade na realização de cortes adequados em falanges levou ao abandono deste tipo de estruturas. As falanges de *Chioglossa lusitanica* são peças ósseas muito pequenas, de manipulação muito difícil. Numa segunda fase, e em cada um dos locais, foram capturados 120 indivíduos, que, por dificuldades encontradas na obtenção de cortes adequados e na sua interpretação, não puderam ser considerados na totalidade. Analisaram-se histologicamente os fémures e húmeros de 75 animais da Ribeira da Silveirinha, e de 91 animais do Ribeiro do Covelo, capturados durante Fevereiro, Maio e Junho. Nestes indivíduos, determinou-se o sexo, o comprimento do corpo e outras informações relevantes. Simultaneamente, analisaram-se histologicamente os húmeros e fémures de larvas da primeira e segunda coortes, e juvenis recém-metamorfoseados, testando-se a existência de linhas de paragem de crescimento nestes animais, e procurou-se verificar a correspondência entre o número de linhas presentes nos dois grupos de larvas e nas classes de juvenis.

2.2 Técnica utilizada

A - Preparação das peças ósseas

Os animais capturados foram anestesiados com uma solução de éter (75%, v/v). De cada animal foram retiradas quatro peças ósseas: os dois húmeros e os dois fémures. Após terem sido cuidadosamente descarnados, os ossos foram fixados numa solução de formol (10%, v/v). No dia anterior à inclusão, os ossos foram descalcificados numa solução de ácido nítrico (5%, v/v) durante 20 a 30 minutos (de acordo com o tamanho do osso). Este ácido, para além de ter uma acção rápida, permite, posteriormente, uma boa coloração (Castanet, 1975). Os ossos descalcificados foram novamente guardados em formol (10%, v/v).

B - Inclusão em parafina

As peças ósseas descalcificadas foram submetidas a uma série de tratamentos até à inclusão final em parafina (tabela IV.1).

Tabela IV.1 - Banhos e tempos utilizados no tratamento das peças ósseas.

Álcool 70%	Álcool 95%	Álcool 100%	Álcool 100%	Álcool/Xilol (1:1)
30 min	→	1 h	→	1 h
Xilol	Xilol	Parafina	Parafina	
1 h	→	1 h	→	30 min
				→
				Inclusão

C - Cortes histológicos e coloração

Utilizou-se um micrótomo do tipo "Minot" para a realização de cortes transversais com 15 a 20 µm de espessura. As pequenas porções de "ténia" foram montadas em lâmina, através de 3 passos : 1) banho em água fria com algumas gotas de álcool, 2) banho de água a 45°C, e 3) secagem numa estufa a 60°C.

A desparafinização e coloração foram realizadas de acordo com os passos apresentados na tabela IV.2.

Tabela IV.2 - Banhos e tempos utilizados na desparafinização e coloração dos cortes.

Xilol	Xilol	Álcool 100%	Álcool 100%	Álcool 95%
5 min	→	2 min	→	3 min
Álcool	Água	Hematoxilina	Água da	
70%	acidificada		torneira	
1 min	→	1 min	→	15 a 20 min
				→
				10 min
				→
				Montagem

Por fim, procedeu-se à montagem entre lâmina e lamela, numa solução de gelatina glicerinada.

D - Análise das preparações e tratamento de dados

As preparações obtidas para cada animal foram observadas ao microscópio óptico, de modo a seleccionar os cortes que permitissem a melhor visualização das marcas de crescimento. A enumeração das LPC foi realizada apenas na parte mais externa da cortical diafisária (periósteo). A separação entre o endósteo e o periósteo foi rigorosamente determinada pela visualização da linha de separação - linha cimentante de reabsorção - e pela diferença de estrutura e coloração.

Para a determinação da idade, realizou-se a contagem do número de LPC, incluindo as marcas parcialmente destruídas pela reabsorção.

Sempre que possível, a enumeração das marcas de crescimento e a interpretação das estruturas histológicas foram realizadas, simultaneamente, em cortes de fêmures e húmeros do mesmo animal.

A determinação do número de LPC em cada animal foi realizada independentemente das informações morfométricas, ecológicas e biológicas, e repetida duas vezes sem conhecimento prévio dos resultados anteriores. Finalmente, os resultados e uma última leitura foram confrontados e completados com os dados biométricos e ecológicos.

A avaliação da idade dos animais, juntamente com os dados biométricos, permitiu a elaboração de histogramas e respectivas curvas de crescimento para ambas as populações.

As curvas de crescimento foram obtidas de acordo com a equação de crescimento de Von Bertalanffy (Bagenal e Tesh, 1978):

$$L_t = L_{\infty} (1 - e^{-K(t-t_0)})$$

em que,

L_{∞} representa a dimensão máxima que o comprimento do corpo pode alcançar.

K é a constante de crescimento.

t é a idade.

Simultaneamente, foram construídos histogramas de frequência, que permitiram comparar o número de animais por classe de idade em cada população.

No sentido de calcular a taxa de crescimento entre as várias LPC, seleccionaram-se os melhores cortes (LPC regulares e nítidas, com fenómenos de remodelagem menos acentuados). Os diâmetros de todas as LPC consecutivas foram medidos ao microscópio e comparados pelo teste t de Student.

3. RESULTADOS

3.1 Estrutura e região óssea utilizada

A destruição das marcas de crescimento por processos biológicos constitui uma das principais dificuldades encontradas em estudos de esqueletocronologia. Durante a osteogénesis, ocorrem fenómenos de remodelagem (i. e., reabsorção e reconstrução óssea) como resposta a exigências e/ou adaptações fisiológicas e físicas ao longo do ciclo biológico (Dhem, 1967 *in* Castanet *et al.*, 1993).

Nas estruturas ósseas estudadas, os fenómenos de remodelagem foram menos acentuados nos húmeros, onde as LPC se apresentaram mais regulares e de maior nitidez. No fémur, a reabsorção e reconstrução do tecido ósseo foi mais acentuada levando, na maior parte dos casos, ao desaparecimento de grande parte das linhas de paragem de crescimento.

Em ambas as peças ósseas, os cortes efectuados ao nível da diáfise apresentaram fenómenos de remodelagem menos acentuados e marcas de crescimento de contorno mais regular e mais nítido (figura IV.1, IV.2 e IV.3). A existência de um crescimento mais irregular no fémur leva, por vezes, ao aparecimento de uma crista na sua forma, alterando o contorno regular das linhas. Durante a mudança da direcção do contorno das LPC, como resultado do crescimento irregular, estas tornam-se bastante nítidas e facilmente identificáveis no fémur (figura IV.3 - A, B e D).

3.2 Validade do método esqueletocronológico em *Chioglossa lusitanica*: periodicidade e momento de deposição das LPC

3.2.1 Linhas de Paragem de Crescimento em larvas

Em Junho, foi realizada uma experiência utilizando as peças ósseas de larvas pertencentes às duas coortes, e de juvenis recém-metamorfoseados. Os animais, capturados em ambos os ribeiros, foram guardados e fixados em álcool 70% (v/v). Após o registo do comprimento corporal e total foram retirados os quatro membros, seguindo-se um tratamento semelhante ao utilizado nas peças ósseas de indivíduos adultos.

O exame dos cortes histológicos permitiu identificar uma LPC nas larvas da primeira coorte, e duas LPC, claramente separadas, nas larvas da segunda coorte e nos juvenis recém-metamorfoseados (figura IV.1 - A, B e C).

FIGURA IV.1, IV.2 e IV.3

e - Camada de osso endosteal.

r - Linha cimentante de reabsorção que indica o início do processo de reabsorção e reconstrução óssea, separando o osso endosteal e o osso periosteal.

s - Linha suplementar

1 e 2 L - Linhas de Paragem de Crescimento (LPC) correspondentes à fase larvar.

1 a 6 T - Linhas de Paragem de Crescimento (LPC) correspondentes à fase terrestre e representativas da idade do animal em anos.

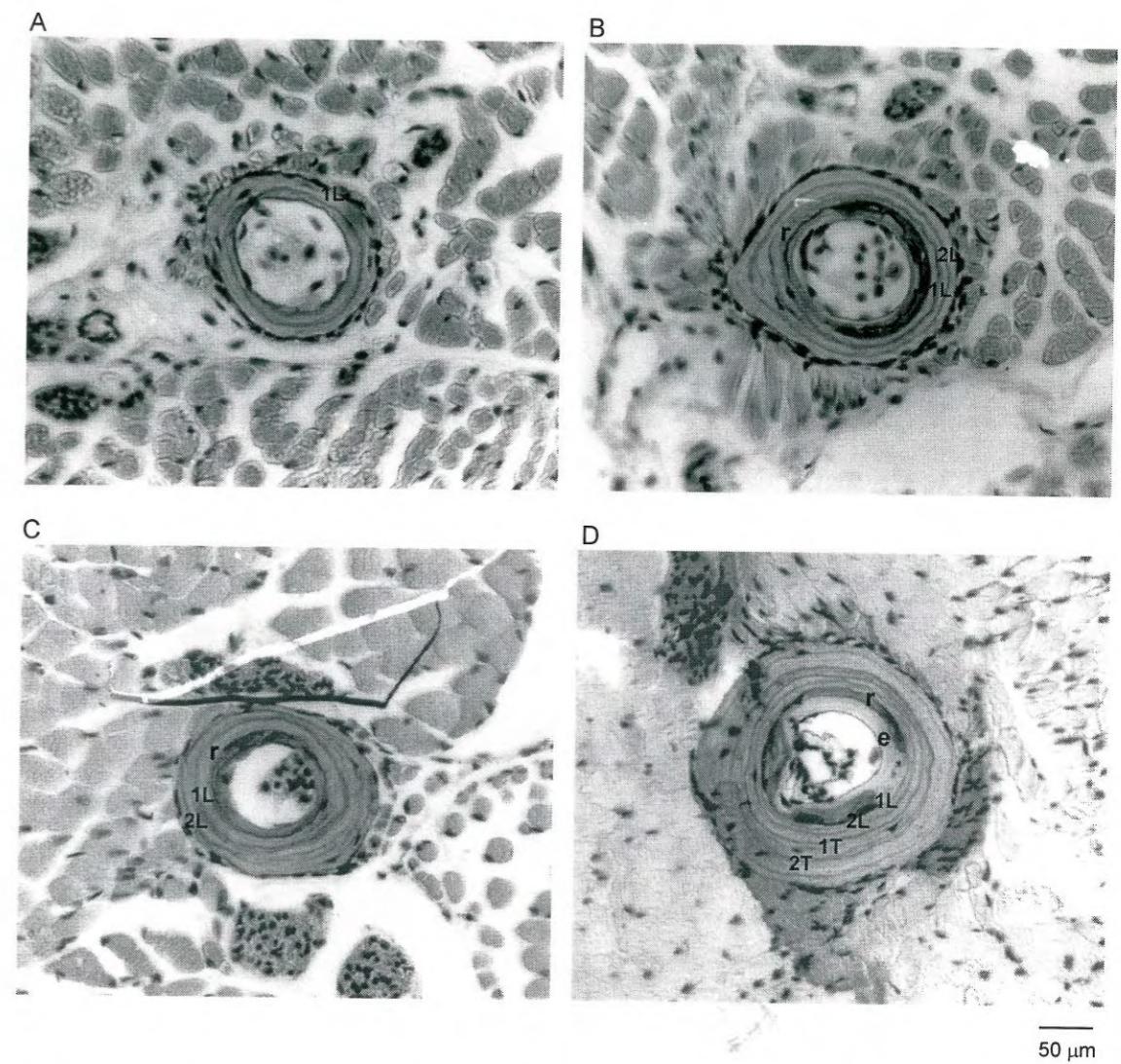


Figura IV.1 - Cortes transversais ao nível da diáfise no fêmur (A e B) e húmero (C e D) de *Chioglossa lusitanica*. Animais capturados na Primavera.

A - Larva da 1^a coorte (comprimento do corpo de 19 mm) do Ribeiro do Covelo. Apresenta 1 LPC correspondente ao primeiro Inverno.

B e C - Larva da 2^a coorte (comprimento do corpo de 22 mm) do Ribeiro do Covelo. Surgem 2 LPC correspondentes aos dois períodos de hibernação na fase aquática.

D - Juvenil do Ribeiro do Covelo com 2 LPC terrestres (comprimento do corpo 34 mm). Nota-se, já, o processo de reabsorção endosteal, atingindo quase a 1^a LPC larvar.

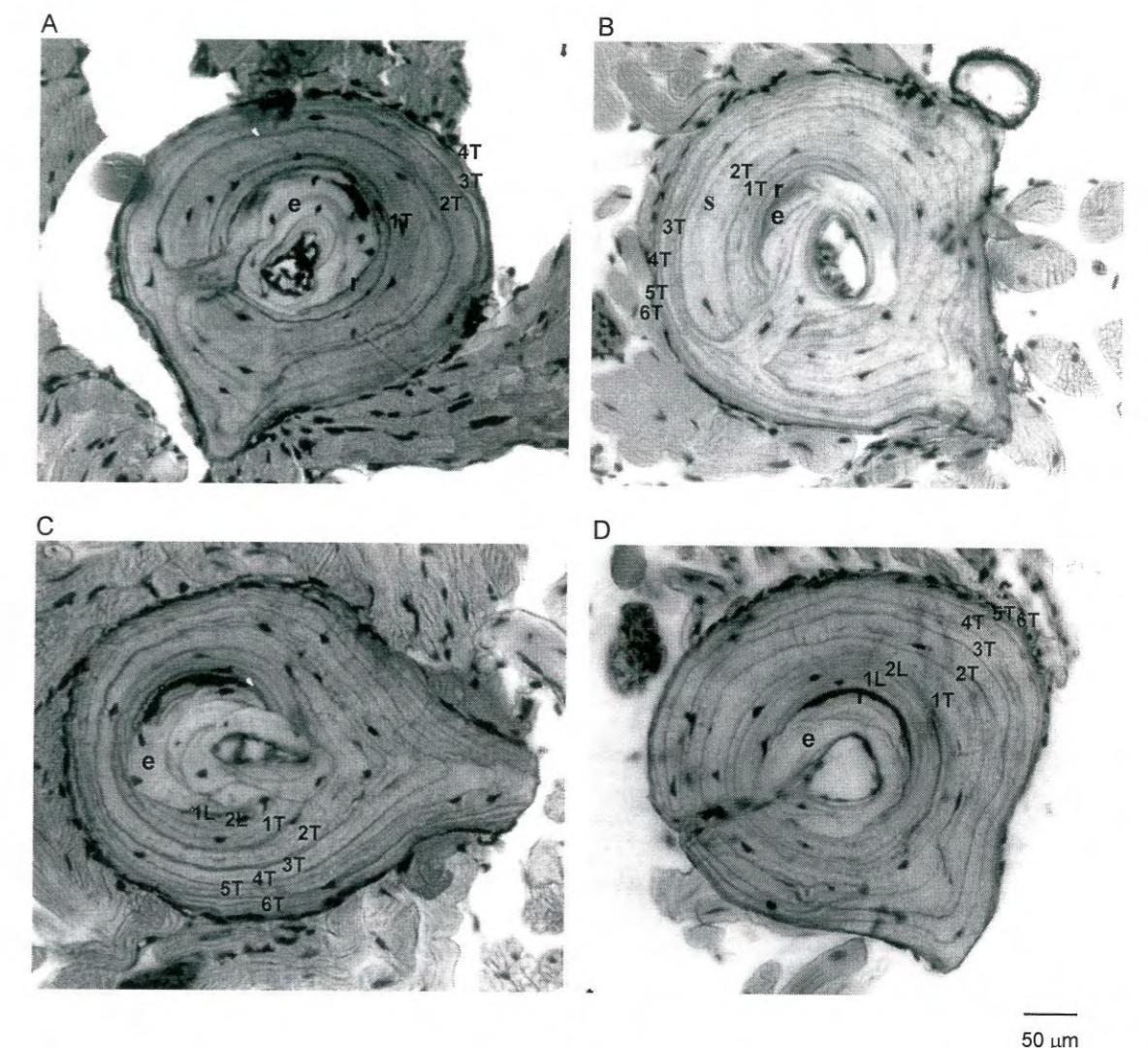


Figura IV.2 - Cortes transversais ao nível do fémur de *Chioglossa lusitanica*. Animais capturados no Ribeiro do Covelo.

A 1^a LPC terrestre aparece bastante hematoxilinófila, contrastando nitidamente com as LPC larvares quando estão parcialmente visíveis.

Existe uma redução do crescimento do tecido ósseo a partir da 3^a-4^a LPC terrestre (idade de maturação sexual).

A - Macho com comprimento do corpo de 43 mm e com 4 LPC terrestres. As linhas larvares já foram parcialmente destruídas.

B, C e D - Fêmeas com 44, 48 e 46 mm, respectivamente. Apresentam 6 LPC terrestres.

B e C - Apresentam linhas duplicadas a partir da 3^a-4^a LPC terrestre.

B - Os processos de reabsorção atingem parcialmente a 1^a e 2^a LPC terrestre. Entre a 2^a e 3^a LPC terrestre observa-se uma linha suplementar.

C - A reabsorção e reconstrução óssea pode processar-se em alturas diferentes, levando à formação de linhas que se intercruzam. A cavidade medular está quase totalmente preenchida por osso endosteal.

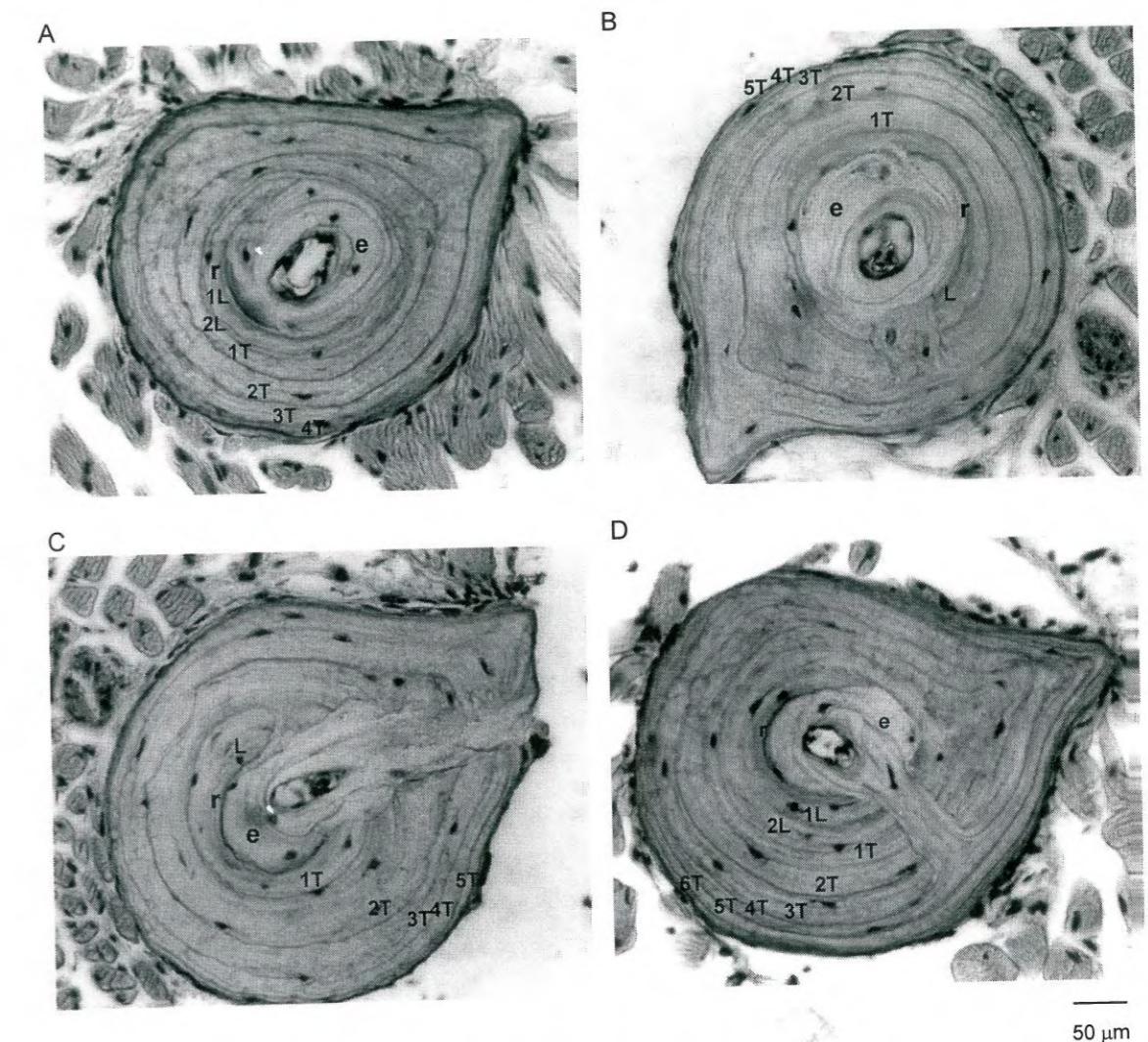


Figura IV.3 - Cortes transversais ao nível da diáfise do fémur de *Chioglossa lusitanica*. Animais capturados na Ribeira da Silveirinha.
Os processos de reabsorção são pouco intensos, não se efectuando de modo concêntrico.

A - Macho com comprimento corporal de 43 mm. Apresenta 2 LPC L bem distintas e 4 LPC T. As 3^a e 4^a LPC terrestres surgem duplicadas.

B e C - Macho com 44 mm (comprimento do corpo). Observam-se 5 LPC terrestres bem distintas. Evidenciam-se, também, as LPC formadas no osso endosteal, não utilizadas na atribuição da idade.

C - Macho com 44 mm (comprimento do corpo) e com 6 LPC terrestres.

A presença de uma linha hematoxilinófila bem distinta em larvas que eclodiram no último Outono, leva a crer que ocorre uma paragem de crescimento e consequente formação da LPC durante o primeiro Inverno do animal. Esta hipótese encontra-se de acordo com o reduzido crescimento larvar verificado para este período (capítulo II). Por outro lado, as larvas que permaneceram mais um Inverno em meio aquático apresentam as marcas da paragem de crescimento registadas durante os dois períodos de Inverno, demonstrando a inexistência de redução de crescimento durante o Verão (estivação). Os juvenis recém-metamorfoseados, tal como as larvas do segundo ano, apresentam duas linhas bem distintas, não surgindo em *Chioglossa lusitanica* uma linha de metamorfose registada em Anuros (*Bufo bufo*) por Hemelaar (1985), e em *Notophthalmus viridescens* por Kazmer (1986).

A observação de marcas de crescimento nestes animais só se consegue efectuar de forma adequada ao nível da diáfise, onde as LPC aparecem perfeitamente definidas no osso periosteal.

3.2.2 Linhas de Paragem de Crescimento em juvenis

Um dos métodos utilizados para a estimativa da idade consiste na realização de histogramas de frequência do tamanho do corpo. A descontinuidade na distribuição dos indivíduos permite, em alguns casos, identificar as diferentes classes de idade presentes numa amostra da população. Contudo, a grande redução e variabilidade individual no crescimento, verificada na fase adulta, limita, em muitas espécies, a aplicabilidade deste método em estudos demográficos. Durante a fase juvenil, caracterizada por um rápido crescimento, são frequentemente encontradas classes de idade bem definidas, diminuindo o risco de incluir no mesmo grupo animais com idades reais diferentes. Com base neste pressuposto, foi confrontada a distribuição das classes de tamanho corporal de juvenis capturados no Inverno com as idades determinadas pela análise esqueletocronológica (figura IV. 4).

A distribuição dos tamanhos entre a metamorfose e a fase adulta parece efectuar-se segundo 4 classes diferentes, o que está de acordo com os resultados obtidos pelo método esqueletocronológico. Tendo em conta que as medições foram realizadas no Inverno, que a análise esqueletocronológica foi efectuada em indivíduos capturados no fim da Primavera (e que, por isso, já passaram um período favorável a um rápido crescimento), a correspondência entre os dois métodos afigura-se como bastante evidente. Esta concordância entre a sequência de classes de tamanho e o número de LPC observadas em cada uma delas, vem apoiar a periodicidade anual de deposição das marcas de crescimento a nível do periósteo de ossos longos de *Chioglossa lusitanica*.

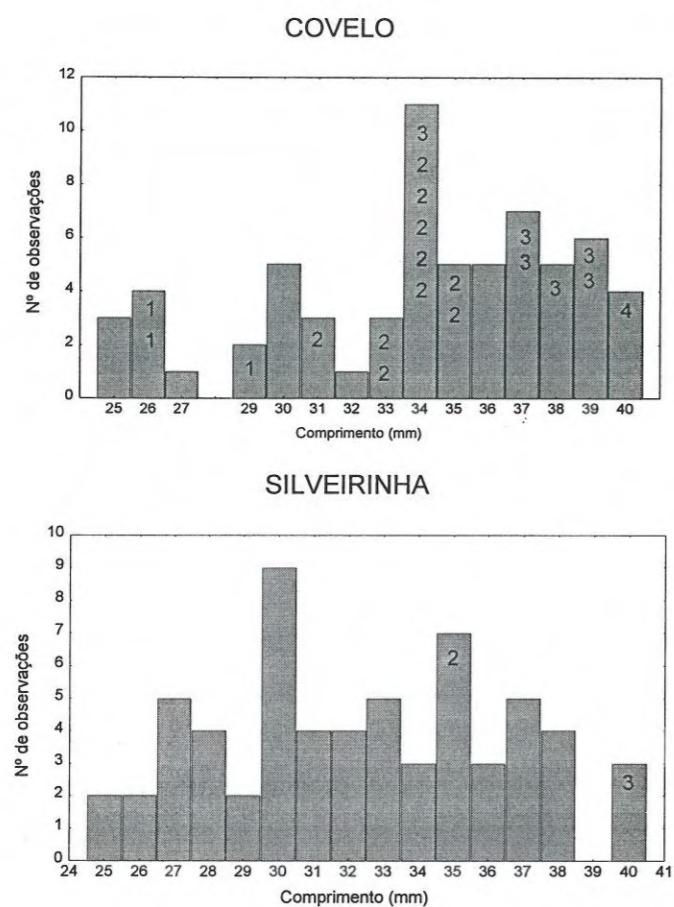


Figura IV. 4 - Distribuição dos animais pelas classes de tamanho e relação com a idade determinada pelo método esqueletocronológico.

O momento exacto da formação destas linhas é mais difícil de estabelecer; contudo, a presença de uma LPC na parte mais periférica dos cortes em qualquer das classes de idade, nos indivíduos capturados em Fevereiro, sugere que a redução de crescimento responsável pela deposição da linha ocorre durante o Inverno. Outro facto que vem apoiar esta hipótese é a maior facilidade encontrada na distinção da última LPC nos indivíduos capturados no fim da Primavera: esta linha já se apresentava bem distinta da periferia do osso periosteal, como resultado do recomeço do período mais activo e de maior crescimento.

3.3 Análise dos dados histológicos

Os cortes de ossos longos de Salamandra-lusitânica apresentam linhas de paragem de crescimento relativas às duas fases do ciclo de vida, reflectindo a existência de condições mais adversas, tanto no meio aquático como no meio terrestre. A presença de uma primeira linha em larvas que acabaram de passar o primeiro Inverno, juntamente com a observação de duas LPC

em larvas que atingem a Primavera do segundo ano, faz supor que não existe a deposição da "linha de nascença", frequentemente observada em répteis (Smirina, 1974; Castanet, 1978; Castanet e Roche, 1981; Pilorge e Castanet, 1981; Nouira et al., 1982; Maury e Barbault, 1983).

O crescimento descontínuo, por aposição centrífuga, permite a formação de marcas de crescimento bem distintas ao longo do osso perióstico. A cortical perióstica, em *Chioglossa lusitanica*, apresenta linhas hematoxilinófilas geralmente bem contrastantes com as camadas opacas. O número destas marcas vai aumentando com a idade do animal, tornando-se mais difícil a sua enumeração em indivíduos mais idosos. O reduzido crescimento após a maturação sexual leva à formação de camadas opacas muito estreitas que, juntamente com as linhas duplicadas, dificultam bastante a contagem das LPC (figura IV.2 - B e C).

A primeira linha, formada na fase terrestre, surge mais hematoxilinófila do que as restantes, e contrasta nitidamente com a linha ou linhas larvares, geralmente muito fracas (figura IV.2).

O osso endosteal, de coloração mais clara, está separado do osso perióstico pela linha cimentante de reabsorção, mais contrastada do que as LPC. A camada endosteal apresenta, como na cortical perióstica, linhas de paragem de crescimento coradas, que, no entanto, não são consideradas para a determinação da idade (figura IV.2 - C, figura IV.3 - B). Estas linhas são mais finas, têm um contorno irregular, são muitas vezes incompletas e surgem frequentemente muito próximas.

Para além das LPC surgem, frequentemente, nos cortes de *Chioglossa lusitanica* linhas suplementares, que resultam de uma redução da taxa de crescimento. Contudo, esta redução ocorre, apenas, num curto espaço de tempo, ou mostra uma intensidade inferior à necessária para formar uma LPC. As linhas suplementares são muito finas e menos contrastantes do que as verdadeiras linhas de paragem de crescimento, surgindo na camada opaca entre duas LPC consecutivas (figura IV.2 - B). Apesar de serem bastante frequentes, estas linhas são facilmente identificadas pelo seu menor contraste e por se apresentarem, na maior parte dos casos, incompletas. Por outro lado, o padrão espacial das LPC facilita ainda mais a sua distinção, não ocorrendo o risco de sobreestimação, ou subestimação, da idade dos animais.

3.3.1 Fenómenos de reabsorção e reconstrução óssea

A destruição das marcas de crescimento por processos biológicos ao longo da vida do animal dificulta, muitas vezes, a contagem das primeiras LPC. A remodelação do osso consiste, primeiro, na destruição do tecido ósseo (actividade osteoclástica) e, depois, numa osteogénesis secundária (actividade osteoblástica) (Castanet et al., 1993). Estes fenómenos, relativamente intensos em *Chioglossa lusitanica*, destroem as LPC correspondentes aos primeiros anos de

vida, dificultando a determinação da idade individual. No fémur, a intensidade de reabsorção é mais elevada, tornando-se mais fácil a identificação das marcas de crescimento em cortes de húmero. Nos ossos longos, a diáfise apresenta-se como a secção onde estes fenómenos atingem menor intensidade e onde as marcas de crescimento são mais distintas.

A reabsorção endosteal, tal como acontece em outros Urodelos, não se efectua de uma forma concêntrica, sendo geralmente mais pronunciada numa das extremidades. Por vezes, formam-se várias camadas de osso endosteal como resultado de reabsorção em tempos diferentes (figura IV.2 - C).

A intensidade da reabsorção óssea em *Chioglossa lusitanica* nunca destrói totalmente a primeira LPC terrestre; no entanto, as linhas larvares aparecem em grande parte dos casos inteiramente reabsorvidas. Em ambas as populações, a reconstrução óssea atinge maioritariamente a primeira LPC terrestre, enquanto a segunda só ocasionalmente é parcialmente reabsorvida (Tabela IV.2) (figura IV.2 - B). A intensidade deste fenómeno parece variar geograficamente quando se analisa a proporção de animais afectados e o número de linhas reabsorvidas. No Covelo, a percentagem de linhas reabsorvidas é maior, surgindo um número maior de animais com a primeira e segunda LPC terrestres atingidas (60% da população). Na Silveirinha, encontrou-se um maior número de indivíduos sem LPC reabsorvidas e uma menor intensidade deste fenómeno, raramente alcançando a segunda LPC terrestre. Neste local parece igualmente ocorrer um dimorfismo sexual relativamente ao número de linhas destruídas. Os machos apresentam uma menor intensidade de reconstrução óssea relativamente às fêmeas, permitindo supor a existência de diferenças na taxa de crescimento e na idade de maturação sexual, factores frequentemente relacionados com a intensidade de reabsorção.

Tabela IV.3 - Proporção dos animais que apresentam as primeiras LPC totalmente ou parcialmente reabsorvidas. Os juvenis, devido ao seu reduzido efectivo, não foram considerados nas proporções totais (J - juvenis, M - machos e F - fêmeas).

Sexo	n	0 LPC	1 ^a LPC Larvar	2 ^a LPC Larvar	1 ^a LPC Terrestre	2 ^a LPC Terrestre
Silveirinha	J 5	0	0	60	40	0
	M 24	8,33	20,83	37,5	29,17	4,17
	F 28	7,14	7,14	32,14	53,57	0
Total	52	7,69	13,46	34,61	42,30	1,92
Covelo	J 13	15,38	38,46	30,77	15,38	0
	M 28	3,57	10,71	25	53,57	7,14
	F 34	2,94	11,76	23,53	55,88	5,88
	Total 62	3,23	11,29	24,19	54,84	6,45

A interpretação dos resultados obtidos em juvenis torna-se difícil devido ao baixo número de indivíduos analisados. Pode, contudo, referir-se uma possível tendência para um início mais precoce dos processos de reabsorção e reconstrução óssea na população do Covelo.

3.3.2 Linhas de Paragem de Crescimento duplicadas

A duplicação das LPC constitui outra das dificuldades na enumeração das marcas de crescimento e, consequentemente, na atribuição da idade aos animais.

As linhas duplicadas correspondem a duas linhas estreitas muito próximas ao longo da sequência de marcas de crescimento no periosteio, tornando-se, por vezes, difícil a distinção de diferentes LPC adjacentes. Em *Chioglossa lusitanica*, este fenómeno é relativamente frequente, dificultando bastante a enumeração das linhas após a maturação sexual dos animais (figura IV.2 - B e C). A partir deste momento, as marcas de crescimento apresentam-se muito mais próximas e o número de linhas duplicadas é maior, tornando-se, em alguns casos, complicada a interpretação de cortes de animais mais idosos. Nestes casos, foram observados vários cortes do mesmo osso, procedendo-se, ainda, a uma comparação com cortes de outra peça óssea. Em muitos cortes, a duplicação das linhas de difícil interpretação surgia apenas em algumas partes do seu contorno. Desta forma, tornou-se mais fácil proceder à contagem das LPC.

Neste trabalho, verifica-se que os animais do Covelo apresentam uma maior percentagem de LPC duplicadas, em que 44% ($n=91$) dos indivíduos mostram pelo menos uma linha duplicada, constituindo o dobro do valor registado na Silveirinha (21%, $n=75$). Além disso, encontrou-se, também, uma grande variabilidade individual deste fenómeno no Covelo, podendo aparecer animais com a totalidade das linhas duplicadas, enquanto na Silveirinha apenas uma ou duas das LPC surgem duplicadas.

Este facto está supostamente relacionado com variações climatéricas particulares e ciclos de actividade biológica da espécie. No Norte de Portugal foram registados resultados muito semelhantes entre populações de *Triturus marmoratus* de diferentes regiões geográficas (Caetano, 1988; Caetano et al., 1985; Caetano e Castanet, 1993).

3.4 Idade e comprimento do corpo

Os dados obtidos por esqueletocronologia permitem analisar a relação entre a idade individual e o comprimento do corpo (figura IV. 5).

Mais uma vez, a relação entre os dois parâmetros só parece registar-se durante a fase juvenil, apesar do reduzido número de animais analisados. Nesta fase são facilmente definidas

três classes de idade, de acordo com a variação do comprimento do corpo. Na fase adulta, esta relação só se verifica em indivíduos com 40, 41 e 42 mm, aos quais foi atribuída uma idade de 4 anos terrestres. A partir destes tamanhos, o mesmo comprimento do corpo pode corresponder a várias classes de idade diferentes e, inversamente, a mesma classe de idade pode apresentar diferentes tamanhos.

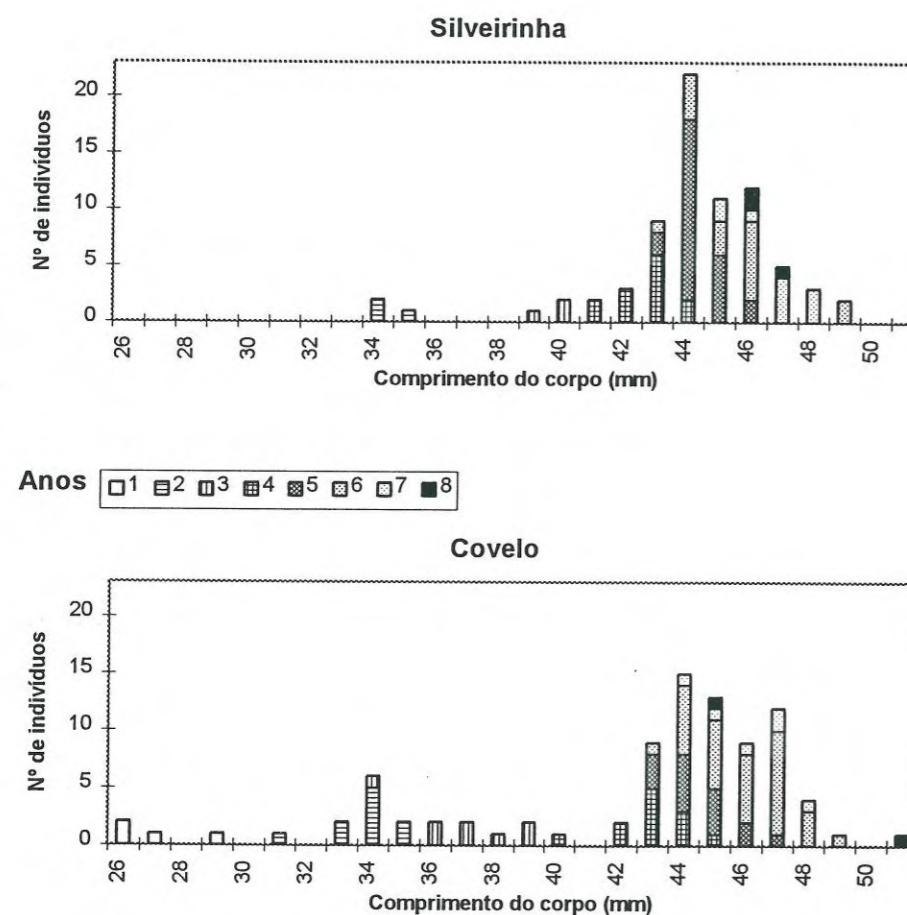


Figura IV. 5 - Distribuição do comprimento do corpo de *Chioglossa lusitanica* e relação com a idade determinada a partir do número de LPC terrestres.

Deste modo, a utilização da frequência dos tamanhos em *Chioglossa lusitanica* para a determinação da idade só é possível durante a fase juvenil. Em animais adultos, a grande variabilidade de tamanhos e a fraca relação com as classes de idade não permitem determiná-la com precisão. A idade máxima atingida é igual em ambas as populações (8 anos em meio terrestre), verificando-se, no entanto, que, para a mesma classe de idade, os animais do Covelo apresentam dimensões superiores.

As dimensões alcançadas pelos animais do mesmo sexo, no Covelo e na Silveirinha, são semelhantes; torna-se, porém, evidente o dimorfismo sexual existente em relação ao comprimento do corpo (figura IV. 6 e tabela IV.4).

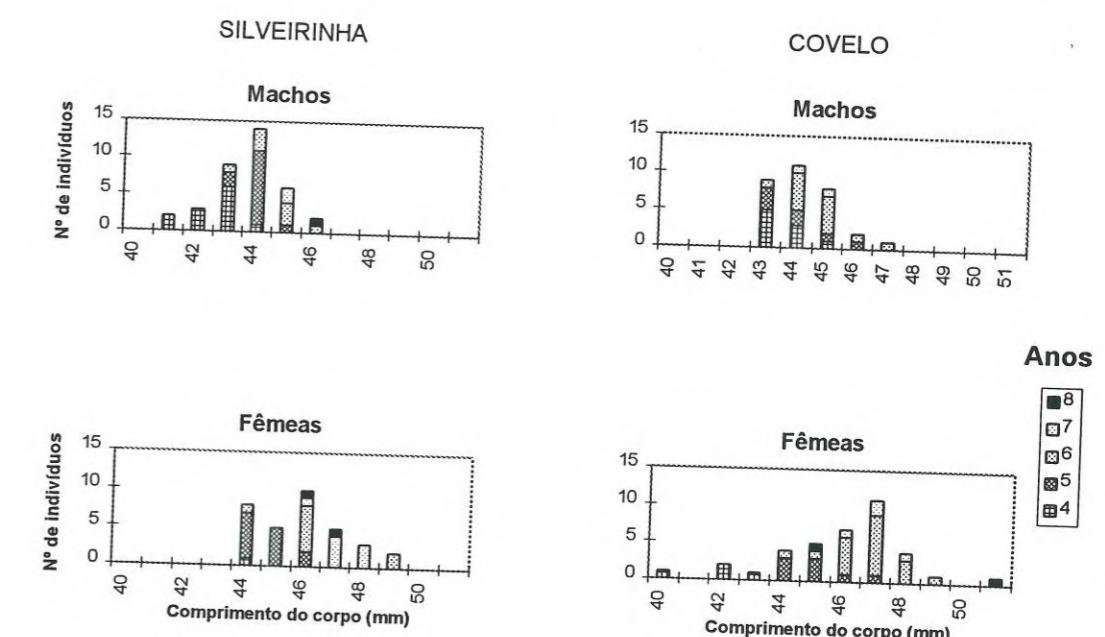


Figura IV. 6 - Distribuição do comprimento do corpo em cada sexo e relação com a idade determinada a partir do número de LPC terrestres.

Tabela IV.4 - Comparação pelo teste t de Student dos valores médios do comprimento do corpo de machos e fêmeas em cada classe de idade.

	Machos		Fêmeas		Teste t		
	\bar{x}	n	\bar{x}	n	t	g.l.	p
Silveirinha							
4	42,5	12	44	1	1,14	11	p>0,05
5	43,9	13	44,6	12	2,82	23	p<0,01
6	44,5	8	46,44	9	3,03	15	p<0,01
7	45	2	47,25	8	4,30	8	p<0,01
Covelo							
4	43,56	9	41,75	4	3,33	11	p<0,01
5	44	7	45,11	9	2,01	14	p>0,05
6	44,69	30	46,74	19	5,15	30	p<0,001
7	44,5	2	47	4	3,65	4	p<0,05

As diferenças entre os comprimentos médios do corpo são significativas para ambas as populações (exceptuando 2-3 classes de idade, provavelmente devido ao reduzido número de animais analisados). As fêmeas são maiores do que os machos, atingindo, em alguns casos, mais 2-3 mm, o que corresponde a um comprimento do corpo de 48 a 49 mm, enquanto os machos alcançam um valor máximo de 46-47 mm.

Entre as populações, a única diferença significativa ocorre entre os machos de 4 anos ($t=2,87$, $p<0,001$), que são maiores no Covelo.

3.5 Estrutura Etária, Longevidade e Crescimento

Pela análise da distribuição dos animais nas diferentes classes de idade verifica-se que a população da Silveirinha apresenta uma estrutura etária correspondente a uma população com indivíduos mais velhos (figura IV. 7). A frequência das primeiras classes de idade é muito baixa, surgindo um elevado número de indivíduos nas classes de idade mais velhas. No Covelo, é evidente um maior equilíbrio: existe um maior número de juvenis, com valores semelhantes aos verificados nas duas primeiras classes de idade da fase adulta. A utilização do teste G na comparação entre a frequência das idades revela a existência de diferenças significativas entre as duas populações ($G=19,31$, $p<0,05$).

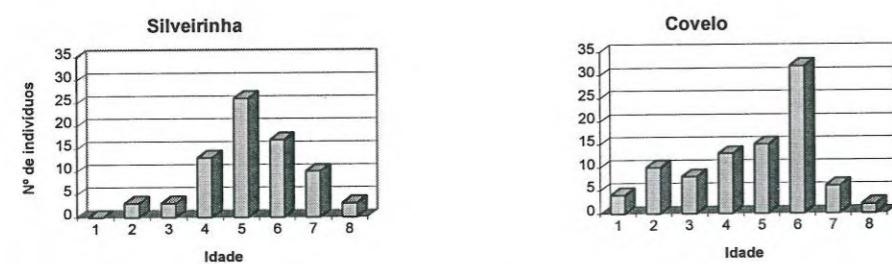


Figura IV. 7 - Histograma da frequência das classes de idade de *Chioglossa lusitanica*.

Relativamente à fase adulta, as classes mais representativas dos machos são as dos 4 aos 6 anos terrestres, enquanto as fêmeas, com uma distribuição mais ampla, apresentam uma frequência maior nas classes de idade a partir dos 5 anos (figura IV. 8). Esta diferença é altamente significativa na Silveirinha ($G=15,09$, $p<0,01$) e não significativa no Covelo ($G=6,09$, $p>0,05$).

A longevidade alcançada por *Chioglossa lusitanica* parece ser semelhante nos machos e nas fêmeas, apesar dos diferentes tamanhos atingidos em cada sexo.

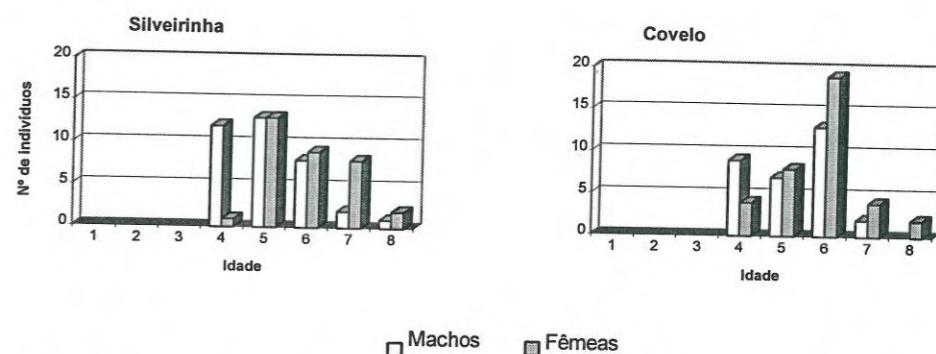


Figura IV.8 - Histograma da frequência das classes de idade nos machos e fêmeas de *Chioglossa lusitanica*.

As curvas de crescimento de machos e de fêmeas evidenciam o crescimento rápido e equivalente durante a fase juvenil (figura IV. 9). Na fase adulta, o crescimento é muito reduzido em ambos os sexos, atingindo as fêmeas comprimentos sempre superiores aos dos machos.

Segundo os parâmetros da equação de Von Bertalanffy, os machos atingem o mesmo tamanho máximo teórico (46 mm) e uma taxa de crescimento semelhante (0,49 na Silveirinha e 0,47 no Covelo). As fêmeas, apesar da menor taxa de crescimento (0,43 na Silveirinha e 0,32 no Covelo), atingem um tamanho máximo teórico à volta dos 50 mm como consequência de um período de crescimento mais longo.

No Covelo, a redução da taxa de crescimento parece ser mais acentuada nos machos a partir da idade de 4 anos, sendo, provavelmente, o momento em que ocorre a maturação sexual. As fêmeas, com um crescimento mais constante, parecem atingir a maturação um ano mais tarde. Na Ribeira da Silveirinha, a idade em que se verifica uma inflexão das curvas de crescimento e, possivelmente, a aquisição da maturação sexual é registada um ano mais cedo.

3.6 Idade de Maturação Sexual

A idade do início da reprodução está geralmente associada à redução do crescimento do animal. Após a maturação sexual, a reduzida taxa de crescimento manifesta-se ao nível do crescimento das estruturas ósseas, reflectindo-se no tecido ósseo por um menor espaçamento entre as marcas de crescimento (Castanet, 1975). Em *Chioglossa lusitanica* podem observar-se, em cortes efectuados ao nível do periosteio de ossos longos, duas regiões bem distintas: 1) uma constituída pelas 3-4 primeiras LPC terrestres bem espaçadas, correspondente à fase juvenil, e 2) outra constituída pelas restantes LPC, bastante próximas umas das outras como resultado do reduzido crescimento após a maturação sexual (figura IV. 2 e 3), correspondente à fase adulta.

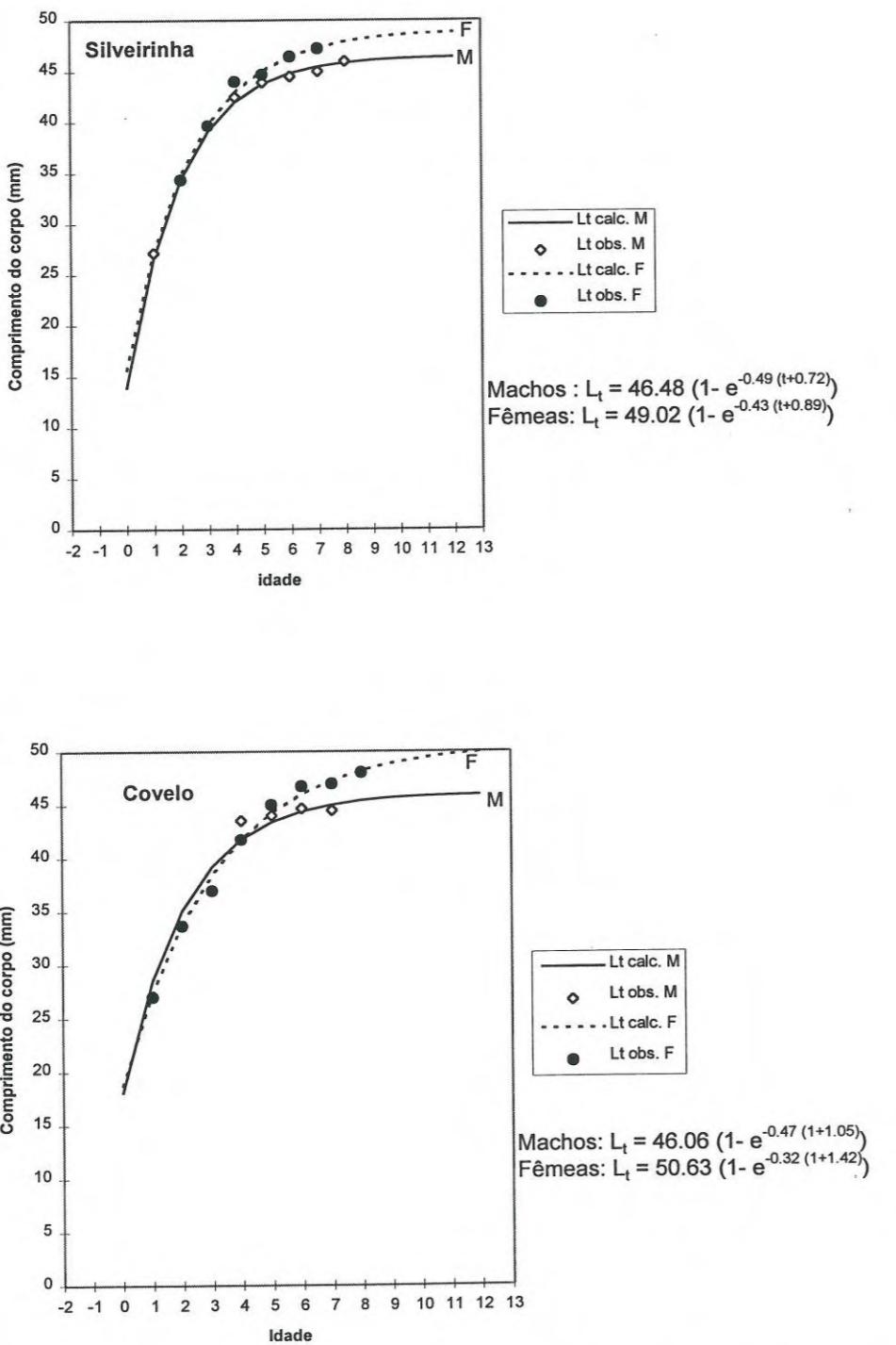


Figura IV.9 - Curvas teóricas de crescimento em comprimento de machos e fêmeas segundo a equação de Von Bertalanffy.

Pela análise histológica de cortes correspondentes aos animais da Silveirinha, verifica-se que o maior espaçamento entre as LPC parece estar mais limitado às três primeiras linhas, sugerindo que a maturação sexual possa ocorrer um ano mais cedo do que no Covelo.

A determinação dos raios das linhas de paragem de crescimento permite comparar as taxas de crescimento individuais registadas no tecido ósseo e a variabilidade intersexual em cada classe de idade.

Tabela IV.5 - Comparação dos valores de comprimento médio dos raios de LPC correspondentes à mesma classe de idade pelo teste t de Student entre machos e fêmeas.

Silveirinha	Machos		Fêmeas		Teste t		
	\bar{X} (mm)	s	\bar{X} (mm)	s	t	g.l.	p
LPC1	0,1931	0,0210	0,1857	0,0170	0,68	11	>0,05
LPC2	0,2258	0,0174	0,2184	0,0172	0,77	11	>0,05
LPC3	0,2980	0,0166	0,2397	0,0209	5,61	11	<0,001
LPC4	0,3250	0,0161	0,2728	0,0262	4,41	11	<0,01
LPC5	0,3395	0,0161	0,2958	0,0346	3,00	11	<0,05
LPC6	0,3550	0,0058	0,3101	0,0307	3,21	8	<0,05
Covelo							
LPC1	0,1877	0,0134	0,1936	0,0174	0,64	9	>0,05
LPC2	0,2210	0,0272	0,2204	0,0151	0,04	9	>0,05
LPC3	0,2716	0,0130	0,2698	0,0099	0,26	9	>0,05
LPC4	0,2972	0,0126	0,2842	0,0146	1,58	9	>0,05
LPC5	0,3150	0,0106	0,3178	0,0267	0,23	9	>0,05
LPC6	0,3281	0,0125	0,3170	0,0191	1,04	8	>0,05

No Covelo, os valores médios dos raios de cada LPC não diferem entre os sexos, que apresentam um modo de crescimento bastante semelhante (tabela IV.5). Pelo contrário, na Silveirinha, foram encontradas diferenças significativas entre machos e fêmeas para os valores médios dos raios das LPC correspondentes à fase adulta. Os machos apresentam entre o segundo e terceiro ano terrestre, um considerável aumento do crescimento, em contraste com as fêmeas, que apresentam valores mais regulares até aos últimos anos de vida.

A comparação dos raios de duas LPC consecutivas (tabela IV.6) permite identificar diferenças significativas entre o crescimento nos machos e nas fêmeas, assim como evidenciar as diferenças na idade de maturação sexual entre as populações.

Tabela IV.6 - Crescimento registado ao nível do tecido ósseo entre duas LPC consecutivas (calculadas pela expressão $(r_{i+1} - r_i) / r_i$ - Hemelaar (1981)) e comparação pelo teste t de Student das médias dos raios de LPC consecutivas.

	LPC1/LPC2	LPC2/LPC3	LPC3/LPC4	LPC4/LPC5	LPC5/LPC6	LPC6/LPC7
Silveirinha						
Machos	0,17	0,32	0,10	0,04	0,05	0,02
t (g. I.)	3,18 (12)	7,93 (12)	3,09 (12)	1,69 (12)	2,03 (10)	1,64 (5)
	p<0,01	p<0,001	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Fêmeas	0,18	0,10	0,14	0,08	0,05	0,04
t (g. I.)	3,31 (10)	1,92 (10)	2,42 (10)	1,30 (10)	0,72 (9)	0,44 (5)
	p<0,01	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Covelo						
Machos	0,18	0,23	0,10	0,06	0,04	-
t (g. I.)	2,69 (10)	4,11 (10)	3,46 (10)	2,66 (10)	1,73 (9)	-
	p<0,05	p<0,01	p<0,01	p<0,05	p>0,05	-
Fêmeas	0,14	0,22	0,05	0,12	0,003	-
t (g. I.)	2,60 (8)	6,12 (8)	1,83 (8)	2,46 (8)	0,06 (8)	1,43 (4)
	p<0,05	p<0,001	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05

Em ambas as populações, os primeiros anos são caracterizados por um grande crescimento (valores médios dos raios significativamente diferentes), aos quais se seguem valores muito próximos (diferenças não significativas), indicando uma redução brusca do crescimento. Mais uma vez se verifica a diferença entre a idade de redução de crescimento nas duas populações. De facto, os animais do Covelo parecem atingir a maturação um ano mais tarde do que os da Silveirinha. O rápido crescimento correspondente à fase juvenil parece decorrer de uma forma mais regular e com maior intensidade nos machos. Ao menor crescimento das fêmeas poderá estar associado uma idade de maturação sexual mais tardia.

4. DISCUSSÃO

4.1 Esqueletocronologia

A utilização da esqueletocronologia em *Chioglossa lusitanica* permitiu, pela primeira vez, conhecer a idade individual e obter informação sobre a longevidade, idade de maturação sexual e crescimento nas diferentes classes de idade.

A aplicação desta metodologia em *Chioglossa lusitanica* permite a identificação de LPC bastante distintas e regulares, reflectindo com grande fidelidade os períodos de redução de crescimento responsáveis pela atribuição da idade individual, bem como a interpretação de outras características da biologia da espécie.

A aposição centrífuga de camadas sucessivas ao longo da cortical perióstica permite, com base nas diferentes fases de crescimento, a formação de LPC bastante cromófilas representativas da idade do animal. A facilidade de enumeração das LPC em ossos longos está dependente da peça óssea e secção do osso utilizadas. A diáfise húmérica apresentou-se como a porção mais indicada para estudos deste tipo. A este nível, os fenómenos de reabsorção e reconstrução óssea são menos intensos e os problemas de linhas duplas e suplementares ocorrem com menos frequência, sendo, neste caso, mais fáceis de identificar. Por outro lado, a regularidade de crescimento do húmero evita a ocorrência de alterações no contorno das marcas de crescimento, processo muito frequente nos fémures.

A periodicidade da deposição das LPC em *Chioglossa lusitanica* parece seguir um padrão semelhante ao de alguns Urodelos já estudados, como *Triturus cristatus* (Francillon, 1979, 1980), *Notophthalmus viridescens*, *Desmognathus ochrophaeus* (Kazmer, 1986), *Triturus marmoratus* (Caetano, 1988), com a formação de uma LPC em cada ano do ciclo de vida do animal.

A redução do crescimento mostra-se mais acentuada durante os meses frios de Inverno, quer no meio aquático, durante o período larvar, quer no meio terreste, ao longo das fases juvenil e adulta. Nas larvas, a paragem de crescimento observada na estação de Inverno comprova o momento de deposição das LPC e a sua periodicidade. Estes resultados foram igualmente registados em *Mertensiella caucasica* (Kuzmin, 1992), espécie com características ecológicas muito similares a *Chioglossa lusitanica*. Mediante a utilização da distribuição de frequência de tamanhos na fase juvenil, obteve-se uma correspondência directa entre as classes de idade e o número de LPC para cada uma delas, comprovando o carácter anual de formação das marcas de crescimento.

Na fase terreste, tendo em conta o momento de captura dos animais e a localização da última LPC, a hibernação parece ser o período responsável pela formação destas marcas de crescimento. No Norte e Centro de Portugal, as espécies *Triturus marmoratus* e *Triturus boscai* apresentam a deposição de uma LPC durante o Inverno (Caetano, 1988); contudo desconhecem-se os factores que induzem essa redução do crescimento, não se sabendo se são externos (ritmos exógenos, como o frio e ausência de alimentação) ou internos (ritmos endógenos). As hipóteses mais plausíveis sugerem a existência de uma sincronização entre o ritmo endógeno e os factores externos, ocorrendo, assim, uma redução ou paragem de crescimento com a formação de LPC. Em *Chioglossa lusitanica*, os dados obtidos neste estudo, no que se refere à formação de LPC e ecologia, sugerem a existência de um ritmo endógeno de crescimento que é sincronizado e ampliado pelas condições ambientais.

A formação de LPC parece ocorrer durante o Inverno, uma das alturas do ano em há uma menor actividade dos animais e se verificam condições mais adversas. No Verão, a actividade está confinada aos locais de reprodução, habitats com condições óptimas de humidade e de temperatura. Desta forma, pode considerar-se que não existe um verdadeiro período de estivação. A inexistência de LPC correspondentes a esta estação permite supor que, durante as condições menos favoráveis dos meses mais quentes, os animais, ao permanecerem nos locais de reprodução, não sofrem uma redução de crescimento capaz de formar uma LPC. Apesar da potencial redução de alimento disponível, os animais permanecem em contínua actividade, não existindo um estado de estivação completo em que a actividade fisiológica seja reduzida. Pensa-se, também, que durante este período, os animais usam reservas alimentares armazenadas na cauda durante a Primavera, época de grande actividade e rica em alimento. Na estação fria, a reduzida, ou mesmo nula, actividade durante os períodos mais secos e de temperaturas muito baixas, pode ser responsável, juntamente com o ritmo endógeno, pela redução brusca no crescimento permitindo, assim, a formação da marca de crescimento. Para além do determinismo genético, factores como o fotoperíodo, a temperatura e a humidade poderão alterar a actividade fisiológica de *Chioglossa lusitanica*, traduzindo-se estes factores no ritmo de crescimento e na formação de marcas de crescimento do tecido ósseo.

Um menor contraste nas LPC larvares reflecte uma maior estabilidade das condições do meio aquático, sem, no entanto, excluir os factores ambientais intervenientes no meio terreste. O período de actividade larvar está relacionado, tal como nos adultos, com o fotoperíodo (actividade nocturna); contudo, uma menor amplitude térmica verificada no meio aquático e um longo período com maior disponibilidade de alimento, poderão conduzir a menores modificações fisiológicas do organismo, que se traduzem menos intensamente no ritmo de crescimento.

A presença de uma LPC mais nítida e hematoxilinófila após a fase larvar facilita a identificação das primeiras linhas terrestres, tarefa muitas vezes dificultada devido aos fenómenos de reabsorção total e parcial das LPC larvares e da primeira linha terreste, respectivamente. Este contraste é igualmente observado em *Notophthalmus viridescens* (Kazmer, 1986) e em *Triturus marmoratus* (Caetano, 1988), como consequência da sobreposição de duas LPC, uma formada durante a metamorfose e outra resultante do reduzido crescimento, logo após essa fase de transição. Em *Chioglossa lusitanica*, a visualização de uma camada opaca bem distinta entre a LPC larvar e a primeira LPC terreste, bem como a ausência de uma terceira linha formada durante a metamorfose, indicam a existência de um período de crescimento rápido que se mantém até à primeira redução de crescimento na fase terreste. Os dados obtidos até ao momento não permitem determinar quais os factores directamente responsáveis pela presença de uma linha mais marcada no início da fase terreste.

4.2 Reabsorção e reconstrução óssea

Os fenómenos de reabsorção e reconstrução óssea têm início desde muito cedo (período larvar/juvenil) em *Chioglossa lusitanica*, destruindo mesmo, em certos casos, a totalidade das linhas correspondentes à fase larvar. À semelhança do que se verificou noutras anfíbios, a diáfise humeral foi a secção onde se encontrou uma taxa de reabsorção menos acentuada, não chegando nunca a destruir a primeira LPC terreste. A remodelação óssea nos Urodelos é, geralmente, pouco intensa (Smirina e Rocek, 1976; Hagstrom, 1977; Francillon, 1979, 1980; Dolmen, 1982; Caetano *et al.*, 1985; Francillon e Pascal, 1985; Kazmer, 1986; Verrel e Francillon, 1986), ao contrário do que acontece nos Anuros, onde a primeira LPC terreste pode ser totalmente destruída (Keinenberg e Smirina, 1969; Smirina, 1972; Barbault *et al.*, 1979; Hemelaar, 1986). Apesar da reabsorção total das marcas correspondentes à fase larvar, os resultados encontrados em *Chioglossa lusitanica* estão de acordo com o padrão descrito nos Urodelos, facilitando a determinação da idade dos animais. No entanto, nas salamandras estudadas, a presença de uma secção muito reduzida da primeira LPC terreste obrigou, em alguns casos, à utilização do retrocálculo para determinar com rigor a idade individual.

Hemelaar (1986), ao estudar a intensidade de reabsorção endosteal em *Bufo bufo*, demonstrou a existência de variabilidade individual e interpopulacional. O mesmo resultado foi encontrado por Caetano (1988) em populações de *Triturus marmoratus* e *Triturus boscai* de altitude e planície do Norte de Portugal. Estas diferenças são, geralmente, associadas à idade de aquisição da maturação sexual, momento em que se regista uma redução do crescimento, que altera os processos de osteogénesis. Nas populações de *Chioglossa lusitanica* estudadas, a

intensidade de reabsorção parece estar relacionada com a idade de maturação sexual. Segundo Smirina (1972, 1983) e Hemelaar (1985, 1986), os processos de remodelação óssea são muito baixos nos animais adultos, podendo mesmo cessar após a maturação sexual. Os resultados obtidos em *Chioglossa lusitanica* estão de acordo com estas explicações. Nos animais do Covelo, em que a maturação sexual é atingida mais tarde, a intensidade de reabsorção é maior. Na Silveirinha, um menor período de crescimento rápido poderá impedir um grau de remodelagem semelhante.

O dimorfismo sexual encontrado na população da Silveirinha poderá, da mesma forma, estar relacionado com a idade em que as fêmeas se encontram aptas para a reprodução. Tal como sugerido anteriormente, as fêmeas apresentam um período de crescimento rápido mais longo do que o dos machos, podendo atingir a maturação sexual um ano mais tarde. O menor grau de reabsorção apresentado pelos machos está de acordo com esta hipótese.

4.3 Linhas duplas

A presença de linhas duplicadas é um fenómeno relativamente frequente em Urodelos. A Salamandra-lusitânica, à semelhança de *Triturus marmoratus* do Norte de Portugal (Caetano et al., 1985, Caetano, 1988), apresenta um número de linhas duplicadas relacionado com a altitude do local da sua origem. O número é maior em animais provenientes de regiões altas, sendo frequentemente associado a variações climáticas ocasionais. Desta forma, o resultado obtido no Covelo poderá estar relacionado com as condições mais adversas do clima, normalmente registadas neste local. Segundo Klevezal e Kleinenberg (1967), as linhas duplas resultam, muitas vezes, de pequenas interrupções da hibernação. Durante os Invernos mais rigorosos e/ou sob condições climáticas mais instáveis, a Salamandra-lusitânica poderá sofrer mais do que um período de hibernação, alternado com períodos de maior actividade.

Outro resultado relevante foi a presença de uma grande percentagem de linhas duplas após a maturação sexual. Durante a Primavera, registam-se deslocações de animais adultos para locais muito específicos de reprodução, que, em alguns casos, percorrem longas distâncias sob condições ambientais menos favoráveis. A actividade biológica, nesta fase, poderá explicar a grande quantidade de linhas duplas nos animais que iniciaram a fase reprodutiva. Além da paragem de crescimento registada no Inverno, o esforço energético dispendido nas deslocações e na reprodução, poderá causar uma redução no crescimento, e formar assim uma linha dupla.

O curto período de actividade entre o fim da hibernação e os movimentos migratórios para os locais de reprodução poderá não ser suficiente para a formação de uma zona de crescimento bem delimitada entre duas LPC consecutivas. Durante este trabalho, por exemplo,

a migração e o início da reprodução ocorreram muito cedo, reduzindo bastante o período de actividade verificado nos meses de Primavera. Por outro lado, o crescimento em animais adultos é mais reduzido, reflectindo-se somente em períodos de actividade bastante longos. Assim, estas características de crescimento permitem compreender a ocorrência de um grande número de linhas duplas encontradas após a aquisição da maturidade sexual, possibilitando a determinação rigorosa da idade do animal.

Sendo uma espécie de grandes exigências ecológicas, *Chioglossa lusitanica* pode apresentar uma actividade muito irregular, de acordo com as condições ambientais/climáticas de uma região ou período do ano. Devido a esta característica, os indivíduos podem sofrer variações ocasionais e pouco intensas na taxa de crescimento, levando à formação de linhas suplementares. De facto, ao nível da diáfise dos ossos longos, é muito frequente encontrarem-se essas estruturas, que são, no entanto, facilmente reconhecidas pelo diferente contraste e espessura.

4.4 Idade/comprimento do corpo, crescimento e dimorfismo sexual

A determinação da idade individual em animais que apresentam uma variabilidade de dimensões na fase adulta constitui, por vezes, uma tarefa muito complicada e morosa. A aplicabilidade da esqueletocronologia em Anfíbios tem permitido a elaboração de numerosos estudos, com descrição de novos aspectos sobre a demografia das suas populações. À semelhança de outras espécies, verifica-se, na fase adulta de *Chioglossa lusitanica*, uma fraca relação entre cada classe de idade e o comprimento do corpo, podendo ser encontradas várias classes de idade para o mesmo comprimento corporal. A diminuição da taxa de crescimento após a maturação sexual e as diferenças entre a variabilidade individual e sexual do crescimento, apresentam-se como os factores responsáveis por esta fraca relação.

No ciclo de vida de *Chioglossa lusitanica* podem ser considerados três tipos de crescimento: 1) crescimento rápido durante a fase larvar em meio aquático, 2) crescimento rápido durante os primeiros anos de vida terreste e, 3) crescimento lento após a aquisição da maturação sexual.

Durante a fase juvenil, nos três primeiros anos de vida terreste, verifica-se um crescimento máximo que atinge uma taxa muito grande em relação à dos adultos. Após a maturação sexual, os animais sofrem uma redução bastante acentuada na taxa de crescimento até à idade máxima observada (8 anos). Nesta fase, tal como descrito para *Triturus marmoratus* e *Triturus boscai* (Caetano, 1988), *Triturus cristatus* e *Triturus vulgaris* (Hagstrom, 1977, 1980), *Triturus alpestris* (Smirina e Rocek, 1976) e *Bolitoglossa subpalmata* (Houck, 1982), não há uma correspondência directa entre as classes de tamanho e a idade. A grande variabilidade

individual está associada, quer a factores internos (informação genética e metabolismo do animal), quer a factores externos (condições ambientais/climatéricas e disponibilidade de alimento). Durante o crescimento é, também, evidente a existência de dimorfismo sexual da espécie estudada. Na fase adulta, as fêmeas parecem possuir um período de crescimento rápido superior ao dos machos. A redução do crescimento nas fêmeas nunca atinge a mesma intensidade registada nos machos, aumentando, mesmo, a diferença entre tamanhos com o envelhecimento dos animais. Esta diferença permite que as fêmeas, após a maturação sexual, apresentem sempre tamanhos superiores para a mesma classe de idade.

4.5 Maturação sexual

A redução do crescimento corporal é, igualmente, manifestada ao nível do crescimento do tecido ósseo, influenciando a disposição das marcas de crescimento. O maior espaçamento entre as primeiras linhas corresponde à fase juvenil (período de grande crescimento), enquanto na fase adulta, a grande proximidade entre as LPC resulta da grande diminuição do crescimento após a maturação sexual.

A inflexão das curvas de crescimento do comprimento do corpo correspondem, assim, à idade de maturação sexual, que se espera igual à calculada através da análise das distâncias entre LPC consecutivas.

Em *Chioglossa lusitanica*, a idade de maturação sexual parece variar, quer entre os sexos, quer entre as populações. No Covelo, os resultados apontam para uma idade de maturação de 3-4 anos nos machos, e de 4-5 anos nas fêmeas. Na população da Silveirinha, a idade de aquisição da maturação sexual é mais evidente: 3 anos para os machos e 4 anos para as fêmeas.

Para além da componente genética, Hemelaar (1983) refere a influência de factores externos na aquisição da maturação sexual. As diferenças verificadas nas populações de *Chioglossa lusitanica* poderão estar relacionadas com as condições climatéricas das regiões onde se encontram. Em Urodelos, é frequente os animais provenientes de regiões altas atingirem a maturação sexual 1-2 anos mais tarde devido às condições climatéricas verificadas nesses locais (Caetano et al., 1985; Hemelaar, 1986; Caetano, 1988). Nas populações de *Chioglossa lusitanica* estudadas, esta distinção não se regista de uma forma tão marcada. Este resultado pode dever-se à existência de condições climatéricas não muito diferentes entre as duas regiões estudadas, bem como às alterações provocadas pelo monocultivo de eucaliptos no habitat da Salamandra-lusitânica. A existência de habitats menos favoráveis e com variações mais bruscas no teor de humidade são, provavelmente, factores que alteram o crescimento normal dos animais. Por outro lado, o crescimento dos juvenis e adultos pode estar dependente

do desenvolvimento dos animais em fase aquática, que, em habitats com condições menos favoráveis, é retardado (Capítulo II).

O dimorfismo sexual verificado em *Chioglossa lusitanica*, pode estar relacionado com uma forma de aumentar o sucesso reprodutivo. Segundo Berven (1988, 1990) a fertilidade das fêmeas aumenta com o tamanho do corpo. Nos animais da Silveirinha, verificou-se, ao nível do tecido ósseo, uma diferença muito grande entre o crescimento de machos e fêmeas. O longo período de crescimento nas fêmeas, associado a uma idade de maturação sexual mais tardia, poderá ser uma consequência do menor sucesso reprodutivo desta população, quer por causa das baixas taxas de crescimento das larvas, quer, provavelmente, pela grande mortalidade verificada até à fase juvenil. Já no Covelo, apesar da menor taxa de crescimento, os animais com a mesma idade possuem tamanhos significativamente maiores, não apresentando diferenças tão acentuadas, entre machos e fêmeas, na aquisição da maturidade sexual.

O maior envelhecimento e maior longevidade de uma população está muitas vezes ligado à redução da taxa de crescimento, factor relacionado frequentemente com as condições climatéricas adversas das altas montanhas (Caetano et al., 1985; Caetano, 1988). As populações de altitudes baixas estão, normalmente, submetidas a Invernos mais suaves, durante um período mais curto, e a valores elevados da humidade relativa do ar, mesmo na estação quente. O maior período de actividade sob estas condições permite i) o acesso a uma alimentação mais completa, ii) a existência de taxas de crescimento superiores, iii) uma idade mais precoce na primeira reprodução e iv) a aquisição de tamanhos superiores em relação aos de animais de altitude e/ou de climas mais rigorosos, para a mesma classe de idade. Tal como foi verificado, a população da Silveirinha, submetida a condições climatéricas mais semelhantes às de baixa altitude, está longe de apresentar esse conjunto de características populacionais, uma vez que 1) a longevidade nos machos e fêmeas é igual à alcançada no Covelo, 2) é uma população mais envelhecida e, 3) animais da mesma idade são possuidores de um tamanho mais pequeno.

A existência, na Silveirinha, de condições climatéricas mais favoráveis, sugere que os factores ambientais poderão ser determinantes, influenciando a dinâmica populacional de *Chioglossa lusitanica*. Neste local, a influência da modificação do habitat sobre as suas populações parece ter início logo na fase larvar, alterando significativamente o crescimento e desenvolvimento das formas aquáticas. O reduzido tamanho verificado na metamorfose poderá, do mesmo modo, repercutir-se em algumas características da população adulta.

A grande capacidade de utilização de água pelo eucalipto e o efeito de drenagem causado por este tipo de floresta estão directamente relacionados com o aumento dos períodos de seca nestes locais. Os animais sujeitos a estes longos períodos de seca podem sofrer reduções notórias no crescimento devido a uma diminuição da sua actividade. Sendo assim, a

existência de um período mais limitado, com condições óptimas para o crescimento, poderá levar a, que, os animais da Silveirinha apresentem uma elevada taxa de crescimento num curto espaço de tempo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com este trabalho pretendeu-se contribuir para o conhecimento da ecologia de *Chioglossa lusitanica*, abordando alguns aspectos que podem intervir na dinâmica das suas populações. Sendo uma espécie de exigências ecológicas muito particulares, tanto no meio aquático, durante o desenvolvimento larvar, como no meio terrestre, durante as restantes fases, está fortemente dependente das condições do meio e das alterações que nele se verificam.

Uma das principais ameaças para as populações de *Chioglossa lusitanica* é, sem dúvida, a alteração da qualidade e quantidade da água. As características do meio aquático são muito importantes para o desenvolvimento larvar (Lynch, 1989; Buns e Ratte, 1991), influenciando o sucesso e adaptação das fases juvenil e adulta nos anfíbios (Semlitsch *et al.*, 1988; Berven, 1990).

Deste modo, achou-se importante realizar a caracterização físico-química e biológica dos cursos de água estudados, e analisar o modo como a alteração da vegetação ribeirinha pode influenciar essas características. Não obstante as limitações impostas pelo reduzido número de amostras em cada local, procurou-se, à semelhança da amostragem efectuada em 1977/78, fazer uma pequena referência à estrutura e composição das comunidades de macroinvertebrados aquáticos em ribeiros onde *Chioglossa lusitanica* é abundante. Desta maneira, foi possível comparar as comunidades de macroinvertebrados entre cursos de água localizados em dois tipos de floresta, abordando, simultaneamente as transformações ocorridas, principalmente, na Ribeira da Silveirinha.

Diversos estudos têm demonstrado que a matéria orgânica alóctona constitui a principal fonte de energia nos pequenos ribeiros de floresta (p.ex Fisher e Likens, 1973; Vannote *et al.*, 1980), condicionando fortemente as comunidades de organismos que aí ocorrem. Neste trabalho, os ribeiros localizados em florestas de eucaliptos apresentaram um menor número de taxa, um menor número de indivíduos e, consequentemente, uma diversidade de grupos faunísticos mais pequena. Por outro lado, os grupos funcionais dominantes em cada época do ano parecem reflectir a disponibilidade de matéria orgânica neste tipo de florestas.

Apesar de estes dados resultarem de uma amostragem relativamente pequena, não diferem muito dos resultados obtidos por Abelho (1994), quando estudou os efeitos da reflorestação com eucalipto em sistemas ribeirinhos. Seria, contudo, conveniente aprofundar a investigação agora iniciada, aumentando o número de locais estudados, o tamanho das

amostras e a campanha de amostragem, associando esta informação com o regime alimentar das larvas de *Chioglossa lusitanica* verificado nos mesmos ribeiros. Este aspecto é parcialmente importante porque as diferenças relativas à qualidade biológica e química da água estiveram fortemente associadas ao desenvolvimento larvar registado em cada um dos ribeiros. Entre os factores responsáveis pelo menor crescimento larvar, a redução da diversidade e/ou quantidade de alimento, bem como a temperatura, parecem ser os mais importantes. Em consequência, o período larvar parece ser mais prolongado e as larvas sofrem metamorfose com comprimentos corporais mais reduzidos. O ritmo de crescimento registado até Julho e o número de animais da primeira coorte encontrados em Dezembro sugerem, precisamente, este tipo de alterações. Neste aspecto torna-se importante estudar detalhadamente as transformações ocorridas no desenvolvimento larvar ao longo dos meses de Verão e Outono.

O uso da esqueletocronologia em *Chioglossa lusitanica* permitiu pela primeira vez conhecer a idade individual dos animais, bem como outros parâmetros da sua biologia. A sua aplicação generalizada pode revelar-se muito útil em estudos demográficos, constituindo uma importante fonte de informação sobre a biologia das populações desta espécie. No entanto, é importante referir que a utilização deste método numa nova espécie e/ou população estudada, implica a compreensão e interpretação de um determinado padrão de crescimento ósseo. Na Salamandra-lusitânica, as LPC surgem bastante distintas, apresentando uma sequência claramente relacionada com a sua ecologia, e estando, também, de acordo com o padrão registado em numerosos Urodelos. Torna-se, contudo, imprescindível proceder, no futuro, à comprovação do valor do método. O carácter anual e cíclico da deposição das marcas de crescimento poderá, por exemplo, ser investigado através da aplicação do método a animais de idade conhecida ou, então, pela utilização de corantes vitais do osso.

O conhecimento da estrutura etária de populações de *Chioglossa lusitanica* pode ser muito importante na avaliação do impacto das alterações ambientais nos ecossistemas ribeirinhos, uma vez o recrutamento juvenil se faz a partir dos cursos de água. A este respeito, pode referir-se que uma das ameaças que existe sobre a espécie, resulta, precisamente, da diminuição da disponibilidade de água em ribeiros localizados em florestas de eucaliptos. A grande capacidade de utilização da água pelo eucalipto e a hidrofobicidade dos solos destas florestas reduzem significativamente os teores de água nos pequenos ribeiros, sendo essa alteração mais pronunciada em anos mais quentes.

O acompanhamento das populações de *Chioglossa lusitanica* das Serras de Valongo tem-se tornado bastante importante no sentido de procurar avaliar a capacidade de adaptação dessas populações às alterações ambientais causadas pela plantação massiva de eucaliptos. A aparente estabilidade da densidade populacional nos últimos anos tem sido acompanhada por um aumento progressivo do número de ovos depositados nos locais de reprodução, verificando-

se, ao mesmo tempo, um início mais precoce da época reprodutiva. Para além das diferenças encontradas relativamente ao Ribeiro do Covelo na actividade, distribuição ao longo das margens e tipo de substrato utilizado, a resposta mais importante à modificação das condições ambientais parece ser uma alteração da estratégia reprodutiva. As dificuldades impostas na fase larvar poderão estar reflectidas no maior número de ovos e no aumento do período larvar, de forma a compensar as limitações do meio. No entanto, o menor tamanho corporal durante a transição para o meio terrestre e as condições mais adversas nestes tipos de habitat, principalmente sob condições climáticas desfavoráveis, são responsáveis pelo menor recrutamento e consequente envelhecimento da população.

Em suma, este estudo suporta a hipótese de que a regulação da população de *Chioglossa lusitanica* sob condições ambientais adversas (como por exemplo as resultantes da plantação de eucaliptos) é realizada pelo aumento do esforço reprodutivo, de forma a responder ao baixo recrutamento juvenil e provável elevada mortalidade nos primeiros anos de vida terrestre. Devido às características ambientais deste tipo de floresta, a reprodução parece estar mais dependente das condições climáticas, podendo admitir-se uma elevada capacidade reprodutiva que conduza a um aumento do tamanho da população durante os anos mais favoráveis. Desta forma, a densidade de animais ao longo dos ribeiros de eucalipto pode não ser mais reduzida, estando, no entanto, mais estritamente confinados às margens.

Refira-se que nesta região existe uma grande diversidade de minas com condições óptimas para a postura e desenvolvimento dos ovos, permitindo o sucesso da reprodução de *Chioglossa lusitanica* nos meses mais quentes do Verão e Outono, período em que os ribeiros de eucalipto se encontram secos. Em zonas onde não existem minas, o modo como se processa a reprodução é, necessariamente, diferente. Nestes locais, seria ainda mais importante, durante futuros programas de reflorestação, a adopção de medidas que visassem a conservação da vegetação ribeirinha através da manutenção de corredores de floresta original ao longo das margens.

Finalmente, é importante reconhecer que o número e a diversidade de factores que podem influenciar a dinâmica das populações de *Chioglossa lusitanica* é muito grande, dificultando uma interpretação precisa dos resultados obtidos. Desta forma, os trabalhos de investigação sobre esta espécie deverão, no futuro, ser acompanhados por estudos de monitorização, no sentido de esclarecer muitos dos aspectos da sua biologia que permanecem desconhecidos.

CONCLUSÕES

1- A fauna de macroinvertebrados da Ribeira da Silveirinha apresenta menor número de taxa e de indivíduos quando comparada com o Ribeiro do Covelo. A qualidade biológica da água é, também, menor do que no Ribeiro do Covelo.

2- A comparação das comunidades de macroinvertebrados na Ribeira da Silveirinha parece mostrar, desde 1977/78 uma adaptação no sentido das condições impostas pela florestação com eucaliptos. Nas zonas lênticas, esta adaptação foi maior.

3- A taxa de crescimento larvar de *Chioglossa lusitanica* é superior no Ribeiro do Covelo, provavelmente em consequência das melhores condições de temperatura da água e recursos alimentares disponíveis.

4- O número de animais que permaneceram mais um Inverno em fase aquática é bastante superior na Ribeira da Silveirinha, sugerindo a existência de um período larvar mais longo neste tipo de ribeiros (floresta de eucaliptos).

5- O tamanho das larvas da segunda coorte, no momento da metamorfose, é superior no Ribeiro do Covelo. Esta transição verifica-se um a dois meses mais cedo do que na Ribeira da Silveirinha.

6- Na Ribeira da Silveirinha, a migração e o início do período reprodutivo ocorreram mais cedo do que no ano de 1978.

7- O aumento da quantidade de ovos depositados nas minas da Serra de Valongo não tem sido acompanhado pelo aumento da densidade populacional no túnel da Ribeira da Silveirinha durante a época reprodutiva.

8- A densidade populacional de *Chioglossa lusitanica* ao longo dos ribeiros do Covelo e da Silveirinha não é significativamente diferente; contudo, verifica-se uma distribuição mais confinada às margens no segundo caso.

9- Durante os períodos em que não ocorrem as migrações, existe uma predominância do número de machos nas populações de *Chioglossa lusitanica*.

10- Na migração para os locais de estivação e reprodução, as fêmeas são os primeiros animais a chegar. No Outono, os machos permanecem mais tempo nestes locais, registando-se as deslocações para o exterior até Dezembro.

11- Após o período de estivação e reprodução, o regresso aos ribeiros está fortemente dependente das primeiras chuvas de Outono.

12 - A maior actividade de *Chioglossa lusitanica* está relacionada com temperaturas próximas dos 10 °C e com elevadas percentagens de humidade.

13- Os animais adultos não apresentam selectividade em relação ao tipo de substrato, contrariamente ao que sucede nos juvenis, que evitam os locais com folhas de eucalipto.

14- A aplicação de técnicas histológicas convencionais permitiu a obtenção de cortes de ossos longos com marcas de crescimento bem distintas. Assim, desenvolve-se pela primeira vez uma forma de aplicação simples do método esqueletocronológico na determinação da idade de *Chioglossa lusitanica*.

15- A diáfise do húmero constitui a secção óssea onde as linhas de paragem de crescimento são mais bem definidas, e os processos de reabsorção menos intensos. Estes processos de reconstrução óssea atingem, apenas parcialmente, a primeira LPC, permitindo a contagem exacta do número de linhas. Existe uma variabilidade interpopulacional na intensidade de reabsorção relacionada com a idade de maturação sexual.

16- Existe a deposição de uma LPC durante o Inverno na fase aquática. Nos juvenis existe, também, uma periodicidade anual na formação das marcas de crescimento.

17- A presença, relativamente frequente, de linhas duplas e suplementares, não impede a enumeração correcta das LPC na cortical perióstica. A estas formações estão associadas variações na actividade biológica e nas condições climáticas.

18- O número das marcas de crescimento e o padrão que apresentam, permitem a obtenção de informação importante relativa à idade de maturação sexual, crescimento e longevidade. A maior proximidade entre as LPC observada a partir dos 3 a 4 anos de vida terrestre permite calcular a idade de início de reprodução. Os animais do Covelo atingem esta idade cerca de um ano mais tarde, reflectindo, provavelmente, as condições ecológicas registadas neste local. Existe uma diferença entre os sexos na idade da maturação sexual: os machos parecem alcançar essa idade um ano mais cedo. A longevidade de *Chioglossa lusitanica* foi estimada em 8 anos.

BIBLIOGRAFIA

- ABELHO, M.M. (1994). *Reflorestação com eucalipto: Efeitos nos sistemas ribeirinhos baseados em detritos.* Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Ecologia Animal. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. 137 pp.
- AELLEN, V. (1965). Le Chioglosse du Portugal, l'une des plus rares salamandres d'Europe. *Rev. Musées Geneve*, **56** : 8-11.
- A.F.N.O.R. (1985). Essais des eaux. Détermination de l'indice biologique global (I.B.G.). *Normalisation française, T90-350.* Paris.
- ALLISON, L.J., BRUKOW, P.E., COLLINS, J.P. (1994). Opportunistic breeding after summer rains by Arizona Tiger Salamanders. *Great Basin Naturalist*, **54** : 376-379.
- ALMAÇA, C., COLLARES-PEREIRA, M.J., CRESPO, E.G., MAGALHÃES, C., MASCARENHAS, M. (1976). Sur l'écologie des Reptiles et Amphibiens du Parc National da Peneda-Gerês. *Bol. Soc. Por. Ciênc. Nat.*, **16** : 5-19.
- ARNTZEN, J.W. (1994). Allometry and autotomy of the tail in the Golden-striped salamander, *Chioglossa lusitanica. Amphibia-Reptilia*, **15** : 267-274.
- ARNTZEN, J.W. (1995). Temporal and spatial distribution of the Golden-striped salamander (*Chioglossa lusitanica*) along two mountain brooks in Northern Portugal. *Herpetological Journal*, **5** : 213-216.
- ARNTZEN, J.W. (1981). Ecological observations on *Chioglossa lusitanica. Amphibia - Reptilia*, **1** (3/4) : 1987-203.
- ARNTZEN, J.W. (1979). *De levenswijze van de goudstreepsalamander, Chioglossa lusitanica Bocage, 1984.* MSc thesis. University of Amsterdam.
- BAGENAL, T.B., TESH, F.W. (1978). Age and growth. In Bagenal, T. B. 1978. *Methods of the assessment of fish productions in fresh water.* IBP Handbook, Nº3.
- BARBAULT, R., CASTANET, J., FRANCILLON, H., RICQLÈS, A. DE (1979). Détermination de l'âge chez un Anoure déserticole *Bufo pentoni* Anderson 1893. *Terre Vie Rev. Ecol.*, **33** : 129-142.
- BARTSCH, A.F., INGRAM, W.M. (1959). Stream life and the pollution environment. *Public works*, **90** : 104-110.

- BECKERS, B., STEEGMANS, R. (1979). *De kwaliteit van de oppervlaktewateren in Limburg - Lisec*. Limburg Studiecentrum voor Toegepaste Ecologie. Centrum voor Bosbiologisch Onderzoek Bokrijk.
- BEGON, M. (1979). *Investigating Animal Abundance - Capture-recapture for biologists*. London. Edward Arnold. 13-16 pp.
- BERVEN, K. A. (1988). The relationship among egg size and food level on larval development in the wood frog (*Rana sylvatica*). *Oecologia (Berlin)*, **75** : 67-72.
- BERVEN, K.A. (1990). Factors affecting population fluctuations in larval and adult stages of the wood frog (*Rana sylvatica*). *Ecology*, **71** : 1599-1608.
- BERVEN, K. A., CHADRA, R.G. (1988). The relationship among egg size density and food level on larval development in the wood frog (*Rana sylvatica*). *Oecologia (Berlin)*, **75** : 67-72.
- BERVEN, K.A., GILL, D.E. (1983). Interpreting geographic variation in life history traits. *American Zoologist*, **23** : 85-97.
- BERVEN, K.A. (1982). The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica*. I. An experimental analysis of life history traits. *Evolution*, **36** : 962-983.
- BLACKBURN, W.M., PETR, P. (1979). Forest litter decomposition and benthos in a mountain stream in Victoria, Australia. *Arch. Hydrobiol.*, **86** : 453-498.
- BLAKELY, N. (1981). Life history significance of size-triggered metamorphosis in milkweed bugs (*Oncopeltus*). *Ecology*, **62** : 57-64.
- BLANCO, J.C., GONZÁLEZ, J.L. (1992). *Libro Rojo de los Vertebrados de España*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion. ICONA. Madrid.
- BOLING, R.H., GOODMAN, E.D., VAN SICKLE, J.A., ZIMMER, J.O., CUMMINS, K.W., PETERSEN, R.C., REICE, S.R. (1975). Toward a model of detritus processing in a woodland stream. *Ecology*, **56** : 141-151.
- BOURNAUD, M., KECK, G. (1980). Diversité spécifique et structure des peuplements de macro-invertébrés benthiques au long d'un cours d'eaux : Le Furans (ain). *Acta Oecologica/OEcol. Gener.*, **1** (2) : 131-150.
- BROWN, B.E. (1977). Effects of mine drainage on the River Hayle, Cornwall. A) Factors affecting concentrations of copper, zinc and iron in water, sediments and dominant invertebrate fauna. *Hydrobiologia*, **52** (2-3) : 221-233.
- BRUCE, R.C. (1989). Life history of the salamander *Desmognathus monticola*, with a comparison of the larval periods of *D. monticola* and *D. ochrophaeus*. *Herpetologica*, **45** (2) : 144-155.
- BRUCE, R.C., HAIRSTON SR., N.G. (1990). Life-history correlates of body-size differences between two populations of the salamander, *Desmognathus monticola*. *Journal of Herpetology*, **24** (2) : 124-134.
- BRUCE, R.C. (1982). Larval periods and metamorphosis in two species of salamanders of the genus *Eurydeia*. *Copeia*, **1982** : 117-127.
- BRUCE, R.C. (1980). A model of the larval period of the spring salamander, *Gyrinophilus porphyriticus*, based on size - frequency distributions. *Herpetologica*, **36** : 78-86.
- BUNS, M., RATTE, H.T. (1991). The combined effects of temperature and food consumption on body weight, egg production and development time in *Chaoborus crystallinus* DeGeer (Diptera : Chaoboridae). *Oecologia*, **88** : 470-476.
- BURCH, G.J., MOORE, I.D., BURNS, J. (1989). Soil hydrophobic effects on infiltration and catchment runoff. *Hydrological processes*, **3** : 211-222.
- BURTON, T.M., LIKENS, G.E. (1975a). Energy flow and nutrient cycling in salamander populations in the Hubbard Brook experimental forest, New Hampshire. *Ecology*, **56** : 1068-1080.
- BURTON, T.M., LIKENS, G.E. (1975b). Salamander populations and biomass in the Hubbard Brook experimental forest, New Hampshire. *Copeia*, **1975** : 541-546.
- BUSACK, S.D. (1976). A review of the biology of the gold-striped salamander, *Chirostomias lusitanica* (AMPHIBIA - SALAMANDRIDAE). *Biol. Conserv.*, **10** : 309-319.
- CAETANO, M.H., CASTANET, J., FRANCILLON, H. (1985). Détermination de l'âge de *Triturus marmoratus marmoratus* (Latreille 1800) du Parc National de Peneda Gerês (Portugal) par squelettochronologie. *Amphibia-Reptilia*, **6** : 117-132.
- CAETANO, M.H. (1988). Estudo sobre a biologia das populações de *Triturus marmoratus* (Latreille, 1800) e *Triturus boscai* (Lataste, 1879). Morfologia, ecologia, crescimento e variabilidade. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa para obtenção do grau de Doutor. Lisboa. 359 pp.
- CAETANO, M.H., CASTANET, J. (1993). Variability and microevolutionary patterns in *Triturus marmoratus* from Portugal: age, size, longevity and individual growth. *Amphibia-Reptilia*, **14** : 117-129.
- CAIRNS JR., J. (1984). Freshwater biological monitoring: Keynote address. In: *Freshwater Biological Monitoring*, Proc. Specialised Conf., Cardiff, UK. 12-14 th September. D. Pascoe & R. W. Edwards (eds). Pergamon Press, Oxford. 1-14.
- CASTANET, J. (1974). Étude histologique des marques squelettiques de croissance chez *Vipera aspis* (L.) (Ophidia, Viperidae). *Zool. Scr.*, **3** : 137-151.

- CASTANET, J. (1975). Quelques observations sur la présence et la structure des marques squelettiques de croissance chez les Amphibiens. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **100** (4) : 603-620.
- CASTANET, J., MEUNIER, F.J., RICQLES, A. (1977). L'enregistrement de la croissance cyclique par le tissu osseux chez les vertébrés poikilothermes: données comparatives et essai de synthèse. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **111** (2) : 183-203.
- CASTANET, J. (1978). Les marques de croissance osseuse comme indicateur de l'âge chez les lézards. *Acta Zool. Stockh.*, **59** (1) : 35-48.
- CASTANET, J. (1979). Données comparatives sur la minéralisation des marques de croissance squelettique chez les Vertébrés. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **289** : 405-408.
- CASTANET, J. (1981). Nouvelles données sur les lignes cimentantes de l'os. *Arch. Biol. (Bruxelles)*, **92** : 1-24.
- CASTANET, J., ROCHE, E. (1981). Détermination de l'âge chez le lézard des murailles, *Lacerta muralis* (Laurenti, 1768) au moyen de la squelettochronologie. *Revue Suisse Zool.*, **88** (1) : 215-216.
- CASTANET, J. (1985). La squelettochronologie chez les Reptiles. I. Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques chez les Lézards et les Tortues. *Ann. Sc. Nat. Zool. Paris*, **7** : 23-40.
- CASTANET, J. (1986-1987). La squelettochronologie chez les Reptiles. III. Applications. *Ann. Sc. Nat. Zool. Paris*, **8** : 157-172.
- CASTANET, J., NAULLEAU, G. (1985). La squelettochronologie chez les Reptiles. II. Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques utilisées comme critère d'âge chez les serpents. Remarques sur la croissance et la longévité de la Vipère Aspic. *Ann. Sc. Nat. Zool. Paris*, **7** : 41-62.
- CASTANET, J., FRANCILLON-VIEILLOT, H., MEUNIER, F.J., DE RICQLES, A. (1993). *Bone and Individual Aging*. In: Hall, B. K. 1993. Volume 7 : Bone Growth-B. CRC Press. USA.
- CHERGUI, H., PATTEE, E. (1991a). Dégradation des feuilles mortes allochtones dans le réseau de la Basse Moulouya, au Maroc. *Acta Oecol.*, **12** : 534-560.
- CHERGUI, H., PATTEE, E. (1991b). An experimental study of the breakdown of submerged leaves by hyphomycetes and invertebrates in Morocco. *Freshwat. Biol.*, **26** : 97-100.
- C.N.A. (1984a). *Precipitação - Notícia explicativa*. Atlas do Ambiente. Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica. CNA. Lisboa.
- C.N.A. (1984b). *Temperatura - Notícia explicativa*. Atlas do Ambiente. Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica. CNA. Lisboa.
- C.N.A. (1985). *Humidade do ar - Notícia explicativa*. Atlas do Ambiente. Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica. CNA. Lisboa.
- CORREL, D.L. (1986). *Watershed research perspectives*. Smithsonian Press, Washington, D. C..
- CUMMINS, K.W., PETERSEN, R.C., HOWARD, F.O., WUYCHECK, J.C., HOLT, V.I. (1973). The utilization of leaf litter by stream detritivores. *Ecology*, **54** : 336-345.
- CUMMINS, K.W., MINSHALL, G.W., SEDELL, J.R., CUSHING, C.E., PETERSEN, R.C. (1984). Stream ecosystem theory. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **22** : 1818-1827.
- DE BRANBANDER, K., VANHOOREN, G., GOOSSENS, A., DE SCHUTTER, H., MICHA, J.C., JADOT, T., TERROIR, L., SCHMITZ, A., REIZER, C., COSME-JACQMIN, N., FETTER, S., NEF, L., WELTENS, R., VERHEYN, R., VERCAUTESEN, T., DE PAUW, N., VAN DER HAEGEN, N. (1981). *Cartes de la qualité biologique des eaux de quelques bassins hidrographiques*. Institut d'Hygiène et Epidemiologie. Bruxelles.
- DODD, JR., C.K. (1991). The status of the Red Hills salamander *Phaeognathus hubrichti*, USA, 1976-1988. *Biol. Cons.*, **55** : 57-75.
- DOLMEN, D. (1982). Skeletal growth marks and testis lobulation as criteria for age in *Triturus* spp. (Amphibia) in central Norway. *Acta Zool. (Stockh.)*, **63** : 73-80.
- DOLMEN, D. (1983). Growth and size of *Triturus vulgaris* and *T. cristatus* (Amphibia) in different parts of Norway. *Holarctic Ecology*, **6** : 356-371.
- ELLIOTT, J.M. (1971). Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates. *Scient. Publs. Freshwat. Biol. Ass.*, **25** : 126-127.
- FEIO, M. (1989). *A reconversão da agricultura e a problemática do eucalipto*. Associação Central de Agricultura Portuguesa. Lisboa. 166pp.
- FISHER, S.G., LIKENS, G.E. (1973). Energy flow in Bear brook, New Hampshire: an alternative approach to stream metabolism. *Ecol. Monogr.*, **43** : 421-439.
- FRANCILLON, H. (1979). Etude expérimentale des marques de croissance sur les humérus et les fémurs des tritons crêtés (*Triturus cristatus* Laurenti) en relation avec la détermination de l'âge individuel. *Acta Zool. (Stockh.)*, **60** : 223-232.
- FRANCILLON, H. (1980). Mise en évidence expérimentale du caractère annuel des lignes d'arrêt de croissance (LAG) chez le triton crêté *Triturus cristatus* (Laur.). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **105** (2) : 343-346.
- FRANCILLON, H., PASCAL, M. (1985). Presence de lignes d'arrêt de croissance dans les os longs de *Pleurodeles poireti* Gervais. Leur éventuelle utilisation comme indicateur de l'âge individuel. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **110** (2) : 223-240.
- GARCIA DE JALÓN, D., G. DEL TÁNAGO, M., G. DE VIEDMA, M. (1981). Importancia de los insectos en los métodos biológicos para el estudio de la calidad de las aguas: necesidad de su conocimiento taxonómico. *Graellsia*, **35-36** : 143-148.
- GAUFFIN, A.R., TARZWELL, C.M. (1952). Aquatic invertebrates as indicators of stream pollution. *Public Health Reports*, **67** (1) : 57-64.

- GILL, D.E. (1985). Interpreting breeding patterns from census data: a solution to the Husting dilemma. *Ecology*, **66** : 344-354.
- GONÇALVES, L. (1962). A reprodução de *Chioglossa lusitanica* Bocage. Algumas notas. *Naturalia* **8** : 1-3.
- Goux, L. (1957). Contribution à l'étude écologique et biogeographique de *Chioglossa lusitanica* Barb. (Urodela, Salamandridae). *Bull. Soc. Zool. France*, **82** : 361-377.
- HAGSTROM, T. (1977). Growth studies and aging methods for adult *Triturus vulgaris* L. and *Triturus cristatus* Laurenti (Urodela, Salamandridae). *Zool. Scr.*, **6** : 61-68.
- HAGSTROM, T. (1980). Growth of newts (*Triturus cristatus* and *Triturus vulgaris*) at various ages. *Salamandra*, **77** (4) : 248-251.
- HALLIDAY, T.R., VERRELL, P.A. (1988). Body size and age in Amphibians and Reptiles. *Journal of Herpetology*, **22** (3) : 253-265.
- HARTE, J., HOFFMAN, E. (1989). Possible effects of acidic deposition on a Rocky Mountain Population of the Tiger Salamander *Ambystoma tigrinum*. *Conservation Biology*, **3** : 149-158.
- HAWKES, H.A. (1979). Invertebrates as indicators of river water quality. In: *Biological Indicators of Water Quality*. James, A. e Evison, L. (eds). Division of Public Health Engineering Department. University of Newcastle Upon Tyne. John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane & Toronto. pp. 2-1. 2-45.
- HEMELAAR, A. (1983). Age of *Bufo bufo* in amplexus over the spawning period. *Oikos*, **40** : 1-5.
- HEMELAAR, A. (1985). An improved method to estimate the number of year rings resorbed in phalanges of *Bufo bufo* (L.) and its application to populations from different latitudes and altitudes. *Amphibia-Reptilia*, **6** : 323-343.
- HEMELAAR, A. (1986). *Demographic study on Bufo bufo L. (Anura, Amphibia) from different climates, by means of skeletochronology*. Ph.D. thesis, University of Nijmegen, The Netherlands, 135.
- HENDRICKX, J.M.H., DEKKER, L.W., BOERSMA, O.H. (1993). Unstable wetting fronts in water-repellent field soils. *J. Environ. Qual.*, **22** : 109-118.
- HOUCK, L.D. (1977). Life history patterns and reproductive biology of Neotropical Salamanders. In: *The Reproductive Biology of Amphibians*. D.H. Taylor & S.I. Guttman (eds.). Plenum Publishing Corporation.
- HOUCK, L.D. (1982). With rates an age maturity for the Plethodontid Salamander *Bolitoglossa subpalmata*. *Copeia*, **1982** (2) : 474-478.
- HUHEEY, J.E., BRANDON, R.A. (1973). Rock-face populations of the mountain salamander, *Desmognathus ochrophaeus*, in North Carolina. *Ecological Monographs*, **43** (1) : 60-77.
- HURLBERT, S.H. (1969). The breeding migrations and interhabitat wandering of the vermillion-spotted newt *Notophthalmus viridescens* (Rafinesque). *Ecol. Monogr.*, **39** : 465-488.
- HYNES, H.B.N. (1966). *The biology of polluted waters*. Liverpool University Press, Liverpool. 202 pp.
- HYNES, H.B.N. (1962). The significance of Macroinvertebrates in the study of Mild River pollution. *Biological Problems in Water Pollution*, third Seminar, 235-240. Environmental Health Series. Water Supply and Pollution Control. U. S. Department of Health Education and Welfare. Public Health Service.
- JAEGER, R.G. (1971). Moisture as a factor influencing the distribution of two species of terrestrial salamanders. *Oecologia*, **6** : 191-207.
- JUTERBOCK, J.E. (1990). Variation in larval growth and metamorphosis in the salamander *Desmognathus fuscus*. *Herpetologica*, **46** : 291-303.
- KAZMER, D.J. (1986). *Age determination of Urodele Amphibians by bone growth annuli*. M.Sc. thesis, Clemson University, Clemson, SC, 118.
- KLEINENBERG, S.E., SMIRINA, E.M. (1969). A contribution to the method of age determination in Amphibians. *Zool. Zh.*, **48** : 1090-1094.
- KLEVZAL, G.A., KLEINENBERG, S.E. (1967). Age determination of mammals from annual layers in teeth and bones. *Transl. Rus., Israel Progr. Sci. Transl., Jerusalem*, 1969, IPST Cat. № 5433.
- KRAMER, P., REICHENBACH, N., HAYSLETT, M., SATTLER, P. (1993). Population Dynamics and Conservation of the Peaks of Otter Salamander, *Plethodon hubrichti*. *J. of Herp.*, **27** : 431-135.
- KUZMIN, S.L. (1992). Feeding ecology of the Caucasian Salamander (*Mertensiella caucasica*), with comments on life history. *Asiatic Herpetological Research*, **4** : 123-131.
- LAFONTAINE, DE BRANBANDER, K., VANHOOREN, G., HUYGH, A., NEF, L., PERSOONE, G., DE PAUW, N., VERHEYEN, R., MICHA, J.C., SCHMITZ, A., REIZER, C. (1979). *Carte de la qualité des cours d'eau en Belgique*. Institut d'Hygiène et Epidemiologie, Bruxelles.
- LAMB, R.J., 1985. Litter fall and nutrient turnover in two eucalypt woodlands. *Aust. J. Bot.*, **33** : 1-14.
- LECOMTE, F., MEUNIER, F.J., ROJAS-BELTRAN, R. (1985). Mise en évidence d'un double cycle de croissance annuel chez un Silure de Guyane, *Arius couma* (Val., 1839) (Teleostei, Siluriformes, Ariidae) à partir de l'étude squelettochronologique des épines de nageoires. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **300** : 181-184.
- LEGENDRE, L., LEGENDRE, P. (1979). *Écologie numérique*. Vol. 2: *La structure des données écologiques*. Masson, Paris. 254 pp.

- LYNCH, M. (1989). The life history consequences of resource depression in *Daphnia pulex*. *Ecology*, **70** : 246-256.
- MACAULEY, B.J., FOX, L.R. (1980). Variations in total phenols and condensed tannins in *Eucalyptus*: leaf phenology and insect grazing. *Aust. J. Ecol.*, **5** : 31-35.
- MACINTOSH, R.P. (1967). An index of diversity and the relation of certain concepts to diversity. *Ecology*, **48** : 392-404.
- MARANGIO, M.S., ANDERSON, J.D. (1977). Soil moisture preference and water relations of the Marbled Salamander, *Ambystoma opacum* (Amphibia, Urodea, Ambystomatidae). *Journal of Herpetology*, **11** (2) : 169-176.
- MASON, C.F. (1981). *Biology of Freshwater Pollution*. pag. 1-62, 100-165, Logman. Inc., New York.
- MAURY, M.E., BARBAULT, R. (1983). Structure d'âge d'une population de *Cnemidophorus scalaris* (Sauria, Teiidae). *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, **38** : 225-227.
- MEUNIER, F.J., PASCAL, M., LOUBENS, G. (1979). Comparaison de méthodes squelettochronologiques et considérations fonctionnelles sur le tissu osseux acellulaire d'un Ostéichthys du Lagon Néo-Calédonien. *Aquaculture*, **17** : 137-157.
- MOLLES JR., M.C. (1982). Trichoptera communities of streams associated with aspen and conifer forests: long-term structural change. *Ecology*, **63** : 1-6.
- MORIN, P.J. (1983). Competitive and predatory interactions in natural and experimental populations of *Notophthalmus viridescens dorsalis* and *Ambystoma tigrinum*. *Copeia*, **1983** : 628-639.
- NISBET, M., VERNEAUX, J. (1970). Composantes chimiques des eaux courantes - Discussion et proposition de classes en tant que bases d'interprétation des analyses chimiques. *Annales de Limnologie*, **6** (2) : 161-190.
- NOUIRA, S., MAURY, M.E., CASTANET, J., BARBAULT, R. (1982). Détermination squelettochronologique de l'âge dans une population de *Cophosaurus texanus* (Sauria, Iguanidae). *Amphibia-Reptilia*, **3** : 213-219.
- O' KEEFE, M.A., LAKE, P.S. (1987). The decomposition of pine, eucalypt and acacia litter in a small upland Victoria stream. *Bull. Aust. Soc. Limnol.*, **11** : 15-32.
- OHDACHI, S. (1994). Growth, metamorphosis, and gape-limited cannibalism and predation on tadpoles in larvae of salamanders *Hynobius retardatus*. *Zoological Science*, **11** : 127-131.
- ORMEROD, S.J., RUNDLE, S.D., CLARE LLOYD, E., DOUGLAS, A.A. (1993). The influence of riparian management on the habitat structure and macroinvertebrate communities of upland streams draining plantation forests. *Journal of Applied Ecology*, **30** : 13-24.
- PEABODY, F.E. (1961). Annual growth zones in Vertebrates (living and fossil). *J. Morph.*, **108** : 11-62.
- PETERJOHN, W.T., CORREL, D.L. (1984). Nutrient dynamics in an agricultural watershed: observation on the role of a riparian forest. *Ecology*, **65** : 1466-1475.
- PETRANKA, J.W., BRANNON, M.P., HOPEY, M.E., SMITH, C.K. (1994). Effects of timber harvesting on low elevation populations of southern Appalachian salamanders. *Forest Ecology and Management*, **67** : 135-147.
- PETRANKA, J.W., ELDREDGE, M.E., HALEY, K.E. (1993). Effects of timber harvesting on southern Appalachian salamanders. *Cons. Biol.*, **7** : 363-370.
- PETRANKA, J.W. (1984). Sources of interpopulational variation in growth responses of larval salamanders. *Ecology*, **65** : 1857-1865.
- PIANKA, E. (1976). Natural selection of optimal reproductive tactics. *American Zoologist*, **16** : 775-784.
- PIELOU, E.C. (1966). The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theor. Biol.*, **13** : 131-144.
- PILORGE, T., CASTANET, J. (1981). Détermination de l'âge dans une population naturelle du lézard vivipare *Lacerta vivipara*. *Acta Oecologica. Oecol. Gen.*, **2** : 387-397.
- PRESSLAND, A.J. (1982). Litter production and decomposition from an overstorey of *Eucalyptus* spp on two catchments in New England region of New South Wales. *Aust. J. Ecol.*, **7** : 171-180.
- RAMADE, F., COSSON, R., ÉCCHAUBARD, M., LE BRAS, S., MORETEAU, J.C., THYBAUD, E. (1984). Détection de la pollution des eaux en milieu agricole. *Bull. Ecol.*, **15** : 47-55.
- RAYMOND, L.R., HARDY, L.M. (1991). Effects of a clearcut on a population of mole salamander, *Ambystoma talpoideum* in an adjacent unaltered forest. *J. Herp.*, **25** : 509-512.
- ROWE, L., LUDWIG, D. (1991). Size and timing of metamorphosis in complex life cycles: time constraints and variation. *Ecology*, **72** : 413-427.
- SCHAFFER, W.M., ELSON, P.F. (1975). The adaptative significance of variation in life history among local populations of Atlantic salmon in North America. *Ecology*, **56** : 577-590.
- SCHNEIDER, J.C. (1980). The role of parthenogenesis and female aptery in microgeographic ecological adaptation in the fall cankerworm, *Alsophila pomonaria* Harris (Lepidoptera : Geometridae). *Ecology*, **61** : 1082-1090.
- SCOTT, D.E. (1994). The effect of larval density on adult demographic traits in *Ambystoma opacum*. *Ecology*, **75** (5) : 1383-1396.
- SEMLITSCH, R.D. (1987). Density-dependent growth and fecundity in the paedomorphic salamander *Ambystoma talpoideum*. *Ecology*, **68** : 1003-1008.

- SEMLITSCH, R.D. (1985). Analysis of climatic factors influencing migrations of the Salamander, *Ambystoma talpoideum*. *Copeia*, **1985** (2) : 477-489.
- SEMLITSCH, R.D. (1983). Structure and dynamics of two breeding populations of the eastern tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Copeia*, **1983** : 608-616.
- SEMLITSCH, R.D., SCOTT, D.E., PECHMANN, J.H.K. (1988). Time and size at metamorphosis related to adult fitness in *Ambystoma talpoideum*. *Ecology*, **69** : 184-192.
- SEMLITSCH, R.D., GIBBONS, J.W. (1985). Phenotypic variation in metamorphosis and paedomorphosis in the salamander *Ambystoma talpoideum*. *Ecology*, **66** : 1123-1130.
- SEMLITSCH, R.D. (1980). Growth and metamorphosis of larval dwarf salamanders (*Eurycea quadridigitata*). *Herpetologica*, **36** : 138-140.
- SHAKESBY, R.A., COELHO, C. DE O.A., FERREIRA, A.D., TERRY, J.P., WALSH, R.P.D. (1993). Wildfire impacts on soil erosion and hydrology in wet mediterranean forest, Portugal. *Int. J. Wildland Fire*, **3** : 95-110.
- SHANNON, C.E., WEAVER, W. (1949). *The mathematical theory of communication*. Univ. Illinois Press, Urbana.
- SMIRINA, E.M. (1974). Prospects of age determination by bone layers in Reptilia. *Zool. Zh.*, **53** : 111-117.
- SMIRINA, E.M. (1983). Age determination and retrospective body size evaluation in the live common toads, *Bufo bufo*. *Zool. Zh.*, **62** : 437-444.
- SMIRINA, E.M. (1972). Annual layers in bones of *Rana temporaria*. *Zool. Zh.*, **51** (1) 1529-1534.
- SMIRINA, E.M., ROCEK, Z. (1976). On the possibility of using annual bone layers of alpine newts, *Triturus alpestris* (Amphibia: Urodela) for their age determination. *Vest. Cs. Spol. Zool.*, **40** (3) : 232-237.
- SMIRINA, E.M., KLEVEZAL, G.A., BERGER, L. (1986). Experimental investigation of the annual layer formation in bones of Amphibians. *Zool. Zh.*, **LXV** (10) : 1526-1534.
- SMITH, D.C. (1987). Adult recruitment in chorus frogs: effects of size and date at metamorphosis. *Ecology*, **68** : 344-350.
- S.N.P.R.C.N. (1990). *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal*. Secretaria de Estado do Ambiente e Defesa do Consumidor. SNPRCN. Lisboa.
- SOKAL, R.R., ROHLF, F.J. (1995). *Biometry - The principles and practice of statistics in biological research*. W. H. Freeman and Company. 3d ed. New York. USA.
- SORENSEN, T. (1948). A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analysis of the vegetation on Danish commons. *Biol. Skr.*, **5** : 1-34.
- SPRULES, C.J. (1974). Environmental factors and the incidence of neoteny in *Ambystoma gracile* (Baird) (Amphibia:Caudata). *Canadian Journal of Zoology*, **52** : 1545-1552.
- STEARNS, S.C. (1983). The genetic basis of differences in life history traits among six populations of mosquitofish (*Gambusia affinis*) that shared ancestors in 1905. *Evolution*, **37** : 618-627.
- STOREY, E. (1958). The effect of intermittent cortisone administration in the rabbit. *J. Bone Jt. Surg.*, **40** : 103-115.
- TACHET, H., BOURNAUD, M., RICHOUX, P. (1980). *Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces (Systématique élémentaire et aperçu écologique)*. Université de Lyon I & Association Française de Limnologie. 155 pp..
- TARKHNISHVILI, D.N., SERBINOVA, I.A. (1993). The ecology of the Caucasian Salamander (*Mertensiella caucasica* Waga) in a local Population. *Asiatic Herpetological Research* **5** : 147-165.
- TERRY, J.P. (1992). *Rainsplash detachment and soil erosion in the Águeda basin, Portugal: the effects of forest fire and land management changes*. Submitted to the University of Wales in fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. Department of Geography, University College of Swansea.
- THIESMEIER, B. (1994). Trophische Beziehungen und Habitatpräferenzen sympatrisch lebender *Salamandra salamandra*- und *Chioglossa lusitanica*-Larven. *Abhandlungen für Naturkunde*, **17** : 119-126.
- THIREAU, M., SALDANHA, L. (1972). Liste commentée d'Amphibiens et Reptiles recueillis au Portugal. *Bull. Mus. Hist. Nat. Paris*, **22** : 143-156.
- THORN, R. (1968). *Les salamanders d'Europe d'Asie et d'Afrique du Nord*. Editions Paul Lechevalier, Paris.
- TITTIZER, T.G., KOTHÉ, P. (1979). Possibilities and limitation of biological methods of water analysis. *Biological Indicators of Water Quality*. Ed. by A. James and L. Evison. Division of Public Health Engineering. Civil Engineering Department. University of Newcastle Upon Tyne. John Wiley and Sons.
- VAN BEURDEN, E.K. (1979). Gamete development in relation to season, moisture, energy reserve, and size in the Australian water-holding frog, *Cyclorana platycephalus*. *Herpetologica*, **35** : 370-374.
- VANCE, R.R. (1972). Competition and mechanisms of coexistence in three sympatric species of intertidal hermit crabs. *Ecology*, **53** : 1062-1074.
- VANNOTE, R.L., MINSHALL, G.W., CUMMINS, K.W., SEDELL, J.R., CUSHING, C.E. (1980). The River Continuum Concept. *Can. J. Fish. Aquatic Sci.*, **37** : 130-137.

- VEENSTRA, G.T. (1986) - Heeft de aanplant van eucalyptus gevolgen voor de goudstreepsalamander, *Chioglossa lusitanica*? *Lacerta*, **7**: 105-120.
- VENCES, M. (1993). Habitat choice of the Salamander *Chioglossa lusitanica*: the effects of eucalyptus plantations. *Amphibia - Reptilia*, **14**: 201-212.
- VENCES, M. (1990). Untersuchungen zur Ökologie, Ethologie und geographischen Variation von *Chioglossa lusitanica* Bocage, 1984. *Salamandra*, **26**: 267-297.
- VERNEAUX, J. (1984). Méthodes biologiques et problèmes de la détermination des qualités des eaux courantes. *Bull. Ecol.*, **15** (1): 47-55.
- VERREL, P.A., FRANCILLON, H. (1986). Body size, age and reproduction in the smooth newt, *Triturus vulgaris*. *J. Zool. Lond.*, **210**: 89-100.
- VERSFEILD, D.B. (1981). Overland flow on small plots at the Jonker-shoek Forestry Research Station. *South African Forestry Journal*, **119**: 35-40.
- VERSFEILD, D.B. (1978). Litterfall and decomposition in stands of mature *Pinus radiata*. *South African Forestry Journal*, **116**: 40-50.
- WARBURG, M.R. (1992). Breeding patterns in a fringe population of fire salamanders, *Salamandra salamandra*. *Herpetological Journal*, **2**: 54-58.
- WARBURG, M.R., DEGANI, G. (1979). Evaporative water loss and intake in juvenile and adult *Salamandra salamandra* (L.) (Amphibia, Urodela). *Comparative Biochemistry and Physiology*, **62A**: 1071-1075.
- WARREN, C.E. (1971). *Biology and Water Pollution Control*. W. B. Saunders Cy. Philadelphia, London.
- WASHINGTON, H.G. (1984). Diversity, biotic and similarity indices. *Water Res.*, **18** (6): 653-694.
- WASSERSUG, R.J. (1975). The adaptive significance of the tadpole stage with comments on the maintenance of complex life cycles in anurans. *American Zoologist*, **15**: 405-417.
- WASSERSUG, R.J. (1974). Evolution of anuran life cycles. *Science*, **185**: 377-378.
- WATERS, D., JENKINS, A. (1992). Impacts of afforestation on water quality trends in two catchments in mid-Wales. *Environmental Pollution*, **77**: 167-172.
- WEBER, C.I. (1973). Biological monitoring of the aquatic environment. *S. T. P.*, **528**: 46-60.
- WEBSTER, J., BENFIELD, E.F. (1986). Vascular plant breakdown in freshwater ecosystems. *Ann. Rev. Ecol. & Sys.*, **17**: 567-594.
- WELSH, JR., H.H. (1990). Relictual amphibians and old-growth forests. *Cons. Biol.*, **4**: 309-319.
- WERNER, E.E., GILLIAM, J.F. (1984). The ontogenetic niche and species interactions in size-structured populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **15**: 393-425.
- WILBUR, H.M. (1972). Competition, predation, and the structure of the *Ambystoma* - *Rana sylvatica* community. *Ecology*, **53**: 3-21.
- WILBUR, H.M. (1980). Complex life cycles. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**: 67-93.
- WILBUR, H.M. (1977). Interactions of food level and population density in *Rana sylvatica*. *Ecology*, **58**: 206-209.
- WILBUR, H.M., COLLINS, J.P. (1973). Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science*, **182**: 1305-1314.
- WOODALL, W.R., WALLACE, J.B. (1972). The benthic fauna in four small southern Appalachian streams. *Am. Midland Nat.*, **88**: 393-407.

ANEXO A

Tabela A.1 - Valores médios da temperatura diária, temperatura mínima e temperatura máxima verificadas durante o período de 1931 até 1960 (C.N.A., 1984b).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
VALONGO												
Dia	9,0	9,6	11,9	13,6	15,2	18,0	19,6	19,8	18,6	15,6	12,2	9,6
Máx.	13,2	14,2	16,3	18,4	19,6	22,6	24,7	25,0	23,7	20,8	16,7	13,7
Mín.	4,7	5,0	7,5	8,8	10,8	13,4	14,6	14,6	13,6	10,8	7,8	5,4
ARADA												
Dia	5,8	6,7	8,8	11,0	12,8	16,8	19,4	19,8	17,4	13,6	9,5	6,5
Máx.	8,6	10,0	12,2	15,0	17,0	21,6	24,6	24,8	21,9	17,1	12,4	9,3
Mín.	3,0	3,4	5,4	6,9	8,6	12,1	14,2	14,7	13,0	10,0	6,6	3,7

Tabela A.2 - Valores médios da quantidade de precipitação (mm) no período de 1931-1960 (C.N.A., 1984a).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
VALONGO												
	158,8	111,6	147,2	86,1	86,8	41,2	19,6	26,2	50,6	105,2	147,9	168,4
ARADA												
	330,7	254,9	316,2	153,1	155,9	63,3	23,9	34,2	79,9	172,5	271,3	309,9

Tabela A.3 - Humididade relativa do ar (%) durante o período de 1931-1960 (C.N.A., 1985) - Valores médios registados às 21h.

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
VALONGO												
	82	82	82	78	81	81	80	79	83	85	86	85
ARADA												
	86	82	80	75	79	73	66	66	73	79	84	86

Nota: Os valores foram registados nas Estações da Serra do Pilar (Porto) e da Serra do Caramulo (Viseu).

Tabela B.2 - Classes de qualidade de água segundo o I.B.G..

I.B.G.	≥ 17	16-13	12-9	8-5	≤ 4
Côr	azul	verde	amarelo	laranja	vermelha

ANEXO C

Tabela B.3 - Índice químico e qualidade da água "Lisec method".

Classe	Côr	Qualidade da água
1	azul	Água não poluída
2	verde	Água ligeiramente poluída
3	amarelo	Água poluída
4	laranja	Água muito poluída
5	vermelha	Água extremamente poluída

Tabela C.1 - Lista dos *taxa* colhidos no Ribeiro do Salto ao longo da época de amostragem - abundância nas duas zonas amostradas.

	Novembro			Abril		
	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total
MOLLUSCA						
BIVALVES						
Sphaeriidae						
GASTEROPODES						
Bythinellidae						
ANNELIDA						
Oligoquetas	94	530	624	34	105	139
HIRUDINEA						
Erpobdellidae		3	3			
Glossiphonidae						
Hirudidae		1	1			
INSECTA						
EPHEMEROPTERA						
Baetidae						
Ephemerellidae						
Ephemeridae						
Heptageniidae						
Leptophlebiidae						
PLECOPTERA						
Capniidae						
Leuctridae	1	20	21	39	269	308
Nemouridae		4	4			
ODONATA						
Aeschnidae						
Calopterygidae						
Coenagrionidae						
Cordulegasteridae						
Gomphidae	10	8	18	32	1	33
HETEROPTERA						
Corixidae						
Gerridae						
Hydrometridae						
Mesovellidae						
Nepidae						
Notonectidae	1		1	9		9
Veliidae						
COLEOPTERA						
Dryopidae						
Dytiscidae	7	3	10	29	11	40
Elmidae	2	1	3	3	9	12
Gyrinidae						
Haliplidae						
				7	51	58

Tabela C.1 - Continuação

	Novembro			Abril		
	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total
Helodidae						
Helophoridae				3	3	
Hydraenidae	1	1				
Hydrochidae				2	2	
Hydrophilidae						
Limnebiidae						
Coleoptera sp		1	1			
MEGALOPTERA						
Sialidae						
TRICHOPTERA						
Beraeidae						
Brachycentridae						
Calamoceratidae						
Glossosomatidae						
Helicopsychidae	1	1	2			
Hydropsychidae	3	3		4	4	
Hydroptilidae						
Lepidostomatidae						
Leptoceridae				2	2	4
Limnephilidae						
Odontoceridae						
Philopotamidae				2	2	
Polycentropidae	1	22	23	5	5	
Psychomidae						
Rhyacophilidae				2	2	
Sericostomatidae		3	3			
Thremmatidae						
DIPTERA						
Athericidae		1	1			
Ceratopogonidae				2	2	
Chironomidae	67	8	75	184	49	233
Dixidae						
Dolichopodidae		2	2			
Empididae	4		4			
Limoniidae	4	15	19	5	1	6
Psychodidae						
Tabanidae	1		1			
Tipulidae	3	7	10			
Simuliidae						
NEMATHELMINTES		2	2			
HYDRACARINAS	5		5	3	3	
PLATHELMINTES						
Planariidae				3	3	

Tabela C.2 - Lista dos taxa colhidos na Ribeira da Silveirinha ao longo da época de amostragem - abundância nas duas zonas amostradas.

	Novembro			Abril			Julho		
	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total
MOLLUSCA									
BIVALVES									
Sphaeriidae									
GASTEROPODES									
Bythinellidae									
ANNELIDA									
Oligoquetas	260	296	556	91	39	130	9	43	52
HIRUDINEA				3	3				
Erpobdellidae				1	6	7			
Glossiphonidae									
Hirudidae									
INSECTA									
EPHEMEROPTERA									
Baetidae									
Ephemerellidae									
Ephemeridae									
Heptageniidae									
Leptophlebiidae				32	1	33	52	2	54
PLECOPTERA									
Capniidae									
Leuctridae	35	75	110	31	100	131	186	425	611
Nemouridae		11	11	9	86	95	2	21	23
ODONATA									
Aeschnidae									
Calopterygidae									
Coenagrionidae									
Cordulegasteridae	24	1	25	36	10	46	39	9	48
Gomphidae									
HETEROPTERA									
Corixidae									
Gerridae									
Hydrometridae									
Mesoveliidae									
Nepidae									
Notonectidae									
Veliidae	2		2	5		5			
COLEOPTERA									
Dryopidae									
Dytiscidae	2		2	9		14	6	14	20
Elmidae	1	1	21	1		1	2	2	2
Gyrinidae									
Halipidae									
Helodidae	8		8	1	1	2	1	1	2
Helophoridae				3	1	4			
Hydraenidae		1	1						

Tabela C.2 - Continuação

	Novembro			Abril			Julho		
	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total
Hydrochidae							2	5	7
Hydrophilidae							7	9	16
Limnebiidae									
Coleoptera sp									
MEGALOPTERA									
Sialidae									
TRICHOPTERA							35	35	
Beraeidae									
Brachycentridae									
Calamoceratidae									
Glossosomatidae									
Helicopsychidae	4	1	5						
Hydropsychidae									
Hydroptilidae									
Lepidostomatidae									
Leptoceridae									
Limnephilidae									
Odontoceridae									
Philopotamidae									
Polycentropidae	2	3	2						
Psychomidae									
Rhyacophilidae									
Sericostomatidae									
Thremmatidae									
DIPTERA									
Athericidae	5	2	7	26	6	32	6	2	8
Ceratopogonidae				2	2	4	1	1	2
Chironomidae	138	18	156	204	38	242	160	25	185
Dixidae									
Dolichopodidae				3	3	5			
Empididae				3	3	1	5	5	
Limoniidae	6		6	1		1	3	3	6
Psychodidae									
Tabanidae				1	1				
Tipulidae	5	1	6		4	4	1		1
Simuliidae				4	134	138	2	4	6
NEMATHELMINTES				4					
HYDRACARINAS									
PLATHELMINTES									
Planariidae				1	1				

1970 = 09

C4

Tabela C.3 - Lista dos taxa colhidos no Ribeiro do Covelo ao longo da época de amostragem - abundância nas duas zonas amostradas.

	Novembro			Abril			Julho		
	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total
MOLLUSCA									
BIVALVES									
Sphaeriidae									
GASTEROPODES									
Bythinellidae									
ANNELIDA									
Oligoquetas									
HIRUDINEA									
Erpobdellidae									
Glossiphonidae									
Hirudidae									
INSECTA									
EPHEMEROPT-ERA									
Baetidae									
Ephemerellidae									
Ephemeridae									
Heptageniidae	21	1	22				6	6	5
Leptophlebiidae	3		3				15	19	34
PLECOPTERA									
Capniidae									
Leuctridae	78	5	83				25	48	73
Nemouridae	60	1	61				9	116	125
ODONATA									
Aeschnidae									
Calopterygidae	1	7	8				6	6	6
Coenagrionidae									
Cordulegasteridae	9	25	34				23	22	45
Gomphidae									
HETEROPTERA									
Corixidae							2	2	2
Gerridae							2	2	2
Hydrometridae									
Mesovelidae									
Nepidae									
Notonectidae									
Veliidae							1	1	1
COLEOPTERA									
Dryopidae									
Dytiscidae	4	1	5				4	6	10
Elmidae							5	1	6
Gyrinidae							5	1	3
Haliplidae									
Helodidae	5		5				2	6	8
Helophoridae									
Hydraenidae	1		1						

C5

Tabela C.3 - Continuação

	Novembro			Abril			Julho		
	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total
Hydrochidae				2	15	17	8	317	325
Hydrophilidae					19	49	68		
Limnebiidae				2		2			
Coleoptera sp									
MEGALOPTERA									
Sialidae	1	1					2	2	
TRICHOPTERA									
Beraeidae							1	1	
Brachycentridae							2	2	
Calamoceratidae	3	1	4						
Glossosomatidae	1	1		1	1				
Helicopsychidae	1	1							
Hydropsychidae	195	6	201	1	152	153	90	90	
Hydroptilidae				1	1				
Lepidostomatidae	2	2		1	2	3	5	5	
Leptoceridae				11	6	17	5	5	
Limnephilidae	3	15	18	2	2		5	5	
Odontoceridae	2	2		1	1	2	5	5	
Philopotamidae	33	33		24	24		6	6	
Polycentropidae	6	2	8	2	5	7	4	2	6
Psychomidae	4	2	6	4		4	2	1	3
Rhyacophilidae	5	5		11	11				
Sericostomatidae	8	8		1	1		4		4
Thremmatidae	1	1		1	1				
DIPTERA									
Athericidae	20	20	40	9	26	35	13	24	37
Ceratopogonidae	2	2	4	7	6	13	3	11	14
Chironomidae	41	57	98	165	140	305	212	61	273
Dixidae	1	1		1	1	2	2	2	
Dolichopodidae	3	1	4	8	8		4	4	
Empididae	2	2		1	3	4	1	3	4
Limoniidae	9	9	18	8	11	19	14	18	32
Psychodidae							4	4	
Tabanidae							1	1	
Tipulidae	5	5					1	1	2
Simuliidae	42	42		6	40	46	6	6	
NEMATHELMINTES	1	1							
HYDRACARINAS	1	1					1	1	
PLATHELMINTES									
Planariidae	6	6		4	15	19	1	9	10

Tabela C.4 - Lista dos *taxa* colhidos na Ribeira da Silveirinha e Ribeiro do Salto durante a campanha de 1978/79 (Arntzen - resultados não publicados).

	NOVEMBRO			SILVEIRINHA			SALTO		
	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total
MOLLUSCA									
BIVALVES				•	•		•	•	
Sphaeriidae									
GASTEROPODES									
Bythinellidae									
ANNELIDA									
Oligoquetas				•	•		•	•	
HIRUDINEA									
Erpobdellidae				•	•		•	•	
Glossiphonidae									
Hirudidae									
INSECTA									
EPHEMEROPTERA									
Baetidae							•	•	
Ephemerellidae							•	•	
Ephemeridae									
Heptageniidae									
Leptophlebiidae							•	•	
PLECOPTERA							•	•	
Capniidae									
Leuctridae							•	•	
Nemouridae									
ODONATA									
Aeschnidae				•	•		•	•	
Calopterygidae				•	•		•	•	
Coenagrionidae									
Cordulegasteridae				•	•		•	•	
Gomphidae				•	•		•	•	
HETEROPTERA									
Corixidae									
Gerridae				•			•	•	
Hydrometridae									
Mesovellidae							•		
Nepidae				•	•		•		
Notonectidae				•	•		•	•	
Veliidae							•		
COLEOPTERA									
Dryopidae				•	•				
Dytiscidae				•	•		•	•	
Elmidae							•	•	

Tabela C.4 - Continuação

	SILVEIRINHA									SALTO								
	Novembro			Abril			Julho			Abril			Lêntico			Lótico		
	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total	Lêntico	Lótico	Total
Gyrinidae				•		•												
Haliplidae				•		•												
Helodidae	•	•	•	•	•	•	•	•	•									
Helophoridae																		
Hydraenidae		•	•				•	•	•	•	•	•						
Hydrochidae							•	•	•									
Hydrophilidae							•	•	•									
Limnebiidae													•	•				
Coleoptera sp																		
MEGALOPTERA				•		•												
Sialidae																		
TRICHOPTERA																		
Beraeidae																		
Brachycentridae																		
Calamoceratidae																		
Glossosomatidae																		
Helicopsychidae		•	•	•	•	•				•		•						
Hydropsychidae	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•						
Hydroptilidae																		
Lepidostomatidae																		
Leptoceridae																		
Limnephilidae				•		•												
Odontoceridae																		
Philopotamidae																		
Polycentropidae																		
Psychomidae																		
Rhyacophilidae	•		•			•				•		•						
Sericostomatidae					•	•	•	•	•	•	•	•						
Thremmatidae																		
DIPTERA																		
Athericidae	•	•	•	•	•	•												
Ceratopogonidae					•	•	•	•	•	•	•	•						
Chironomidae				•		•				•		•						
Dixidae							•	•	•	•	•	•						
Dolichopodidae							•	•	•									
Empididae																		
Limoniidae																		
Psychodidae																		
Simuliidae		•	•	•	•	•				•	•	•						
Tabanidae							•	•	•									
Tipulidae		•	•	•	•	•												
NEMATHELMINTES																		
HYDRACARINAS																		
PLATHELMINTES																		
Planariidae																		

ANEXO D

Tabela D.1 - Percentagens de contribuição absoluta dos grupos faunísticos nos três primeiros eixos resultantes da análise de correspondências aplicada à matriz de abundâncias (1994-1995).

	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3		Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
Sphaeridae	0,00	0,00	0,00	Limnebiidae	0,00	0,00	0,00
Bythinellidae	0,00	0,00	0,00	Coleoptera sp	0,00	0,00	0,00
Oligoquetas	0,27	0,36	0,02	Sialidae	0,00	0,03	0,00
Erpobdellidae	0,02	0,01	0,00	Beraeidae	0,00	0,00	0,00
Glossiphonidae	0,00	0,00	0,00	Brachycentridae	0,00	0,00	0,00
Hirudidae	0,00	0,00	0,00	Calamoceratidae	0,00	0,00	0,00
Baetidae	0,00	0,00	0,00	Glossosomatidae	0,00	0,00	0,00
Ephemerellidae	0,00	0,00	0,00	Helicopsychidae	0,00	0,00	0,00
Ephemeridae	0,00	0,00	0,01	Hydropsychidae	0,10	0,07	0,02
Heptageniidae	0,00	0,00	0,00	Hydroptilidae	0,00	0,00	0,00
Leptophlebiidae	0,00	0,04	0,02	Lepidostomatidae	0,00	0,00	0,00
Capniidae	0,00	0,01	0,06	Leptoceridae	0,00	0,00	0,01
Leuctridae	0,01	0,14	0,47	Limnephilidae	0,00	0,00	0,01
Nemouridae	0,12	0,02	0,00	Odontoceridae	0,00	0,00	0,00
Aeschnidae	0,00	0,00	0,00	Philopotamidae	0,01	0,00	0,00
Calopterygidae	0,00	0,00	0,01	Polycentropidae	0,00	0,01	0,00
Cordulegasteridae	0,01	0,03	0,04	Psychomidae	0,00	0,00	0,00
Gomphidae	0,00	0,00	0,00	Rhyacophilidae	0,00	0,00	0,00
Corixidae	0,00	0,00	0,00	Sericostomatidae	0,00	0,00	0,00
Gerridae	0,00	0,00	0,00	Thremmatidae	0,00	0,00	0,00
Hydrometridae	0,00	0,00	0,00	Athericidae	0,00	0,00	0,03
Mesovelliidae	0,00	0,00	0,00	Ceratopogonidae	0,00	0,00	0,01
Notonectidae	0,00	0,00	0,00	Chironomidae	0,05	0,16	0,19
Veliidae	0,00	0,00	0,00	Dixidae	0,00	0,00	0,00
Dryopidae	0,00	0,00	0,00	Dolichopodidae	0,00	0,00	0,00
Dytiscidae	0,00	0,01	0,00	Empididae	0,00	0,00	0,00
Elmidae	0,00	0,00	0,00	Limoniidae	0,00	0,00	0,01
Gyrinidae	0,00	0,00	0,01	Psychodidae	0,00	0,00	0,00
Halipidae	0,0						

ANEXO E

Tabela D.2 - Percentagens de contribuição absoluta dos grupos faunísticos nos três primeiros eixos resultantes da análise de correspondências aplicada à matriz de presenças/ausências (1977-78/1994-95).

	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3		Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
Sphaeridae	0,03	0,00	0,00	Helodidae	0,00	0,02	0,05
Oligoquetas	0,01	0,00	0,00	Helophoridae	0,00	0,01	0,04
Erpobdellidae	0,00	0,02	0,02	Hydraenidae	0,02	0,00	0,00
Baetidae	0,02	0,00	0,00	Hydrochidae	0,01	0,01	0,05
Ephemerellidae	0,02	0,00	0,00	Hydrophilidae	0,02	0,01	0,07
Heptageniidae	0,00	0,00	0,01	Sialidae	0,02	0,05	0,03
Leptophlebiidae	0,00	0,00	0,00	Helicopsychidae	0,00	0,02	0,01
Capniidae	0,01	0,01	0,01	Hydropsychidae	0,09	0,00	0,01
Leuctridae	0,01	0,02	0,00	Leptoceridae	0,00	0,01	0,04
Nemouridae	0,00	0,02	0,00	Limnephilidae	0,00	0,11	0,00
Aeschnidae	0,04	0,00	0,02	Philopotamidae	0,01	0,01	0,02
Calopterygidae	0,01	0,00	0,00	Polycentropidae	0,01	0,01	0,00
Coenagrionidae	0,00	0,11	0,00	Psychomidae	0,01	0,01	0,00
Cordulegasteridae	0,00	0,00	0,00	Rhyacophilidae	0,08	0,00	0,02
Gomphidae	0,04	0,01	0,00	Sericostomatidae	0,00	0,11	0,00
Corixidae	0,01	0,00	0,09	Athericidae	0,01	0,00	0,01
Gerridae	0,03	0,04	0,01	Ceratopogonidae	0,03	0,00	0,00
Hydrometridae	0,02	0,01	0,07	Chironomidae	0,03	0,00	0,00
Mesovelliidae	0,00	0,11	0,00	Dolichopodidae	0,00	0,02	0,03
Nepidae	0,09	0,00	0,01	Empididae	0,01	0,00	0,02
Notonectidae	0,06	0,03	0,00	Limoniidae	0,03	0,01	0,00
Veliidae	0,01	0,02	0,04	Simuliidae	0,01	0,01	0,04
Dryopidae	0,00	0,01	0,01	Tabanidae	0,02	0,02	0,01
Dytiscidae	0,00	0,00	0,00	Tipulidae	0,00	0,00	0,00
Elmidae	0,02	0,01	0,02	NEMATHELMINTES	0,06	0,00	0,00
Gyrinidae	0,00	0,11	0,00	HYDRACARINAS	0,01	0,00	0,09
Haliplidae	0,01	0,01	0,06	Planariidae	0,00	0,00	0,06

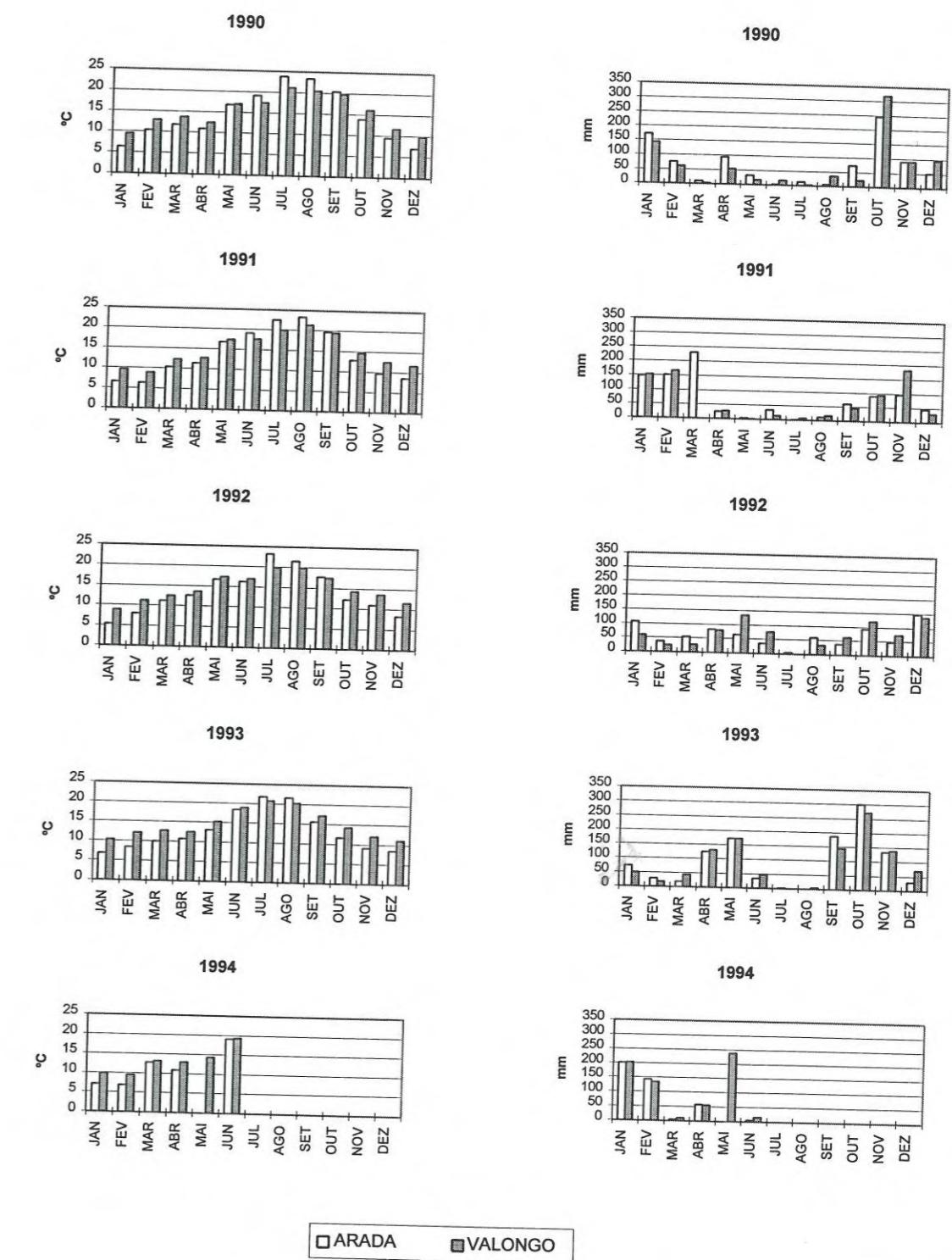


Figura E.1 - Valores médios mensais da temperatura e precipitação nos dois locais estudados durante os últimos 4 anos (valores registados nas Estações Meteorológicas de Viseu e Porto/Pedras Rubras)

ANEXO F

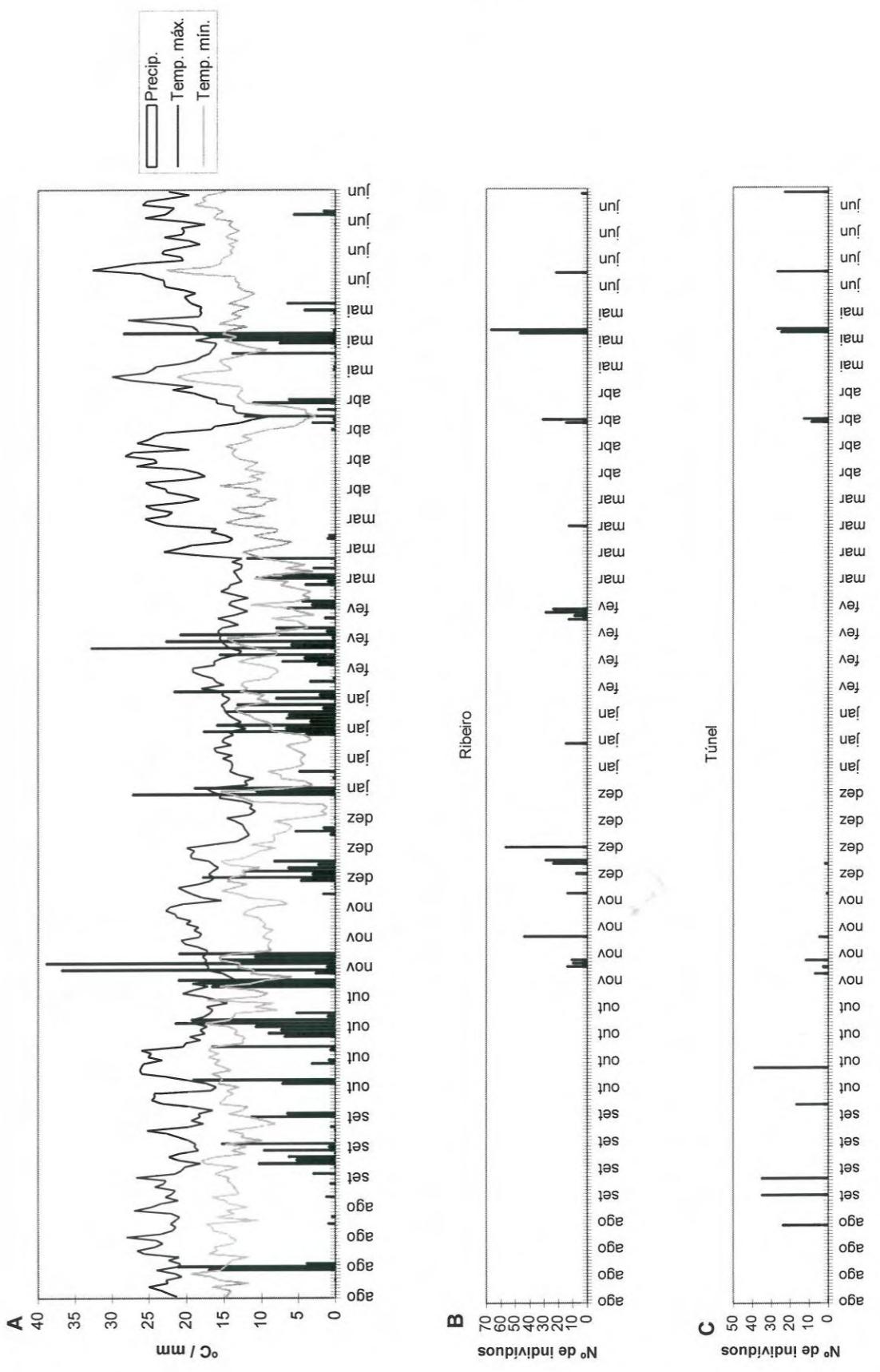


Figura F.1 - A - Valores diários de temperatura máxima, temperatura mínima e precipitação durante o período do estudo; B - Número de indivíduos observados ao longo da Ribeira da Silveirinha; C - Número de indivíduos observados no túnel da Ribeira da Silveirinha.