



Porto, 2005
Faculdade de Ciências
Universidade do Porto

**Estudo sobre a Incidência de Coccidioses em Duas
Populações de Coelho – Bravo (*Oryctolagus cuniculus
algerius*) Sujeitas a Diferentes Condições Climatéricas**



Sofia Alexandra Marques Silva

Relatório de Estágio
Licenciatura em Biologia, Ramo Científico -
Tecnológico: Biologia Animal Aplicada



Porto, 2005
Faculdade de Ciências
Universidade do Porto

**Estudo sobre a Incidência de Coccidioses em Duas
Populações de Coelho-Bravo (*Oryctolagus cuniculus
algius*) Sujeitas a Diferentes Condições Climatéricas**

Sofia Marques Silva	Relatório de Estágio Licenciatura em Biologia, Ramo Científico-Tecnológico: Biologia Animal Aplicada
Prof. Paulo Célio Alves	Supervisão
Apoio	Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (I.R.E.C.), Ciudad Real – Espanha Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (I.C.B.A.S.)

Fotos da capa | Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina (Sofia Silva)
Coelho – bravo (Nuno Negrões)
Parque Natural da Serra da Estrela (Manuel Silva)

Agradecimentos

Prof. Paulo Célio Alves, agradeço ter orientado o meu estágio, por me ter dado a oportunidade de ter crescido como bióloga, trabalhando numa área que gosto bastante e também como pessoa. Obrigada por todas as sugestões, críticas e orientações.

Catarina Ferreira, tenho a agradecer-te tanta coisa... O apoio, a orientação, a casa, a amizade, a confiança, as críticas, por poder sempre contar contigo... Obrigada por me deixares tomar conta da Xara de vez em quando.

Joana Paupério, obrigada por todas as tuas dicas e orientações... Pelo teu livro de estatística... Também pude sempre contar com a tua disponibilidade, colaboração, ajuda e amizade...

Ao Director do PNSACV, agradeço a oportunidade de trabalhar numa Área Protegida tão bonita.

Agradeço também ao ICBAS a cedência das instalações para realização da análise laboratorial.

Prof. Armando Lemos (ICBAS), muito obrigada pelas ideias, indicações, orientações e ajuda.

Rudolfo (ICBAS), obrigada por todo o companheirismo, por toda a conversa e pelo precioso apoio laboratorial.

Nuno Ferreira, obrigada pelo “câmbio” de amostras e outros de dados.

Nuno Negrões, agradeço a ajuda no trabalho de campo, a fotografia do Coelho, a oportunidade de conhecer outros estudos e todas as indicações da voz da experiência...

Ana Magalhães, apesar de sempre teres pensado que eu é que te fazia companhia a ti, espero que tenhas percebido que também me ajudaste.

Sem os Vigilantes do Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina: Casalinho, Fernando e Pedro, este trabalho não teria sido possível. Agradeço-vos o apoio de campo e as boleias.

Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos: Joaquín Vicente, Manolo e Paki, obrigada pela paciência para me ensinarem e me ajudarem. Elo, Elisa, Diego, Ether, Frans, Ursula... A todos muito obrigada pelo calor/hospitalidade com que me acolheram.

Pedro Tarroso, obrigada por teres partilhado os teus conhecimentos de estatística.

Célia Gonçalves e Diana Castro, obrigada pela força, amizade, choro e riso...

Família... Vocês sabem...

Tenho a sensação de que estas linhas não revelam a minha gratidão para com estas pessoas... Mas de facto todas elas de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse possível... Por me terem orientado, ensinado, apoiado, ajudado, apostado e acreditado em mim, pela hospitalidade e/ou simplesmente por estarem presentes – o meu mais profundo e sincero agradecimento... Muito obrigada!

Resumo

As populações de Coelho-bravo na Península Ibérica estão em declínio. Dada a importância da espécie nos ecossistemas Mediterrâneos, têm sido feitos esforços para aumentar a abundância desta espécie em várias Áreas Protegidas Portuguesas. No entanto, são escassos os estudos de cariz sanitário, sobretudo no que diz respeito a Coccidioses. Esta parasitose, associada a outras doenças, debilita a condição física dos animais, tornando-se num factor de degradação da capacidade de resistência, através da perda de peso e da diminuição da conversão alimentar, principalmente quando as cargas parasitárias são excessivas.

Neste trabalho pretendeu-se cumprir os seguintes objectivos: 1) identificar as espécies do género *Eimeria* que parasitam as populações de Coelho-bravo no Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina (PNSACV) e no Parque Natural da Serra da Estrela (PNSE); 2) comparar a variação mensal da carga parasitária nos diferentes núcleos populacionais do PNSACV; 3) comparar a variação mensal da carga parasitária entre o PNSACV e o PNSE, tendo em conta o clima; 4) analisar a relação entre a carga parasitária e a densidade de Coelho-bravo em ambos os Parques Naturais.

A recolha de amostras para o presente estudo realizou-se mensalmente entre Dezembro de 2004 e Maio de 2005. Recolheram-se excrementos dispersos e de latrinas em 4 áreas de estudo no PNSACV (clima Mediterrânico) e noutras 4 no PNSE (clima Meso e Supramediterrânico).

Os oocistos de *Eimeria* foram separados da restante matéria fecal por flutuação em açúcar. Posteriormente foram contados e identificados, em câmara de MacMaster, 3 réplicas, cada uma de aproximadamente 1,00g de fezes, por área de estudo.

Em ambos os Parques Naturais encontraram-se *Eimeria perforans*, *E. media*, *E. coecicola* e *E. flavescens* a parasitar o Coelho-bravo, havendo ainda casos pontuais de *E. irresidua* e de *E. magna* no PNSE.

As cargas parasitárias foram baixas: 48.5 Coccidios / g de excrementos (CGE) foi o valor mais elevado encontrado no PNSACV e 161.7 CGE no PNSE, não havendo risco sanitário, uma vez que este só é evidente em caso de excreção superior a 1000 CGE.

Não foram detectadas diferenças significativas entre áreas (ANOVA, $F= 2.518$, $p=.1258$), nem entre meses (ANOVA, $F=2.187$; $p=0.155$) no PNSACV. No PNSE

também não foram detectadas diferenças significativas no número de CGE mensal (ANOVA, $F=0.737$, $p=0.539$).

As cargas parasitárias detectadas no PNSACV são significativamente menores do que as do PNSE (ANOVA, $F= 11.580$, $p=0.001$), sendo a diversidade de *Eimeria* (calculada através do índice de diversidade de Simpson) também ligeiramente menor. O clima mais quente e seco no PNSACV está na base destes resultados, embora a implementação de medidas de habitat por um período mais longo no PNSACV poderá também ser uma condicionante.

Concluiu-se ainda existir um padrão de variação mensal de *E. perforans*. A frequência desta espécie sofreu um decréscimo entre Dezembro e Janeiro quando a precipitação decresceu. Havendo recuperação de *E. perforans* em Fevereiro e atingindo um pico em Março, associada ao aumento de temperatura. Esta variação aponta para uma maior dependência da resistência dos oocistos de Coccidios em relação à temperatura do que à precipitação.

O teste de correlação de Spearman não detectou ligação entre a densidade de excrementos e a carga parasitária em qualquer um dos Parques Naturais estudados.

Abstract

Wild Rabbit populations are decreasing in Iberian Peninsula. Since this species is very important in the Mediterranean ecosystems, efforts have been made to increase wild Rabbit abundance in many Portuguese Protected Areas. Nevertheless, sanitary studies are scarce, even more when Coccidiosis are concerned. This illness, associated with other diseases, debilitate animals' condition, becoming a degradation factor of the resistance capacity, through weight loss and alimentary conversion decrease, especially when parasitic load are excessive.

This study had as principal objectives: 1) identify *Eimeria* species that are parasiting wild Rabbit populations in Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina (PNSACV) and Parque Natural da Serra da Estrela (PNSE); 2) compare mensal parasitic load variation in the different PNSACV population nucleus; 3) compare mensal parasitic load variation between PNSACV and PNSE, considering climate variances; 4) analyse the relation between parasitic loads and wild Rabbit density in both Natural Parks.

Sampling took place between December 2004 and May 2005. Disperse faeces and from latrines were retrieved from 4 study areas in PNSACV (Mediterranean climate) and other 4 in PNSE (Meso and Supramediterranean climate).

Eimeria oocysts were separated from other faecal material by sugar flotation. Oocysts were counted and identified in MacMaster chamber. Three replicas, 1,00g of faeces each, from each study area were used.

In both Natural Parks were find *Eimeria perforans*, *E. media*, *E. coecicola* and *E. flavescens* parasiting wild Rabbit. Punctual cases of *E. irresidua* and of *E. magna* PNSE were also detected.

Parasitic loads were small: the highest value found to PNSACV was 48.5 Coccidia / g of excrements (CGE) and 161.7 CGE in PNSE, not having sanitary risks whatsoever, since this risk gains importance only when over than 1000 CGE are excreted.

ANOVA test didn't detect significant differences between neither in areas (ANOVA, $F= 2.518$, $p=.1258$) nor in months (ANOVA, $F=2.187$; $p=0.155$) in oocyst loads in the PNSACV. In PNSE also weren't differences between months in CGE (ANOVA, $F=0.737$, $p=0.539$).

Parasitic loads detected in PNSACV were significantly lower than in PNSE (ANOVA, $F= 11.580$, $p=0.001$), *Eimeria* diversity (calculated by Simpson diversity

index) being also smaller. Dry hot climate in PNSACV is the responsible for these results. Nevertheless, implementation of habitat management measures for a longer period in PNSACV could also be identified as conditioning the results.

Was also concluded that exists a monthly variation pattern in *Eimeria perforans* behaviour. This specie's frequency decreased between December and January when precipitation was low. *E. perforans* recovered in February, peaking in March, associated with temperature rising. This variation points out to a major temperature dependency of oocysts resistance in relation to precipitation.

Spearman's correlation test found no connection between excrements density and parasitic load neither in PNSACV nor in PNSE.

Índice

1. Introdução	pág.1
1.1. O Coelho-bravo	pág.1
1.2. Gestão de habitat	pág.3
1.3. Influências entre parasitas e hospedeiros	pág.5
1.4. As Coccidioses	pág.6
2. Enquadramento do Trabalho e Objectivos	pág.10
2.1. Enquadramento do Trabalho	pág.10
2.2. Objectivos	pág.11
3. Caracterização das Áreas de Estudo	pág.12
3.1. Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina	pág.12
3.1.1. Área Intervencionada	pág.14
3.1.2. Áreas Não Intervencionadas	pág.15
3.2. Parque Natural da Serra da Estrela	pág.16
3.2.1. Zona de Caça Associativa de Manteigas	pág.16
4. Metodologia	pág.19
4.1. Recolha de material biológico	pág.19
4.2. Análise laboratorial	pág.20
4.3. Tratamento de dados	pág.21
5. Resultados	pág.23
5.1. Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina	pág.23
5.2. Parque Natural da Serra da Estrela	pág.26
5.3. Comparação entre os Parques Naturais	pág.28
6. Discussão	pág.29
7. Considerações Finais	pág.33
8. Referências Bibliográficas	pág.34
8.1. Referências electrónicas	pág.40
Anexos	pág.41

1. Introdução

1.1. O Coelho-bravo

O Coelho-bravo (*Oryctolagus cuniculus*) existente em Portugal pertence à subespécie *algerius* e inclui-se na Família LEPORIDAE e Ordem Lagomorpha.

Nos ecossistemas Mediterrânicos Ibéricos, o Coelho-bravo é uma das presas mais características. Funciona como suporte e elo de ligação alimentar entre várias espécies, pois faz parte da dieta de 19 espécies de aves de rapina e de 10 espécies de mamíferos carnívoros na Península Ibérica (Delibes & Hiraldo, 1979) e favorece a dispersão de sementes de diversas plantas (Reinoso, 1993). O Coelho-bravo possui também elevada representatividade no âmbito da exploração cinegética, numa vertente social e gerando receitas económicas consideráveis.

É uma espécie cosmopolita, no entanto os seus habitats preferenciais são as zonas de matos associadas a clareiras, sendo que as primeiras proporcionam abrigo, refúgio e algum alimento, que é completado pelas segundas (Gonçalves, 1996; Boavida, 1997).

O Coelho-bravo organiza-se em grupos sociais de 2 a 10 indivíduos (Richardson *et al.*, 2002) existindo várias fêmeas por cada macho (Villafuerte & Gimenez, 1991). Quando as densidades são baixas podem encontrar-se 2 a 3 animais isolados ou mesmo solitários (Gibb, 1990).

Nesta espécie existe uma hierarquia linear, quer entre machos quer entre fêmeas. Estes animais são extremamente territoriais (Chapman & Flux, 1990) sendo o olfacto



Figura 1: Latrina de Coelho-bravo.

importante para reconhecimento da colónia. A marcação territorial é feita em latrinas (Sneddon, 1991) (Figura 1) bem como através da urina (Bell, 1979). O Coelho-bravo possui uma glândula anal que emite secreções. Esta glândula é mais desenvolvida nos machos do que nas fêmeas e aumenta com a idade e com a actividade sexual. Deste modo compreende-se que sejam os

machos dominantes os principais marcadores do território, fazendo mais visitas às latrinas do que as fêmeas ou do que os juvenis (Sneddon, 1991).

A cecotrofia ou coprogagia é um processo fisiológico típico dos Leporídeos, que corresponde à ingestão das próprias fezes. Segundo Hirakawa (2001), a produção de cecotrofos ou fezes moles resulta da fermentação dos alimentos no ceco. Este tipo de fezes é rico em nutrientes (vitaminas e proteínas). Os cecotrofos são ingeridos directamente do ânus, podendo as fezes duras serem, por vezes, ingeridas também.

A espécie é prolífica (Gibb, 1990). Apesar da sobrevivência ao 1º ano de vida ser muito baixa, as populações conseguem aumentar consideravelmente o seu efectivo em períodos menores do que um ano (Villafuerte & Gimenez, 1991). A esperança média de vida do Coelho-bravo é menor do que 2.5 anos, sendo a longevidade máxima de 6 a 8 anos (Gibb, 1990; von Holst *et al.*, 1999).

Em Portugal, o Coelho-bravo reproduz-se entre os meses de Novembro e Junho, com uma actividade máxima em Março/Abril (Gonçalves *et al.*, 2002). Em Espanha o período de menor/cessação da actividade reprodutiva corresponde também ao Verão, mas a reprodução pode ocorrer entre Setembro/Outubro a Abril (Calvete e Estrada, 2000).

O período de gestação é de aproximadamente 31 dias (von Holst, *et al.*, 1999). As ninhadas podem ser de 1 a 9 indivíduos (Gibb, 1990; von Holst, *et al.*, 1999). No entanto, em Portugal, cada fêmea tem em média 3,9 crias (Gonçalves *et al.*, 2002). Os láparos nascem desprovidos de pêlo e com os olhos fechados, carecendo de cuidados maternos até às 2 ou 3 semanas de vida (Chapman & Flux, 1990).

Durante a transição Inverno/Primavera e nos meses estivais (em que há um maior número de indivíduos, muitos dos quais jovens) é comum ocorrerem, respectivamente picos de Doença Hemorrágica Viral (DHV) e Mixomatose (RIPAC, 2004 e Calvete & Estrada, 2000). Na fase pós-pico reprodutor, a densidade de animais é mais elevada, pelo que a propagação de ambas as doenças se dá mais facilmente (Marchandeu *et al.*, 1999; Calvete & Estrada, 2000), uma vez que estão favorecidos a transmissão via insectos (Mixomatose) e o contacto directo e/ou indirecto entre os indivíduos (DHV) (Belz, 2004).

Neste período mais crítico, os gastos energéticos da reprodução e a debilidade devida à forte incidência das doenças tornam os animais mais susceptíveis de serem predados, como evidenciam alguns estudos sobre Lebre (*Lepus americanus*) (Murray *et al.*, 1997, Murray, 2002).

A falta de nutrientes pode aumentar o risco de predação, pois obriga as presas a uma maior exposição ao perigo devido a um tempo de procura de alimento mais longo e a debilidade nutricional (Gibb, 1981; Murray *et al.*, 1997; Murray, 2002). A escassez de alimento interage assim de uma forma directa com a intensidade de predação, pela fragilidade física a que sujeita os indivíduos, e de uma forma indirecta pelo tempo dispendido na procura de comida (Murray, 2002).

É ainda de referir que a disponibilidade de alimento, a precipitação e temperatura anuais condicionam o início e duração do período reprodutor (Gonçalves *et al.*, 2002; Calvete & Estrada, 2000; Gibb, 1990). Qualquer alteração do meio que retarde ou adiante a fase de reprodução, isto é, o aumento da densidade populacional, fará retardar ou adiantar no tempo o pico das doenças virais (Calvete & Estrada, 2000).

Denota-se portanto uma estreita ligação entre factores bióticos (predadores, vírus, alimento e as características intrínsecas à biologia da própria espécie) e abióticos (clima e latitude), na dinâmica das populações de Coelho-bravo.

1.2. Gestão de habitat

A gestão de habitat, tem como objectivo melhorar as condições do meio para uma ou mais espécies que dele dependam. Através de diferentes mecanismos, procura-se aumentar a capacidade de carga do habitat, permitindo a manutenção sustentável da(s) espécie(s) em causa.

O primeiro passo para a aplicação, de forma eficaz, de medidas de manejo de habitat é o estudo prévio da população que se quer recuperar. É importante saber *a priori* quais os factores que estão a afectar a espécie e qual a verdadeira dimensão do problema, numérica e espacialmente (Villafuerte & Gimenez, 1991). O trabalho de Huxel & Hastings (1999) acrescenta, ainda, que são obtidos melhores resultados quando a recuperação do habitat é feita em parcelas adjacentes aos locais que se mantêm ocupados pela espécie e, portanto, escolhidas não ao acaso.

No caso concreto do Coelho-bravo em Portugal, a necessidade de medidas de gestão do meio prende-se com vários factores causadores do crescente declínio da espécie, que actuam geralmente em conjunto. Os agentes principais apontados para a diminuição do Coelho-bravo são o desajuste dos planos de exploração cinegética, as doenças viricas (Mixomatose e Doença Hemorrágica Viral), a excessiva predação, a intensificação da agricultura e dos povoamentos monoespecíficos e outros usos inadequados dos solos que fragmentam o habitat favorável à ocorrência da espécie.

Deste modo, em Portugal, têm sido implementadas medidas importantes de gestão de habitat. Por exemplo, a nível das práticas agrícolas, os Planos de Desenvolvimento Rural de Portugal Continental têm promovido diversas acções de aplicação favorável à biodiversidade, nomeadamente a substituição da mono pela policultura (PDRPC, 2002). Este mosaico de diversidade florística beneficia a fauna, quer pela quantidade de alimento que proporciona, quer pela manutenção da estrutura e fertilidade dos solos. O PDRPC (2002) indica ainda que não se devem ceifar faixas de até 8 metros e 3% da área total da parcela cultivada. Estes espaços não cultivados são propícios ao aparecimento de flora espontânea o que aumenta a biodiversidade e a disponibilidade de alimento.

Fora do âmbito do PDRPC também têm sido desenvolvidas outras actividades de gestão de habitat no que diz respeito à disponibilidade de alimento. Em Portugal obtiveram-se resultados positivos no aumento das populações de Coelho-bravo após a abertura de aceiros (Ferreira, 2001, 2003) e da criação de searas e pastagens (Ceia *et al.*, 2001; Ferreira, 2001, 2003).

Também a construção de maroços tem sido aplicada como medida de manejo do habitat de Coelho-bravo, havendo mostras do crescimento das populações referidas, pelo aumento de abrigo que proporciona (Guimarães, 1994; Gonçalves, 1996; Ceia *et al.*, 2001; Ferreira, 2001, 2003).

1.3. Influências entre parasitas e hospedeiros

A relação entre parasitas e hospedeiros é constituída por múltiplas interacções, com a intervenção de diversos factores e com repercussão em várias características de ambos.

Certos autores apontam o parasitismo subletal como factor de degradação do estado nutricional dos hospedeiros (Murray *et al.* 1997; Murray, 2002) ou como factor de diminuição do seu peso corporal (Keith *et al.*, 1985). Tais consequências poderão ser responsáveis por uma menor sobrevivência dos animais, afectando diferenciadamente machos e fêmeas (Fuller & Blaustein, 1996; Murray, 2002). Sendo assim compreende-se que a sobrevivência dos hospedeiros poderá ser favorecida pela suplementação alimentar e pelo tratamento anti-parasitário, havendo evidências de um efeito sinérgico entre ambos (Murray *et al.*, 1997). A título ilustrativo, o estudo de von Holst *et al.* (1999) aponta a incidência de Coccidioses como o principal factor condicionador da sobrevivência de uma população de Coelho-bravo.

Cargas parasitárias mais abundantes podem também ter repercussões a nível reprodutor, afectando o número e desenvolvimento de crias, o tempo dispendido nos cuidados parentais, as taxas de gravidez, a data de concepção e o número de corpos luteos produzidos (Keith *et al.*, 1985; Moller, 1993). Por outro lado, em alguns casos, a reprodução parece desviar recursos energéticos, pondo em risco a capacidade de resposta imunitária e provocando a diminuição de peso, sobretudo em fêmeas lactantes (Festa-Bianchet, 1989; Fuller & Blaustein, 1996).

Há evidências de que os parasitas podem ser responsáveis pelos ciclos de variação da densidade dos hospedeiros, sobretudo de forma indirecta pelo favorecimento da predação e/ou pela redução do sucesso reprodutivo do hospedeiro (Dobson, 1992a, 1992b; Hudson, *et al.*, 1992).

Para além disso, uma maior densidade de hospedeiros parece levar a maior abundância de parasitas, podendo esta relação ser dependente da massa corporal do hospedeiro (Arneberg, 2002), variar consoante a espécie de parasita e a faixa etária do hospedeiro (Keith *et al.*, 1985) ou ser distinta quanto ao sexo do hospedeiro (Bertolino *et al.*, 2003).

1.4. As Coccidioses

Os protozoários pertencentes ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoea, Subclasse Coccidia e sobretudo à Família EIMERIDAE e ao Género *Eimeria*, são os principais responsáveis pelas Coccidioses em Coelho. Até recentemente, e após alguma confusão taxonómica, aceitava-se como 11 o número de espécies deste género a parasitar o coelho (Figura 2). Porém em 2002 foi descoberta uma outra espécie em França (Grès *et al.*, 2002), o que perfaz um total de 12 espécies de parasitas potenciais deste hospedeiro.

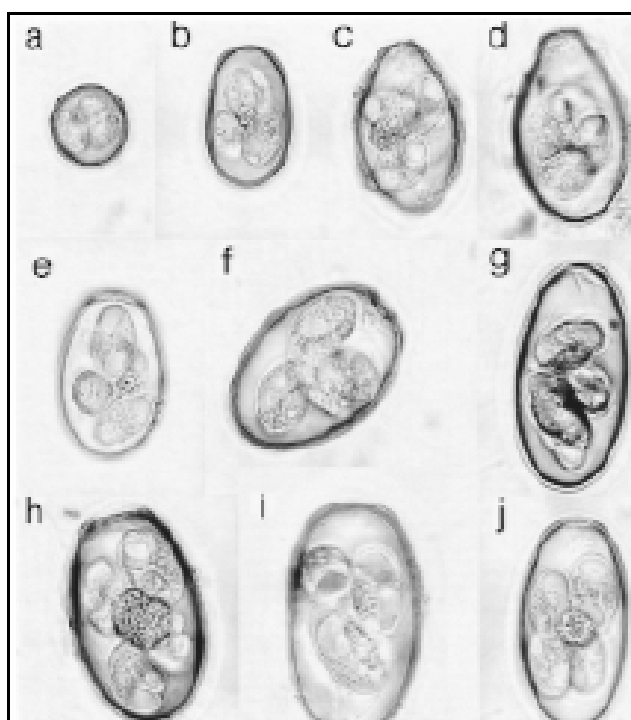


Figura 2 Oocistos esporulados das diferentes espécies de *Eimeria* que parasitam o Coelho-bravo; a) *E. exigua*, b) *E. perforans*, c) *E. intestinalis*, d) *E. piriformis*, e) *E. media*, f) *E. flavescens*, g) *E. stiedai*, h) *E. magna*, i) *E. irresidua*, j) *E. coecicola* (Hobbs & Twigg, 1998).

Os Coccidios do género *Eimeria* são parasitas obrigatórios, intracelulares, de ciclo de vida monoxeno e com elevada especificidade para o hospedeiro. Após uma fase de vida no interior de uma célula epitelial, os oocistos são libertados para o exterior juntamente com as fezes. Durante este período dá-se a esporulação, levando à formação das unidades infectantes, os esporozoítos, que permanecem dentro dos oocistos até serem ingeridos pelo hospedeiro e se poderem libertar no seu aparelho digestivo (Figura 3).

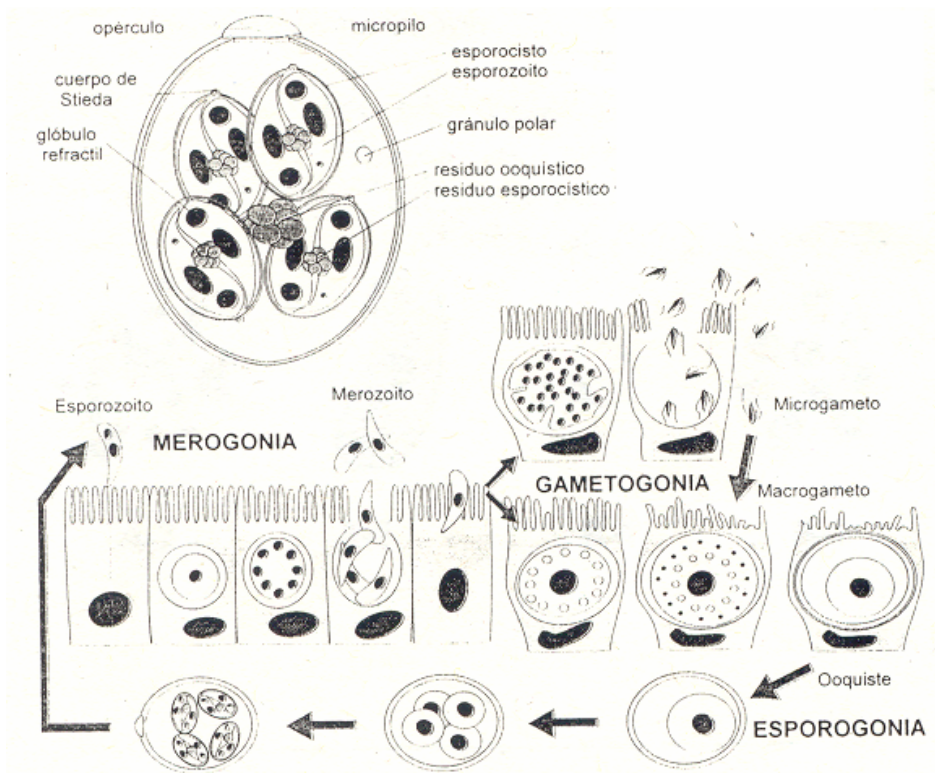


Figura 3 Esquema ilustrativo de um oocisto esporulado e ciclo de vida da família EIMERIDAE (in López – Cózar, *et al.*, s/ data, adaptado).

O oocisto contém uma membrana que o rodeia. Quando esporulado apresenta 4 esporocistos, cada um com 2 esporozoitos e, em certos casos, com corpo residual do esporocisto. Consoante a espécie, pode apresentar a forma ovóide, elipsóide ou piriforme, possuir micrópilo e resíduo do oocisto.

A maioria das espécies de Coccidios afecta as células do tracto intestinal, à excepção de *E. stiedai* que se aloja nas células hepáticas.

As cargas parasitárias mais elevadas surgem sobretudo em coelhos em cativeiro devido, principalmente, a más condições de higiene. Em granjas é necessário um especial cuidado com as jaulas onde se encontram as crias. Apesar de estas serem naturalmente resistentes à Coccidiose até cerca dos 20 dias de idade, a partir daí as crias são mais susceptíveis à doença, devido aos locais onde se encontram, pois aí a humidade e a temperatura são adequadas à proliferação de esporocistos (Gómez-Bautista, 1999 e Coudert *et al.*, 1991 in Gutiérrez, 2003). As Coccidioses têm maior

incidência na estação do ano mais quente e húmida (Bao *et al.*, 2004). De um modo geral todos os coelhos se tornam portadores destes parasitas (Licois, 2004).

Em cativeiro, a limpeza frequente das jaulas de criação é um dos meios de profilaxia mais eficazes. Outro método também usado com alguma frequência é o fornecimento de certos químicos na água ou na ração.

Facilmente se compreende que nenhum destes mecanismos profiláticos poderá ser usado em meio selvagem. A limpeza das tocas é inviável e, no caso do uso de fármacos, é bastante difícil garantir que cada animal ingira a dose adequada de medicamento sem que não se tenha que o sujeitar a um elevado estado de stress, podendo esta acção ser até contraproducente, uma vez que irá debilitar a capacidade de resposta imunitária do animal. Além disso, segundo Licois (2004), a quimioprofilaxia, para além de outras desvantagens, é dispendiosa, pois cada animal tem de receber um suplemento alimentar com o anti-coccidio, e poderá levar à aquisição de resistência ao fármaco – o que se tem verificado com robenidina, por exemplo.

A alternativa é a vacinação, porém esta opção ainda não está suficientemente desenvolvida no que diz respeito ao coelho. À semelhança do que se verificou no estudo de galinhas (Yuna *et al.*, 2000), conseguiram-se já alguns progressos a partir da inoculação, em coelhos, de oocistos ou de linhagens precoces modificadas, de modo a diminuir a sua virulência e a permanecerem imunogénicas (Licois, 2004). No entanto, no que se refere à vacinação, é necessário continuar os estudos dada a complexidade desta temática. As espécies de *Eimeria* não conferem imunidade cruzada, ou seja, um animal contaminado com uma certa espécie do género adquire imunidade apenas para essa mesma espécie, o que torna necessário o estudo de cada uma individualmente (Licois, 2004). Por outro lado, existe variabilidade genética dos hospedeiros na sensibilidade aos oocistos das diferentes espécies de *Eimeria* (Rochambeau *et al.*, 2003).

As Coccidioses, num ambiente selvagem apresentam, geralmente, um menor impacto em termos de mortalidade do hospedeiro, quer em relação ao cativeiro quer em relação às doenças de etiologia virica. No entanto, um estudo realizado na região Oeste de França, onde se recolheram e analisaram os animais encontrados mortos, revelou uma incidência de 69,5% de casos de Coccidiose, 28,4% considerada forte (Marchandeu *et al.*, 1999). Este segundo valor, relativo a um grau de parasitose

passível de causar mortalidade, foi ultrapassado pelo número de coelhos com Mixomatose (48,9%), mas revelou-se superior aos casos de Doença Hemorrágica Viral registados (17%) (Marchandeu *et al.*, 1999).

Em Portugal, um trabalho semelhante, levado a cabo em zonas de caça principalmente do Algarve (incluindo parte da área do Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina - PNSACV), determinou que em 29% dos coelhos obtidos a causa de morte foi a DHV, em 16% a Mixomatose e em apenas 5% a Coccidiose. Contudo, dos animais que morreram devido a outras causas que não as doenças, grande percentagem possuía Mixomatose e Coccidiose e, com menor expressão, DHV (42%, 39% e 13%, respectivamente) (RIPAC, 2004).

Para além da acção que podemos denominar como directa, as Coccidioses, quer intestinal quer hepática podem tornar-se mais significativas quando o animal está sujeito a outros organismos patogénicos, sejam vírus das doenças mencionadas (Marchandeu *et al.*, 1999) sejam lesões como a enterocolite epizootica do coelho (Coudert *et al.*, 2000). Estas doenças e as interacções que se estabelecem entre elas podem influenciar a condição física dos animais, tornando-se factores que debilitam a capacidade de resistência das populações de Coelho-bravo, por poderem provocar perda de peso e diminuição da conversão alimentar, quando as cargas parasitárias são excessivas (Licois, 2004).

2. Enquadramento do Trabalho e Objectivos

2.1. Enquadramento do trabalho

Actualmente o Coelho-bravo em Portugal, como já foi referido, está perante uma situação bastante alarmante porque as suas populações se encontram em declínio, devido a caça e a predação excessivas, a doenças viricas e a deterioração do habitat. Para fazer face a essa diminuição, o Instituto de Conservação da Natureza (ICN) tem levado a cabo vários projectos com o objectivo de recuperar e fomentar as populações de Coelho-bravo em várias Áreas Protegidas, entre as quais o PNSACV e o Parque Natural da Serra da Estrela (PNSE).

Em trabalhos realizados no PNSACV, verificou-se o incremento da abundância das populações de Coelho-bravo como resposta à construção de marços e à instalação de pastagens (Ferreira, 2001, 2003), sendo que medidas de gestão de habitat semelhantes foram implementadas mais recentemente no PNSE (Gomes, 2004) e estão a ser alvo de monitorização.

Por outro lado, alguns estudos demonstram que a disponibilidade de alimento favorece a condição corporal (Hodges *et al.*, 1999; Murray, 2002) e, por sua vez, a melhoria da condição corporal dos indivíduos parece favorecer a capacidade de resposta imunitária face às doenças (Moller *et al.*, 2003).

Deste modo pretendeu-se fazer o rastreio de Coccidioses, dado ainda que a informação existente, em Portugal, é escassa sobre esta matéria e porque a sobrecarga parasitária pode ser responsável pela mudança de comportamento dos animais parasitados, favorecendo a sua predação (Hudson *et al.*, 1992). Esta sobrecarga poderá também afectar a capacidade de sobrevivência e o sucesso reprodutivo de uma espécie (Dobson, 1992a e 1992b; Fuller & Blaustein, 1996), tendo maior relevância quando a densidade dessa mesma espécie é baixa. Este é o caso do Coelho-bravo nos Parques Naturais mencionados.

Assim, considerou-se ser importante iniciar a monitorização do estado sanitário das populações de Coelho-bravo no PNSE e no PNSACV, em particular no que diz respeito à incidência de Coccidioses, focando possíveis diferenças resultantes das distintas condições climatéricas a que ambas as Áreas Protegidas estão sujeitas.

Inicialmente pensou-se também estender o rastreio de Coccidioses à Lebre-Ibérica (*Lepus granatensis*), uma vez que esta espécie está presente em algumas áreas de estudo e a metodologia a aplicar seria em tudo semelhante ao caso do Coelho-bravo. No entanto, os resultados desta análise (Anexo I) são apenas preliminares dada a escassez de amostragem que posteriormente se conseguiu concretizar.

2.2. Objectivos

Os objectivos principais deste trabalho foram os seguintes:

1. Identificar as espécies do género *Eimeria* que parasitam as populações de Coelho-bravo no PNSACV e no PNSE;
2. Comparar a variação mensal da carga parasitária nos diferentes núcleos populacionais do PNSACV;
3. Comparar a variação mensal da carga parasitária entre o PNSACV e o PNSE, tendo em conta o clima;
4. Analisar a relação entre a carga parasitária e a densidade de Coelho-bravo em ambos os Parques Naturais.

3. Caracterização das Áreas de Estudo

3.1. Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina

Em 1988 foi criada a Paisagem Protegida do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina, pelo DL n.º 241/88 de 7 de Julho (Vieira, 1989) e em 1995 esta Área Protegida foi reclassificada para Parque Natural, segundo o DR n.º 26/95 de 21 de Setembro. O PNSACV possui 77 mil hectares desde Porto Covo a Burgau e abrange os concelhos de Sines, Odemira, Aljezur e Vila do Bispo.

O PNSACV tem um clima Mediterrânico (Figura 4), fortemente influenciado pela proximidade do mar (Vieira, 1989) e pelo vento, havendo zonas moderadamente chuvosas e outras semi-áridas, embora toda a região seja regularmente afectada com grande severidade por períodos de seca (PBHRA, 2000).

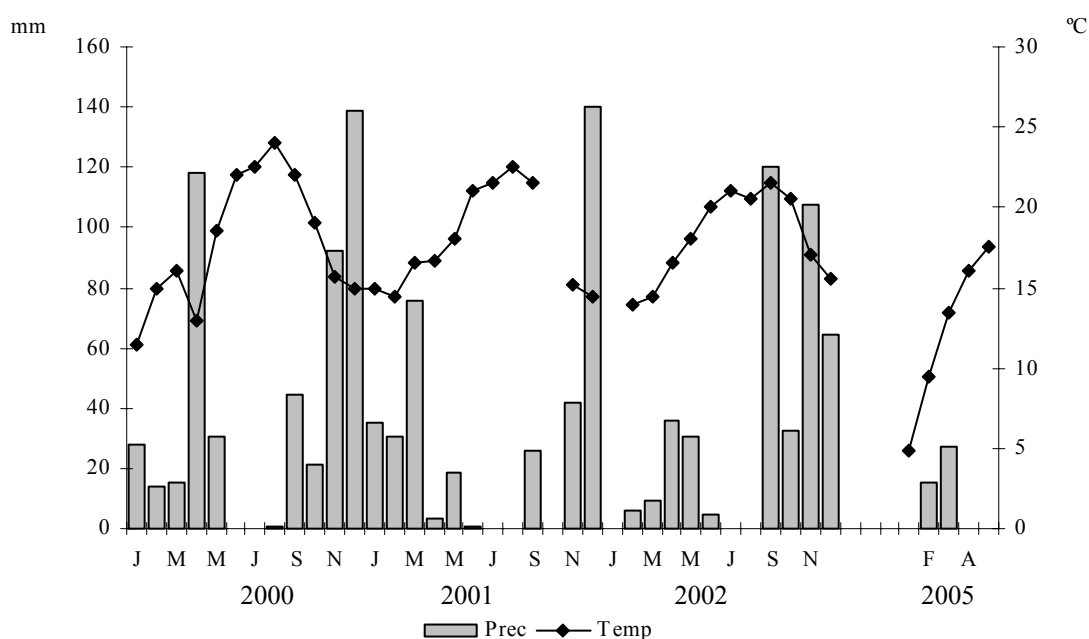


Figura 4: Variação da temperatura média mensal (°C) e da precipitação média mensal (mm) entre 2000 e 2002 (dados da estação meteorológica de Sagres).

Esta Área Protegida, fitogeograficamente, pertence à Região Mediterrânea, Superprovíncia Mediterrâneo-Iberotlântica, às províncias Luso-Extremadurenses e Gaditano-Onubo-Algarviense e aos Sectores Mariánico-Monchiquense, Tagano-Sadense e Algarviense (Rivas-Martínez, 1979). Segundo Botelho (1984), abrange diversas Alianças: OLEO CERATONION-QUERCION SUBERIS, OLEO

CERATONION–COREMION, QUERCION ILICIS–QUERCION FAGINEAE e Vieira (1989) acrescenta QUERCION FAGINEAE-SUBERIS.

A vegetação climatófila potencial é o sobreiral (*Myrto – Quercetum suberis*), com etapas de transição onde predominam o Carrasco (*Quercus coccifera* L.) e o Zambujeiro (*Olea europaea* L. var. *sylvestris* (Mill.) Lher) (Vieira, 1989). Nas zonas mais húmidas podem surgir Carvalho–Português (*Quercus faginea* Lam.) associados a Faia (*Myrica faya* Aiton.) e a Loureiro (*Laurus nobilis* L.).

O PNSACV possui diversos endemismos ibéricos, *Avenula hackelii*, *Centaurea vicentina*, *Herniaria algarvica*, *Plantago almogravensis*, só para citar alguns exemplos a nível florístico, e o Rato cabrera (*Microtus cabrerae*), o Tritão–de–ventre–laranja (*Triturus boscai*), a Cobra–de–pernas–pentadáctilas (*Chalcides bedriagai*) e a Boga Portuguesa (*Chondrostoma lusitanicum*) – endemismo português com estatuto “raro”, no que diz respeito à fauna.

A Avifauna é também bastante relevante. Até recentemente o PNSACV abrigava o único local de nidificação no Litoral Continental Sul Europeu de Águia–pesqueira (*Padion haliaetus*); a Águia de Bonelli (*Hieraaetus fasciatus*), o Peneireiro–das–torres (*Falco naumanni*), o Falcão peregrino (*Falco peregrinus*) e a Cegonha–branca (*Ciconia ciconia*) nidificam em falésias no litoral da Área Protegida; a Gralha–de–bico–vermelho (*Pyrrhocorax pyrrhocorax*) e a Gralha–de–nuca–cinzenta (*Corvus monedula*) também aqui se encontram.

Espécies de mamíferos carnívoros com estatuto de conservação como a Lontra (*Lutra lutra*) e o Gato-bravo (*Felis silvestris*) e outras espécies, como por exemplo, a Geneta (*Genetta genetta*), a Raposa, o Saca-rabos (*Herpestes ichneumon*) e a Fuinha (*Martes foina*) ocorrem igualmente por todo o Parque Natural.

É ainda de referir a existência de diversas espécies de caça como o Coelho–bravo, a Lebre–Ibérica, a Perdiz vermelha (*Alectoris rufa*) e Javali (*Sus scrofa*).

As áreas de estudo no PNSACV situam-se na costa Oeste do Algarve, entre Aljezur e Vila do Bispo (Figura 5).

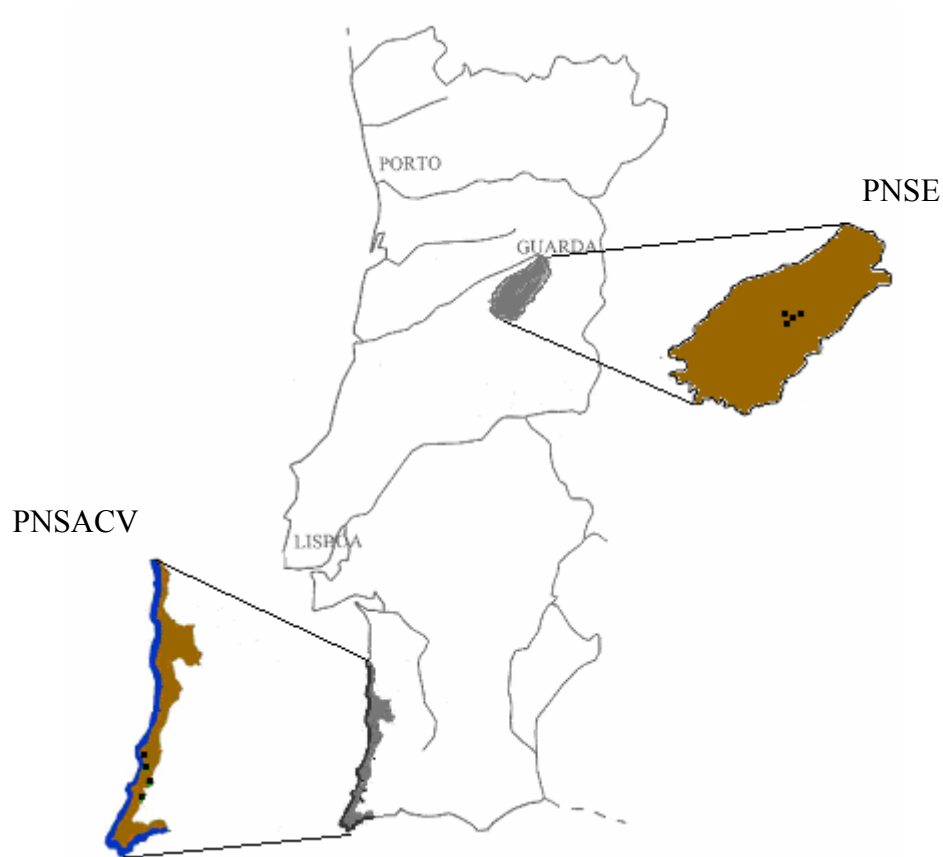


Figura 5: Localização do PNSACV e do PNSE e das respectivas áreas de estudo.

3.1.1. Áreas Intervencionadas

Canal

A área de estudo do Canal situa-se a cerca de 2 km da vila de Aljezur.

Nesta área foram criadas, em 2000, pastagens e maroços (Ferreira, 2001), tendo-se mantido este tipo de gestão até 2003. Desde 2000 que esta área é alvo de monitorização da abundância de Coelho-bravo.

A vegetação nesta área caracteriza-se pela presença de algumas azinheiras (*Quercus rotundifolia*) e sobreiros (*Quercus suber*) e pela existência de pinhal (*Pinus* sp.).

A vegetação arbustiva é formada por esteva (*Cistus ladanifer*), rosmaninho (*Lavandula luisierii*), tomilho (*Thymus camphoratus*), urze (*Erica* spp.), medronheiro (*Arbustus unedo*), queiró (*Calluna vulgaris*) e panasco (*Rhamnus alaternus*).

Nesta área podem-se encontrar alguns dos predadores de Coelho-bravo como Raposa, Javali, Fuinha e Saca-rabos.

Vilarinha

Esta zona situa-se a Ocidente da vila de Carrapateira, na Serra de Espinhaço de Cão, tendo um declive acentuado.

Desde 2001 que na área da Vilarinha se tem monitorizado a abundância de Coelho-bravo. Nesse ano foram abertos aceiros, e desde então estes têm sido mantidos meramente como prevenção de incêndios (Ferreira, 2001, 2003).

A vegetação predominante é o esteval, com ocorrência ocasional de sobreiros, azinheira e eucalipto. A vegetação arbustiva é constituída por medronheiro, aroeira, rosmaninho e tomilho, entre outras espécies.

Esta área possui uma lagoa temporária e é pastoreada por gado caprino e bovino.

Nesta área foi já registada a presença de Raposa e Saca-rabos.

Bordeira

A área da Bordeira situa-se a Norte da vila de Carrapateira, a cerca de 3 km desta.

Para a monitorização das populações de Coelho-bravo nesta área, entre 2004 e 2005, somente foi montado um transecto. Nesta área de estudo, em 2001, abriram-se aceiros e, em 2002, plantou-se aveia (*Avena barbata*) e centeio (*Secale cereale*) e construíram-se tocas artificiais (Ferreira, 2003).

A sua vegetação é também marcada pela presença de esteva, embora possua ainda algumas manchas de sobreiral e de azinheiral. O coberto arbustivo é muito semelhante ao da área de estudo da Vilarinha, com a mesma constituição específica.

Pratica-se nesta área de estudo alguma criação de bovinos.

Nesta área existem indícios de presença de Javali, Saca-rabos e Raposa.

3.1.2. Área Não Intervencionada

Cadaveiro

A área de estudo do Cadaveiro situa-se a 7 km para sudoeste da vila de Aljezur.

Os transectos são alvo de estudos de abundância de Coelho-bravo desde 2000 (Ferreira, 2001, 2003).

Azinheiras, sobreiros, eucaliptos (*Eucalyptus globulus*) e pinheiros marcam a vegetação da área. Esta possui um coberto arbustivo diversificado, constituído por esteva (*Cistus salvifolius*), aroeira (*Pistacia lentiscus*), carrasco, rosmaninho, urze, queiró, medronheiro, panasco e tomilho.

A presença de Javali, Fuinha, Raposa e Saca-rabos foi já confirmada nesta área.

3.2. Parque Natural da Serra da Estrela

O DL n.º 557/76 de 16 de Julho permitiu a criação do primeiro Parque Natural Português baseado nas normas dos Parques Europeus, o PNSE.

O Parque Natural abrange cerca de 101 mil hectares que englobam os municípios de Seia, Gouveia, Celorico da Beira, Guarda, Manteigas e Covilhã e inclui o ponto mais alto de Portugal Continental (1993 m). A Serra da Estrela constitui a parte ocidental da Cordilheira Central a par com as Serras do Açor e da Lousã.

No território do PNSE existem endemismos ibéricos e da própria Serra, quer faunísticos quer florísticos, de diversos taxa. São também de referir que ocorrem na Área Protegida várias espécies com importante estatuto de conservação como a Salamandra-Portuguesa (*Chioglossa lusitanica*), Lagartixa-de-montanha (*Lacerta monticola*), o Melro-das-rochas (*Monticola saxatilis*), a Cegonha-negra (*Cicconia nigra*), a Águia de Bonelli, o Rato-dos-pomares (*Eliomys quercinus quercinus*) e a Lontra, entre outros.

A importância faunística do Parque revela-se também pela presença de 75% dos morcegos de Portugal Continental, 7 espécies de roedores, 100 espécies de aves nidificam na AP, 8 das 10 espécies de serpentes de Portugal Continental podem ser aqui encontradas, bem como 12 espécies de anfíbios e diversos artrópodes (Jansen, 2002).

No PNSE existem igualmente espécies cinegéticas como por exemplo a Raposa, a Perdiz-vermelha, Lebre-Ibérica e o Coelho-bravo.

3.2.1. Zona de Caça Associativa (ZCA) de Manteigas

Fitogeograficamente, a ZCA, assim como grande parte do PNSE, inclui-se no sector característico da Serra da Estrela, o sector Estrelense. A ZCA pertence ainda à

subprovincia Carpetano-Ibero-Leonesa, Província Iberoatlântica, Região Mediterrânica.

Todas as áreas de estudo desta AP situam-se na Zona de Caça Associativa de Manteigas a nordeste da vila, sendo elas: Corredor de Mouros, Casal Maria Viegas, Castanheira e Cruz das Jogadas. Estas áreas correspondem aos 4 núcleos de Coelho-bravo desta ZC definidos por Gomes (2004).

Pela sua proximidade e ocorrência de vários incêndios na ZCA, a vegetação é semelhante em todas as áreas de estudo. A paisagem é caracterizada pelo urzal (*Erica australis*), pelo giestal (*Cytisus multiflorus*), pelo piornal (*Genista florida polygaliphylla*) ou pelo cardoneiral (*Echinospartum*), pelos prados pioneiros e semi-naturais, ricos em plantas infestantes, devido principalmente ao cultivo de centeio (PDRPC, 2002). Há ainda alguma presença de florestas de pinheiro.

As actividades agrícola e silvo-pastoril (bovino e caprino) são realizadas em toda a ZCA.

A ZCA pertence aos pisos climáticos Mesomediterrânico e Supramediterrânico, com períodos de grande pluviosidade, sobretudo no Inverno e período de menor precipitação por volta do mês de Setembro (Figura 6).

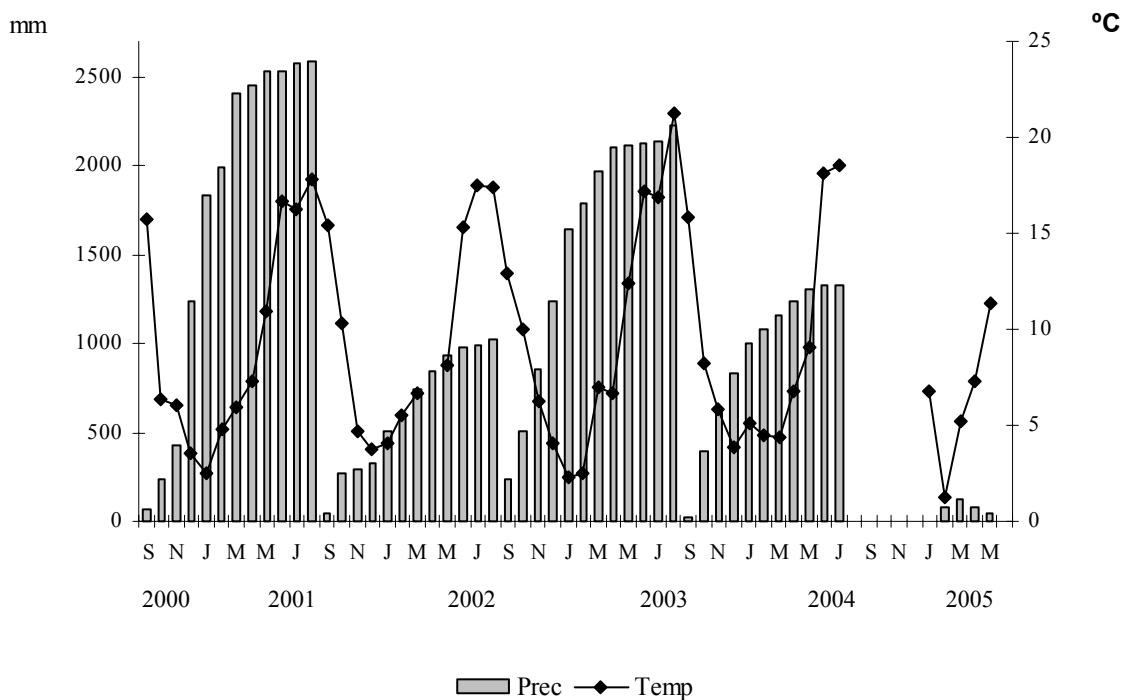


Figura 6: Variação da temperatura média mensal (°C) e da precipitação média mensal (mm) entre 2000 e 2004 (dados da estação meteorológica de Penhas Douradas).

Quanto a diferenças entre áreas de estudo no PNSE, deve-se apenas mencionar que somente na área de estudo de Corredor de Mouros foram criados marços em 2004 (Gomes, 2004), sendo que esta é também uma área predominantemente de pastagens. Por outro lado, Casal Maria Viegas é a área com maior predominância de matos baixos fechados.

4. Metodologia

4.1. Recolha de material biológico

A recolha de amostras fecais recentes para a análise coprológica de Coccidios ou de outros parasitas pode ser feita através da captura de animais (Hobbs & Twigg, 1998; Hobbs *et al.* 1999a e 1999b; Fuller & Blaustein, 1996) ou após observação dos mesmos (Stoner, 1996). Noutros casos recorre-se ao a animais abatidos durante o período de caça, dos quais se recolhem as vísceras para análise coprológica e/ou histológica (RIPAC, 2004).

No entanto, o método de contagem de excrementos dispersos (Palomares, 2001) já estava a ser usado para a monitorização da abundância de Coelho-bravo, pelo que, por questões práticas, a recolha de excrementos para o rastreio das Coccidioses foi também feita através desta contagem, apesar de não ser de todo habitual aplicar tal metodologia ao estudo da incidência de Coccidioses.

Deste modo a recolha de amostras foi realizada, de um modo não invasivo, em pontos colocados em transectos (Figura 7), pré-estabelecidos para a monitorização da abundância de Coelho-bravo (metodologia descrita em Ferreira, 2001), e em latrinas ao longo dos mesmos para garantir a obtenção de excrementos recentes. O período de amostragem foi mensal, entre Dezembro de 2004 e Maio de 2005.



Figura 7: Exemplos de locais onde se efectua a contagem e a recolha de excrementos; a: Aceiro; b: Caminho.

As amostras fecais recolhidas foram armazenadas em sacos plásticos e ainda embrulhadas em papel humedecido com água e colocadas de imediato numa geleira (Figura 8), onde permaneceram durante o trabalho de campo e até serem congeladas. Estas acções pretenderam evitar a desidratação das amostras.



Figura 8: Material utilizado durante a contagem e recolha de amostras.

4.2. Análise laboratorial

A flutuação como método para separar oocistos da restante matéria fecal é um procedimento fiável e, devido à filtração e densidade, é possível separar eficazmente os parasitas que se pretende observar. Este método é um dos mais utilizados para vários tipos de parasitas e tem sido aplicado a diferentes hospedeiros (Deger *et al.* 2003; Fuller & Blaustein, 1996; Graczyk *et al.* 1996; Sréter *et al.*, 1996). Diversos tipos de soluções são comumente usados neste processo, nomeadamente salina, de sulfato de zinco ou de açúcar (solução de Sheather). No entanto, a primeira pode secar rapidamente e formar cristais que afectam o campo de visão (Addendum, 2005). Quanto à segunda, é de viabilidade próxima da solução de açúcar, porém acarreta maior custo e alguns estudos demonstram que a solução de Sheather é mais eficiente, pelo menos em relação a oocistos de *Cryptosporidium* (Zişan *et al.*, 1997).

A separação de oocistos por flutuação em solução de açúcar a uma densidade de aproximadamente $1,2 \text{ g/cm}^3$ (López-Cózar *et al.* s/ data; Jarvinen, 1999) foi seguida de contagem e identificação em câmara de McMaster. Foram analisadas 3 réplicas, cada uma de aproximadamente 1,00g de fezes, por área de estudo (Anexo II).

Usualmente identificam-se as espécies de Coccidios através de oocistos esporulados (Deger *et al.* 2003; Fuller & Blaustein, 1996; Hobbs & Twigg, 1998; Hobbs *et al.*, 1999a; Jarniven, 1999; Licois, 2004). No entanto, neste trabalho não se realizou qualquer tipo de tratamento prévio para a formação de unidades infectantes. Segundo Licois (2004), mesmo com esporocistos podem surgir incertezas na identificação da espécie, pelo que, apenas se consideraram o tamanho, a cor e a forma dos oocistos (de acordo com as descrições de Pellerdy (1974) e Hobbs & Twigg (1998)) para identificar a espécie.

A parte laboratorial deste trabalho iniciou-se com um mini – estágio no Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (I.R.E.C.), Ciudad Real – Espanha, para aprendizagem das técnicas utilizadas na pesquisa coprológica de coccídeos. A análise das amostras foi realizada em instalações do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar no Campus Agrário de Vairão.

4.3. Tratamento de dados

O cálculo do número de Coccidios por grama de excrementos (CGE) foi obtido de acordo com a seguinte fórmula:

$$CGE = \frac{\text{vol. solução de açúcar} \times \text{n.º coccidios contados}}{\text{g de excrementos} \times \text{vol. câmara}}$$

A percentagem relativa de espécies do género *Eimeria* foi calculada a partir da fórmula indicada:

$$\frac{\text{n.º de coccidios da espécie identificados nas 3 réplicas}}{\text{total do n.º de coccidios encontrados nas 3 réplicas}} \times 100$$

O índice de diversidade de Simpson (1/D) (Sures *et al.*, 1999; Sures & Streit, 2001; World Agroforestry Centre, 2005) foi calculado para cada mês e cada área, o que permitiu a análise da variação da diversidade de espécies de *Eimeria* ao longo do tempo nas áreas de estudo:

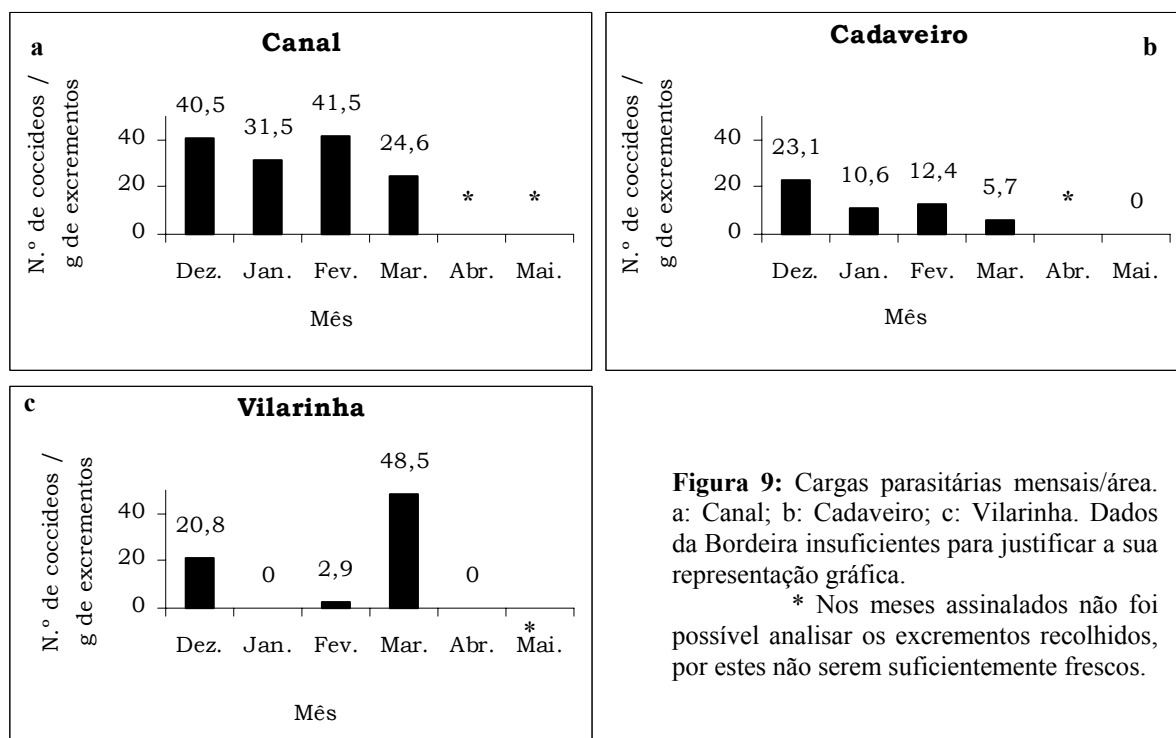
$$D = \sum_{i=1}^S ([n_i (n_i - 1)] / [N (N - 1)])$$

O programa Statistica 5.5 foi usado para o cálculo de dois testes estatísticos. O objectivo de relacionar a carga parasitária com a densidade de excrementos dispersos encontrados foi conseguido através do teste de correlação de Spearman; e para avaliar as diferenças existentes a nível das cargas parasitárias entre áreas e entre meses usou-se o teste ANOVA. Em ambos os casos procedeu-se à transformação $\log (x+1)$ da variável “carga parasitária”.

5. Resultados

5.1. Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina

As cargas parasitárias para as áreas amostradas do PNSACV estão representadas na Figura 9. A ausência de dados em alguns meses deveu-se à impossibilidade de obtenção de excrementos suficientemente frescos (Figura 10).



Todas as áreas de estudo apresentam cargas parasitárias menores que 50 Coccídios / g de excremento (CGE), sendo a mais elevada de 48.5 CGE (em Março) e a menor de 2.9 CGE (em Fevereiro) correspondentes à mesma área – Vilarinha, apresentando-se assim uma maior amplitude de variação do número de CGE neste local.

No Canal e no Cadaveiro a carga parasitária é pouco variável ao longo do período de estudo (entre 24.6 CGE em Março e 41.5 CGE em Fevereiro no Canal e entre 5.7 CGE em Março e 23.1 CGE em Dezembro no Cadaveiro).

Na Bordeira, só dois meses foram analisados obtendo-se 0 CGE em Dezembro e 10.3 CGE em Março. Estes dados são assim insuficientes para serem incluídos na análise de variâncias, no teste de associação entre variáveis e no cálculo do índice de diversidade desta área de estudo.

Figura 10: Comparação entre excrementos recentes e frescos (a) (menor dureza e com brilho mucoso) e excrementos antigos (b).



Procedeu-se à análise das variâncias das cargas parasitárias em função da área e do mês, não se tendo detectado diferenças significativas das cargas parasitárias entre áreas (ANOVA, $F= 2.518$; $p= 0.1258$), nem entre meses (ANOVA, $F= 2.187$; $p= 0.155$).

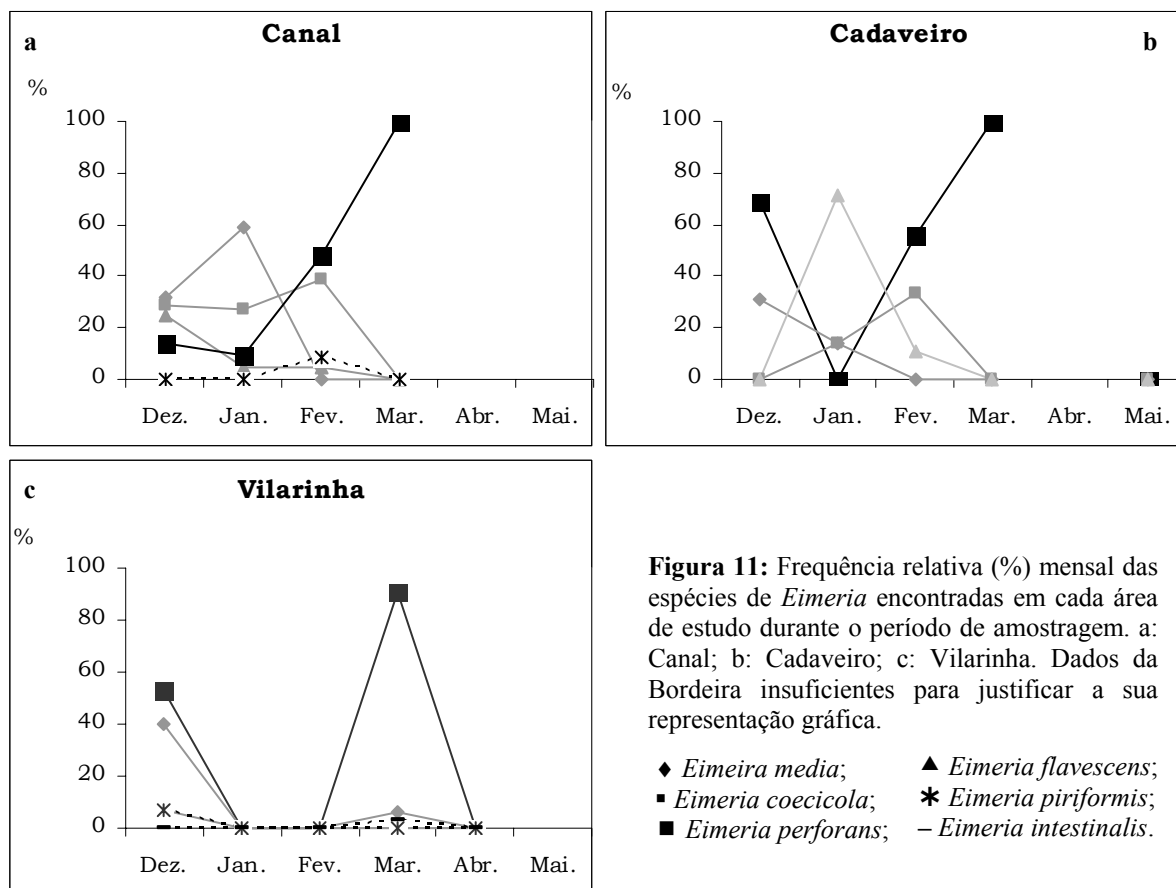
A associação entre o número de CGE e a densidade média de excrementos / m^2 foi rejeitada (teste de correlação de Spearman, $R= 0.352$, $p= 0.238$) (Anexo III).

Na Tabela 1 e na Figura 11 encontram-se as percentagens relativas de cada espécie encontrada por área de estudo e mensalmente. As espécies indicadas com o símbolo ? foram identificadas com algumas dúvidas.

Tabela 1: Percentagem relativa de espécies do género *Eimeria* identificadas em cada área de estudo no PNSACV, em cada mês.

		<i>E. perforans</i>	<i>E. media</i>	<i>E. coecicola</i>	<i>E. flavescens</i>	<i>E. piriformis</i> ?	<i>E. intestinalis</i> ?
Dez.	Canal	14,29	32,14	28,57	25,00	0	0
	Cadaveiro	68,75	31,25	0	0	0	0
	Vilarinha	53,33	40,00	6,67	0	6,67	0
	Bordeira	0	0	0	0	0	0
Jan.	Canal	9,09	59,09	27,27	4,55	0	0
	Cadaveiro	0	14,29	14,29	71,43	0	0
	Vilarinha	0	0	0	0	0	0
	Bordeira						
Fev.	Canal	17,83	0	39,13	4,35	8,7	0
	Cadaveiro	55,56	0	33,33	11,11	0	0
	Vilarinha	0	0	0	0	0	0
	Bordeira						
Mar.	Canal	100	0	0	0	0	0
	Cadaveiro	100	0	0	0	0	0
	Vilarinha	90,91	6,06	0	0	0	3,03
	Bordeira	16,67	83,33				
Abr.	Canal						
	Cadaveiro						
	Vilarinha	0	0	0	0	0	0
	Bordeira						
Mai.	Canal						
	Cadaveiro	0	0	0	0	0	0
	Vilarinha						
	Bordeira						

Eimeria perforans é a espécie mais frequente e presente em todas as áreas de amostragem, seguida de *E. media*, *E. coecicola* e por fim *E. flavescens*.



Com base nestes resultados, a diversidade específica foi quantificada através do índice de Simpson ($1/D$) (Figura 12).

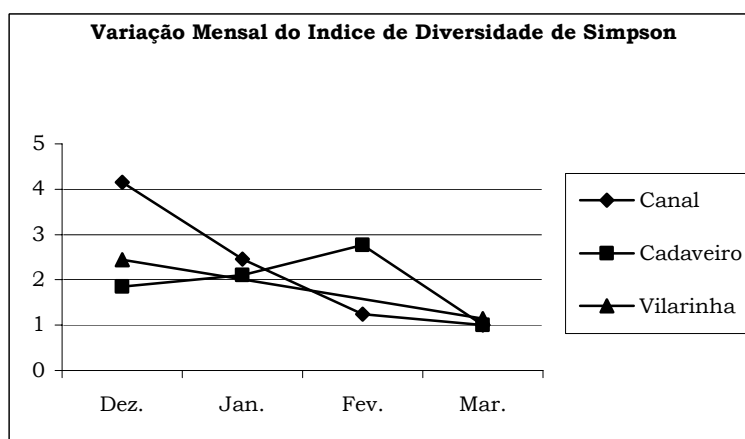


Figura 12: Variação mensal do índice de diversidade de Simpson para Canal, Cadaveiro e Vilarinha.

Durante os meses de Dezembro de 2004 e Janeiro de 2005, o Canal foi a área com maior diversidade. Já no mês de Fevereiro, o Cadaveiro apresentou maior número de

espécies. Em ambos os casos, assim como na Vilarinha, a diversidade diminuiu consideravelmente, pois ocorreu um domínio acentuado de *E. perforans* no mês de Março.

5.2. Parque Natural da Serra da Estrela

No PNSE, dada a proximidade das áreas de estudo, os valores das cargas parasitárias foram analisados conjuntamente, calculando-se a média de CGE obtidos em cada área amostrada (Figura 13).

O maior valor de carga parasitária, 161.7 CGE, foi obtido no mês de Dezembro. Ao longo do período de amostragem, o número de CGE foi diminuindo até Março, não sendo obtido excrementos frescos nos restantes meses (Abril e Maio de 2005). Apesar deste declínio, as diferenças nos valores de CGE não foram estatisticamente significativas (ANOVA, $F= 0.737$, $p= 0.539$).

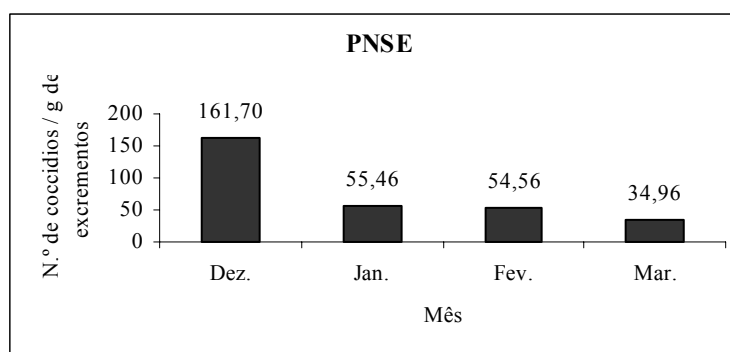
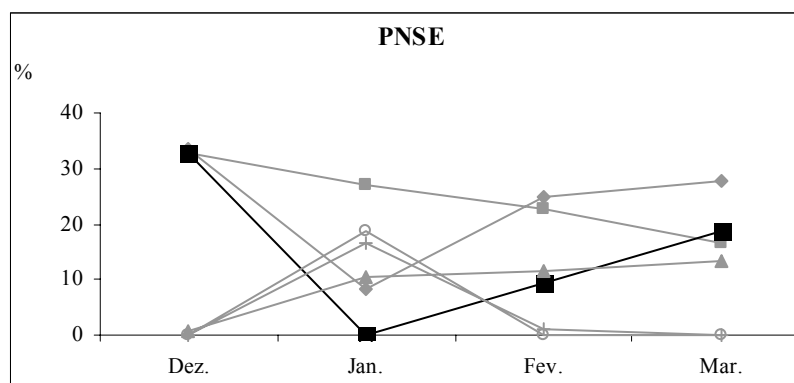


Figura 13: Média das cargas parasitárias mensais encontradas nas áreas do PNSE.

Relativamente às espécies encontradas, para além de *E. media*, *E. coecicola*, *E. perforans* e *E. flavescens*, surgem ainda *E. magna* e *E. irresidua*. *E. stiedai* foi também identificada embora com algumas dúvidas, podendo estar-se na presença de *E. coecicola* atípica ou degradada. Durante o processamento laboratorial surgiram bastantes Coccídios não passíveis de identificação devido ao seu estado de deterioração (Tabela 2 e Figura 14).

Tabela 2: Percentagem relativa de espécies do género *Eimeria* identificadas no PNSE.

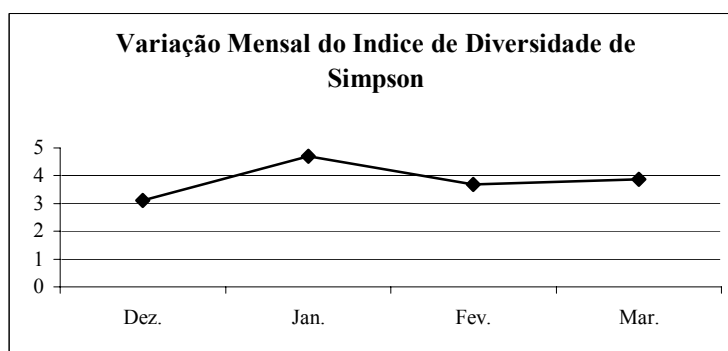
	<i>E. media</i>	<i>E. coecicola</i>	<i>E. perforans</i>	<i>E. flavescens</i>	<i>E. irresidua</i>	<i>E. magna</i>	<i>E. stiedai</i> ?	Não identificada
Dez.	33,62	32,76	32,76	0,86	0	0	0	0
Jan.	8,33	27,08	0	10,42	18,75	16,67	0	18,75
Fev.	24,76	22,86	9,52	11,43	0	0,95	0	30,48
Mar.	27,78	16,67	18,89	13,33	0	0	3,33	20,00

**Figura 14:** Frequência relativa (%) mensal das espécies de *Eimeria* encontradas no PNSE.

◆ *Eimeria media*; ▲ *Eimeria flavescens*; + *Eimeria magna*;
 ■ *Eimeria coecicola*; ● *Eimeria perforans*; ○ *Eimeria irresidua*.

O número de CGE e a densidade média de excrementos / m² recolhidos nos transectos das áreas de estudo do PNSE possuem uma associação nula (teste de correlação de Spearman, R= 0.164, p= 0.650) (Anexo III).

A Figura 15 demonstra os resultados obtidos no que se refere a diversidade específica. O índice de Simpson revela uma subida de cerca de 2 valores em Janeiro, ocorrendo uma ligeira descida entre Janeiro e Fevereiro, mantendo-se aproximadamente constante em Março.

**Figura 15:** Variação mensal do índice de diversidade de Simpson para o PNSE.

5.3. Carga parasitária em ambos os Parques Naturais

Comparando as duas Áreas Protegidas estudadas, verifica-se a existência de diferenças significativas nas cargas parasitárias (ANOVA, $F= 11.580$, $p= 0.001$). As populações de Coelho-bravo do PNSE encontram-se mais parasitadas por Coccídios do que as populações do Sul de Portugal (Figura 16). A Serra da Estrela possui, em geral, uma maior diversidade de espécies do género *Eimeria*. No PNSACV ocorreu um decréscimo acentuado nos valores do índice de diversidade de Simpson médio mensal durante o período de amostragem (Figura 17).

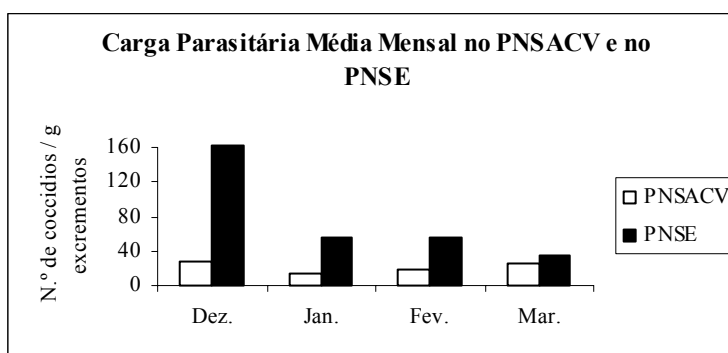


Figura 16: Carga parasitária média mensal em ambos os Parques Naturais estudados.

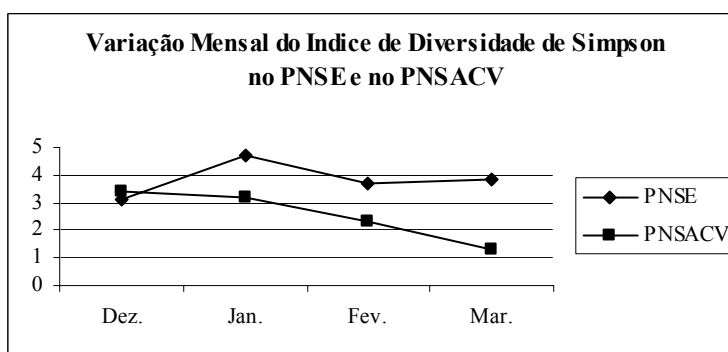


Figura 17: Variação média mensal do Índice de Diversidade de Simpson no PNSE e no PNSACV.

Em relação às percentagens relativas das espécies de Coccídios, parece existir um padrão de variação mensal de *E. perforans* (Figuras 11 e 14). Esta espécie sofre um decréscimo entre Dezembro e Janeiro, recuperando em Fevereiro e atingindo um pico em Março.

É ainda de referir que quer no PNSACV quer no PNSE, não se detectaram indirectamente sintomatologias de infecção por Coccídios (por exemplo diarreias) durante o período de amostragem.

6. Discussão

A carga parasitária das populações de Coelho-bravo do PNSACV, na totalidade das áreas e meses estudados, foi sempre inferior a 50 CGE. Estes resultados estão de acordo com as percentagens de ocorrência de Coccidiose obtidas pelo projecto RIPAC (2004), em que 61% dos Coelhos-bravos necropsiados não continham Coccídios e 15% estavam levemente parasitados (dados não editados fornecidos por Lemos, 2005).

Em relação ao PNSE, não há trabalhos prévios sobre Coccidioses nesta Área Protegida. Contudo Coudert e colaboradores (2003) consideram, em criações de coelho doméstico, que entre os 100 e os 1000 CGE o risco sanitário é muito baixo, sendo nulo para valores abaixo dos 100 oocistos / g de excrementos. Deste modo, como a carga parasitária mais elevada encontrada na Serra da Estrela correspondente a 161.7 CGE, considera-se existir neste local uma situação sanitária bastante razoável.

As baixas cargas parasitárias nos dois Parques Naturais é comprovada pela não detecção de diarreias, sintoma típico de Coccidioses graves. Não se exclui, no entanto, a hipótese de ocorrerem nas populações estudadas uma pequena percentagem de indivíduos com cargas parasitárias elevadas, e uma percentagem preponderante de animais fracamente parasitados (Boag *et al.*, 2001).

A patogenicidade varia consoante a espécie de *Eimeria* que se considera. No caso das áreas estudadas, os números de CGE não são alarmantes, mesmo considerando que surgem espécies levemente patogénicas (*E. perforans*), patogénicas (*E. media*, *E. magna*, *E. irresidua* e possivelmente *E. piriformis* e *E. stiedai*) e muito patogénicas (*E. flavescens* e talvez *E. intestinalis*) (Coudert *et al.*, 1993 in Gutiérrez, 2003). No entanto, tendo em consideração que é mais provável os animais não infectados se tornarem parasitados, do que os afectados perderem a parasitação (Bertolino *et al.*, 2003) sugere-se, como medida preventiva, a continuação da monitorização da evolução das frequências específicas, sobretudo no PNSE, onde as cargas parasitárias são significativamente mais elevadas. A análise de animais abatidos durante o período venatório seria uma mais valia nesta monitorização, pois distinguir-se-iam quais os sexos e idades mais afectados.

A existência de um menor número de CGE na Área Protegida do Sudoeste é possibilitada pela maior temperatura, ao longo de todo o ano e de um modo geral, no PNSACV em relação ao PNSE. Isto porque o calor inviabiliza a esporulação dos oocistos de *Eimeria*, pois torna a sobrevivência e propagação menos eficazes (Rind & Brohi, 2001), mantendo o número de Coccidios baixo.

O clima mais seco do PNSACV torna também a diversidade específica deste local ligeiramente menor do que acontece na Serra da Estrela. Em climas deste tipo, apenas as espécies com tempo de esporulação menor têm vantagem, já que só estas conseguem completar o seu ciclo de vida em condições favoráveis (Rind & Brohi, 2001). É o que acontece com *E. perforans*, que com o tempo mais curto de esporulação de todas as *Eimeria* (Gutiérrez, 2003) consegue ser a mais frequente na Área Protegida do Sudoeste, mas no PNSE partilha o seu domínio com *E. media* e *E. coecicola*.

Coudert *et al.* (2003) confirmam a dominância de *E. perforans* concluindo que em alguns casos esta é a única espécie que surge a parasitar coelho doméstico. O estudo de Hobbs & Twigg (1998) na Austrália (clima Mediterrâneo com Verões longos e secos à semelhança do que acontece no PNSACV) indica *E. perforans* como a espécie com maior prevalência.

No presente trabalho somente *E. perforans* e *E. media* estão presentes em todas as áreas de estudo e a frequência de qualquer uma das espécies varia consideravelmente entre meses. Bertolino *et al.* (2003) chegaram a conclusões semelhantes, pois verificou a existência de algumas espécies em todas as áreas e anos de estudo (com prevalência média/alta), enquanto outras espécies surgiam apenas em certas áreas (com baixa prevalência), não sendo as comunidades parasitárias estáveis no tempo.

As cargas parasitárias das áreas do PNSE são significativamente superiores às do PNSACV. O clima é o factor preponderante da origem desta evidência, como indicam os parágrafos anteriores. No entanto, não se pode excluir a hipótese de que também as medidas de manejo de habitat realizadas no PNSACV, de 2000 a 2003, tenham surtido o seu efeito a nível da condição corporal das populações de Coelho-bravo, favorecendo a capacidade de resposta imunitária e diminuindo o risco de infestação por Coccidios, enquanto que a gestão de habitat na Serra da Estrela terá sido insuficiente (apenas 2004) para haver repercussões na condição dos animais (Hodges *et al.*, 1999).

O teste de correlação de Spearman rejeitou a hipótese de associação entre a carga parasitária e a densidade de excrementos dispersos em cada uma das Áreas Protegidas. Seria de esperar que os locais de maior densidade de Coelho-bravo fossem aqueles onde as cargas parasitárias fossem igualmente mais elevadas (Bertolino *et al.*, 2003). O clima excepcionalmente seco durante o período de estudo, terá impedido a obtenção de maior quantidade de dados, condicionando esta análise.

Em termos de propagação parasitária, existem diferentes espécies de animais, a par com o Coelho-bravo, que frequentam as áreas de estudo ou zonas que lhes são contíguas. Cada uma dessas espécies pode desempenhar um papel, ainda que reduzido, na dispersão de parasitas. Como exemplo concreto, os predadores do Coelho-bravo podem funcionar como vectores mecânicos de oocistos, pois, ocasionalmente, libertam nas suas fezes Coccídios de espécies de *Eimeria* que parasitam o Coelho-bravo (Lemos, *com. pess.*, 2005). Relembre-se que os Coccídios são altamente específicos em relação ao hospedeiro, não causando qualquer dano, neste caso, nos predadores. Por outro lado, também o Coelho-bravo pode ser uma potencial ameaça para as populações de Lebre-Ibérica, existentes em algumas áreas de estudo, como propagador de Toxoplasmose (Sedlák *et al.*, 2002) e para os ruminantes que pastoreiam diversas dessas áreas, como propagador de Nematodes (Saulai & Cabaret, 1998).

Alguns herbívoros evitam frequentar locais onde existam excrementos de modo a diminuir o risco de parasitoses difundidas nas fezes (van der Wal *et al.*, 2000; Hutchings *et al.*, 2001). Os comportamentos adaptativos dos coelhos, ingestão das próprias fezes e marcação do território através de latrinas, agravam portanto, teoricamente, a probabilidade de infecção.

A obtenção de amostras para análise coprológica é geralmente levada a cabo por métodos mais directos do que o utilizado (Fuller & Blaustein, 1996; Stoner, 1996; Hobbs & Twigg, 1998; Hobbs *et al.* 1999a e 1999b; RIPAC, 2004). Contudo, o procedimento deste trabalho esteve condicionado pelo método de monitorização da abundância de Coelho-bravo. Para além disso, as metodologias directas (captura de animais ou a sua observação) são de difícil aplicação nas áreas de estudo em questão, dado que as densidades desta espécie são, em geral, bastante baixas. Este facto inviabiliza a realização de capturas, uma vez que não garante o seu sucesso e condiciona

a análise a um número de animais abatidos pelos caçadores potencialmente reduzido e insuficiente para que se pudessem obter resultados significativos.

A recolha de excrementos ao longo de transectos baseou-se ocasionalmente na amostragem de latrinas, sobretudo no PNSACV. Apesar de se ter procurado fazer a análise da maior quantidade de excrementos dispersos, nem sempre foi possível. Deste modo dever-se-á ter presente que as latrinas são formadas sobretudo pelos machos dominantes (Sneddon, 1991), pelo que há um desvio dos resultados obtidos para este sexo, no PNSACV, havendo evidências, de trabalhos com roedores, que as infestações de *Eimeria* variam entre sexos (Fuller & Blaustein, 1996; Bertolino *et al.*, 2003). Certos autores apontam a acção diferencial das hormonas sexuais masculinas e femininas como responsáveis por tais variações, outros autores associam-nas a diferente dispersão entre machos e fêmeas (Keith *et al.*, 1985; Fuller & Blaustein, 1996; Bertolino *et al.*, 2003) o que acontece também com o Coelho-bravo (Richardson *et al.*, 2002).

Em ambas as Áreas Protegidas, apesar dos cuidados de conservação das amostras, estas nem sempre foram suficientemente frescas para que os Coccídios se preservassem. O ano de 2005 foi um ano de seca excepcional, o que dificultou o acesso a excrementos frescos e oocistos viáveis. Para além disso, os oocistos de *Eimeria* são organismos resistentes a agentes químicos, mas podem ser destruídos pelo calor e por desidratação prolongada (Licois, 2004), o que poderá eventualmente ter acontecido, neste caso, dado que os excrementos permaneceram no campo por um tempo que poderá ter atingido um mês. Porém, não foi possível fazer uma recolha com períodos de interregno menores.

Dado o pequeno número de transectos a percorrer, os inconvenientes do método de obtenção de amostras teriam provavelmente sido minimizados se um ou dois percursos tivessem sido efectuados nas primeiras horas da manhã, logo após o nascer-do-sol. Assim diminuir-se-ia a desidratação dos oocistos devido ao calor (e vento em alguns casos) e conseguir-se-iam mais amostras de excrementos dispersos. No entanto, devido a constrangimentos logísticos também não foi possível recolher os excrementos neste período do dia.

7. Considerações Finais

As populações de Coelho-bravo do PNSACV encontram-se parasitadas por *Eimeria perforans*, *E. media*, *E. coecicola* e *E. flavescens*.

No PNSE, as Coccidioses são provocadas por *E. media*, *E. coecicola*, *E. perforans* e *E. flavescens*, e casos pontuais de *E. irresidua* e *E. magna*.

Em ambas as Áreas Protegidas as cargas parasitárias são baixas, não havendo risco sanitário em nenhuma delas. Dado o pequeno número de CGE, a patogenicidade das diferentes espécies de *Eimeria* praticamente não tem significado na infecção dos animais. No entanto, os resultados obtidos estarão ligeiramente subestimados, face ao clima excepcionalmente seco que se fez sentir durante o período de amostragem.

No PNSACV não foram encontradas diferenças significativas das cargas parasitárias entre áreas, nem entre meses. No entanto verificou-se que os números de CGE detectados na Área Protegida do Sudoeste são significativamente menores do que os do PNSE, sendo a diversidade também ligeiramente menor. Estas evidências devem-se sobretudo ao clima mais quente e seco no PNSACV do que na Serra da Estrela.

As restrições climatéricas excepcionais terão influenciado indirectamente a não existência de associação entre a carga parasitária e a densidade de excrementos ao nível de cada uma das Áreas Protegidas, devido à impossibilidade de recolha de amostras.

O método utilizado na recolha de amostras neste trabalho, apesar de não ser o mais usual, permite o rastreio de Coccidioses em populações pouco abundantes.

8. Referências Bibliográficas

- Addendum, E. (2005). *Fecal examination procedures*. Companion Animal Parasite Council.
- Arneberg, P. (2001). An ecological law and its macroecological consequences as revealed by studies of relationships between host densities and parasite prevalence. *Ecography* **24**: 352-358.
- Arneberg, P. (2002). Host population density and body mass as determinants of species richness in parasite communities: comparative analyses of directly transmitted nematodes of mammals. *Ecography* **25**: 88-94.
- Bao, J.C.; Zi-Lin, G.; Qing-Hua, K.; Chao, Z.; Wen-She, R. & Yu-Ting, H. (2004). *New characteristics, prevention and cure technique of Coccidiosis in rabbit*. Proceedings of the 8th World Rabbit Congress. Puebla, México. World Rabbit Science Association (Eds.): 433-438.
- Bell, D. (1979). *Chemical communication in the European rabbit: urine and social status*. World Lagomorph Conference, Guelph, Ontario, University of Guelph.
- Belz, K. (2004). Rabbit Hemorrhagic Disease. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* **13**(2): 100-104.
- Bertolino, S.; Wauters, L.A. & De Bruyn, L. (2003). Prevalence of coccidia parasites (Protozoa) in red squirrels (*Sciurus vulgaris*): effects of host phenotype and environmental factors. *Oecologia* **137**: 286-295.
- Boag, B.; Lello, J.; Fenton, A.; Tompkins, D.M. & Hudson, P.J. (2001). Patterns of parasite aggregation in the wild european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *International Journal of Parasitology* **31**(13): 1424 - 1428.
- Boavida, T. (1997). *Estudo da densidade relativa das populações de Coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus) no Parque Natural da Serra de S. Mamede*. Instituto Politécnico de Castelo Branco. Castelo Branco, Escola Superior Agrária: 65.
- Botelho, M.J. (1984). *Contribuição para o Plano de Ordenamento do Algarve – Rede de conservação da natureza e protecção da paisagem*. Relatório final do curso livre de Arquitectura Paisagística. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- Calvete, C. & Estrada, R. (2000). *Epidemiologia de Enfermedad Hemorrágica (VHD) y Mixomatosis en el Conejo Silvestre en el Valle Medio del Ebro - Herramientas de Gestión*.
- Ceia, H.; Ângelo, I. & Oliveira, V. (2001). *Avaliação da eficácia de acções de manejo de habitat na recuperação das populações de Coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus) nas serras Algarvias*. Poster.

- Chapman, J.A. & Flux, J.E.C. (1990). Introduction and overview of the lagomorphs. In *Rabbits, hares and pikas*: 1-6. Chapman, J.A. & Flux, J.E.C. (Ed.).
- Coudert, P.; Licois, D. & Zonnekeyn, V. (2000). *Epizootic rabbit enterocolitis and Coccidiosis: a criminal conspiracy*. Proceedings of the 7th World Rabbit Congress, Valência - Espanha.
- Coudert, P.; Jobert, J.L.; Larour, G. & Guittet, M. (2003). *Relation entre l'entéropathie épizootique du lapin (EEL) et l'infestation par les coccidies: enquête épidémiologique*. 10^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole.
- Deger, S.; Gül, A.; Ayaz, E. & Biçek, K. (2003). The prevalence of *Eimeria* species in goats in Van. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* **27**: 439 - 442.
- Delibes, M. & Hiraldo, F. (1979). *The rabbit as prey in the Iberian Mediterranean ecosystem*. Proceedings of the World Lagomorph Conference, Guelph, Canadá.
- Dobson, A. (1992a). Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichstrongylus tenuis* in red grouse. II. Population models. *Journal of Animal Ecology* **61**: 487-498.
- Dobson, A. (1992b). Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichstrongylus tenuis* in red grouse. I. Monitoring and parasite reduction experiments. *Journal of Animal Ecology* **61**: 477-486.
- Fernandes, G. & Vieira, A. (s/ data). *Problemática do turismo em áreas naturais e o seu significado nos concelhos do Parque Natural da Serra da Estrela*. Escola Superior da Guarda: 24.
- Ferreira, C. (2001). *Avaliação do impacto de medidas de gestão do habitat numa população de coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus algirus) num ecossistema mediterrânico*. Relatório de Estágio. Porto, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto: 56.
- Ferreira, C. (2003). *Avaliação da eficácia da gestão do habitat em populações de coelho – bravo (Oryctolagus cuniculus algirus) no Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina*. Tese de Mestrado. Porto, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto: 70.
- Ferreira, N. & Vieira, G. (1999). *Guia geológico e geomorfológico do Parque Natural da Serra da estrela*. Parque Natural da Serra da Estrela. Instituto de Conservação da Natureza. Lisboa: 52.
- Festa-Bianchet, M. (1989). Individual differences, parasites, and the costs of reproduction for bighorn ewes (*Ovis canadensis*). *Journal of Animal Ecology* **58**: 785-795.
- Fuller, C.A. & Blaustein, A.R. (1996). Effects of the parasite *Eimeria arizonensis* on survival of Deer Mice - *Peromyscus maniculatus*. *Ecology* **77**: 2196 - 2202.

- Gibb, J.A. (1981). What determines the numbers of small herbivorous mammals? *New Zealand Journal of Ecology* **4**: 73-77.
- Gibb, J.A. (1990). The European rabbit *Oryctolagus cuniculus*. In *Rabbits, hares and pikas*: 116-120. Chapman, J.A. & Flux, J.E.C. (Ed.).
- Gomes A. (2004). *Aplicação de medidas de gestão e sistemas de monitorização de Coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus algirus)*. Relatório de Estágio. Aveiro, Departamento de Biologia. Universidade de Aveiro: 37.
- Gomes, N. & Valverde, F. (s/ data). *Cartografia da dinâmica dunar em Portugal, a Sul do Tejo*: 4.
- Gonçalves, H. (1996). *Contribuição para o estudo da população de Coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus) da zona de caça nacional da Serra da Cabreira*. Porto, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto: 53.
- Gonçalves, H; Alves, P.C. & Rocha, A. (2002). Seasonal variation in the reproductive activity of the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus algirus*) in a Mediterranean ecosystem. *Wildlife Research* **29**: 165-173.
- Graczyk, T.K.; Cranfield, M.R. & Hill, S.L. (1996). Therapeutic efficacy of helugunone and spiramycin treatment against *Cryptosporidium serpentis* (Apicomplexa: CRYPTOSPORIDIIDAE) infections in captive snakes. *Parasitol. Res.* **82**: 143-148.
- Grès, V., Marchandeu, S. & Landau, I. (2002). Description d'une nouvelle espèce d'*Eimeria* (Coccidia, Eimeridea) chez le lapin de garenne *Oryctolagus cuniculus* en France. *Zoosystema* **24**(2): 203-207.
- Guimarães, L. (1994). *Contribuição para o estudo de uma população de Coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus L.) numa zona de caça associativa na região de Pernes (Santarém)*. Faculdade de Ciências. Porto, Universidade do Porto: 65.
- Gutiérrez, J.F. (2003). Tratamientos y profilaxis de la Coccidiosis en el conejo. *Cunicultura*. 97-105.
- Hirakawa, H. (2001). Coprophagy in leporids and other mammalian herbivores. *Mammal. Rev.* **31**(1): 61-80.
- Hobbs, R.P. & Twigg, L.E. (1998). Coccidia (*Eimeria* spp) of wild rabbits in south-western Australia. *Aust. Vet. J.* **76**(3): 209-210.
- Hobbs, R.P.; Twigg, L.E.; Elliot, A.D. & Wheeler, A.G. (1999a). Factors influencing the faecal egg and oocyst counts of parasites of wild European rabbits *Oryctolagus cuniculus* (L.) in south-western Australia. *J. Parasitol.* **85**(5): 796-802.

- Hobbs, R.P.; Twigg, L.E.; Elliot, A.D. & Wheeler, A.G. (1999b). Evaluation of the association of parasitism with mortality of wild European rabbit *Oryctolagus cuniculus* (L.) in south-western Australia. *J. Parasitol.* **85**(5): 803-808.
- Hudson, P.J.; Dobson, A.P. & Newborn, D. (1992). Do parasites make prey vulnerable to predation? Red Grouse parasites. *Journal of Animal Ecology* **61**: 681-692.
- Hutchings, M.R.; Gordon, I.J.; Kyriazakis, I. & Jackson, F. (2001). Sheep avoidance of faeces-contaminated patches leads to a trade-off between intake rate of forage and parasitism in subsequent foraging decisions. *Animal Behaviour* **62**: 955-964.
- Huxel, G.R. & Hastings, A. (1999). Habitat loss, fragmentation and restoration. *Restoring Ecology* **7**(3): 309-315.
- Jansen, J. (2002). *Guia geobotânico da Serra da Estrela. Parque Natural da Serra das Estrela*. Instituto de Conservação da Natureza. Lisboa: 276.
- Jarvinen, J. (1999). Prevalence of *Eimeria macusaniensis* (Apicomplexa: EIMERIIDADE) in Midwestern *Lama* spp. *Journal of Parasitology* **85**(2): 373-376.
- Keith, L.; Cary, J.; Yuill, T. & Keith, I. (1985). Prevalence of helminths in a cyclic snowshoe hare population. *Journal of Wildlife Diseases* **21**(3): 233-253.
- Lemos, A. (2005). *Comunicação pessoal*. Docente no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Porto
- Licois, D. (2004). *Domestic rabbit enteropathies*. Proceedings of the 8th World Rabbit Congress. World Rabbit Science Association (Eds.). Puebla, México. 385-403.
- López-Cózar, I.N.; Esolo, D. R.; Martínez-Estélez, M.A.; Nieto, C.G.; Aguilera, F.J.; Martín, J.E.; Alonso, M.G.; Cerezo, J.A.M.; Mancha, C.M.; Carrión, E.F. & Blázquez, M.G. *Guía Práctica de Parasitología y Enfermedades Parasitarias*. Cátedra de Parasitología, Enfermedades Parasitarias Medicina Preventiva y Policía Sanitaria. Departamento de Medicina y Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Uex - Cáceres.
- Marchandeau, S.; Aubineau, J.; Baudron, P.; Blanchet, L.; Chauvet, C.; Legros, E.; Merlet, C. & Suret, H. (1999). La pathologie de Lapin du garenne dans l'Ouest de la France. *Bull. Mens. de l'Office National de la Chasse* **245**: 10-16.
- Moller, A.P. (1993). Ectoparasites increase the cost of reproduction in their hosts. *Journal of Animal Ecology* **62**: 309-322.
- Moller, A.P.; Erritzøe, J. & Saino, N. (2003). Seasonal Changes in Immune Response and Parasite Impact on Hosts. *The American Naturalist* **161**: 657-671
- Murray, D.L.; Cary, J.R. & Keith, L.B. (1997). Interactive effects of sublethal nematodes and nutritional status on snowshoe hare vulnerability to predation. *Journal of Animal Ecology* **66**: 250-264.

- Murray, D.L. (2002). Differential body condition and vulnerability to predation in snowshoe hares. *Journal of Animal Ecology* **71**: 614-625.
- Palomares, F. (2001). Comparison of 3 methods to estimate rabbit abundance in a Mediterranean environment. *Wildlife Society Bulletin* **29**(2): 578-585.
- PBHRA: *Plano de Bacia Hidrográfica das Ribeiras do Algarve, 1ª Fase – Análise e Diagnóstico da Situação de Referência. Volume IV – Diagnóstico* (2000). Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território, Instituto da Água e Direcção Regional do Ambiente (Algarve): 109.
- PDRPC: *Plano de Desenvolvimento Rural Portugal Continental – Plano Zonal Agro – Ambiental do Parque Natural da Serra da Estrela* (2002). Direcção Geral do Desenvolvimento Rural e Instituto de Conservação da Natureza: 49.
- Pellerdy, L.P. (1974). *Coccidia and Coccidiosis*. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburgo: 939.
- Reinoso, J.C.M. (1993). Consumo de galbulos de sabina (*Juniperus phoenicea* ssp *turbinata* Guss, 1891) y dispersión de semillas por el conejo (*Oryctolagus cuniculus* L.) en el parque Nacional de Doñana. *Acta Vertebrata* **20**(1): 49-58.
- Richardson, B.J.; Hayes, R.A.; Wheeler, S.H. & Yardin, M.R. (2002). Social structures, genetic structures and dispersal strategies in Australian rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) populations. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **51**: 113-121.
- Rind, R. & Brohi, M. (2001). Factors affecting the survival and sporulation of *Eimeria* oocysts of Cattle. *Pakistan Journal of Bioloical Science.* **4**(4): 487-491.
- RIPAC: *Rede de Recolha e Identificação de Patologias em Animais Cinegéticos – Relatório Final* (2004). Federação de Caçadores do Algarve e Direcção Regional de Agricultura do Algarve.
- Rivas-Martinez, S. (1979). *Brezales y jarales de Europa Occidental (Revisión fitosociológica de las clases Calluno-Ulicetea y Cisto-Lavanduletea)*. Departamento de Botánica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense: 121.
- Rochambeau, H.; Licois, D.; Gidenne, T.; Verdelhan, S.; Coudert, P & Elsen, J.M. (2003). *Variabilité génétique de la sensibilité à trois types d'entéropathies expérimentales chez le lapin*. 10èmes Journées de la Recherche Cunicole : 263-266.
- Sulai, M. & Cabaret, J. (1998). Limited role of lagomorphs (*Oryctolagus cuniculus* and *Lepus capensis*) in the dispersion of parasite nematodes of ruminants. *Veterinary Parasitology* **77**: 301-304.
- Sedlák, K.; Literák, I.; Faldyna, M.; Toman, M. & Benák, J. (2000). Fatal toxoplasmosis in brown hares (*Lepus europaeus*): possible reasons of their high susceptibility to the infection. *Veterinary Parasitology* **93**: 13-28.

- Sneddon, I.A. (1991). Latrine use by the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Mamm.* **72**: 769-775.
- Sréter, T.; Varga, I. & Békési, L. (1996). Effects of bursectomy and thymectomy on the development of resistance to *Cryptosporidium baileyi* in chickens. *Parasitol. Res.* **82**: 147-177.
- Stoner, K.E. (1996). Prevalence and intensity of intestinal parasites in Mantled Howling Monkeys (*Alouatta palliata*) in Northeastern Costa Rica: Implications for conservation biology. *Conservation Biology* **10**(2): 539-546.
- Sures, B.; Knopf, K.; Wurtz, J. & Hirt, J. (1999). Richness and diversity of parasite communities in European eels *Anguilla anguilla* of the River Rhine, Germany, with special reference to helminth parasites. *Parasitology* **119**: 323-330.
- Sures, B. & Streit, B. (2001). Eel parasite diversity and intermediate host abundance in the River Rhine, Germany. *Parasitology* **123**: 185-191.
- Van der Wal, R.; Irvine, J.; Stien, A.; Shepherd, N. & Albon, S.D. (2000). Faecal avoidance and the risk of infection by nematodes in a natural population of reindeer. *Oecologia* **124**: 19-25.
- Vieira, M.J.F. (1989). *Área de Paisagem Protegida do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina – Regras de gestão*. Serviço Nacional de Parques, Reservas e Conservação da Natureza – A.P.P.S.A.C.V. – Núcleo de Aljezur: 330.
- Villafuerte, R. & Gimenez, G. (1991). *Valoración y manejo de especies silvestres: el conejo aplicación en la gestión*. Centre de recursos i documentacio del Castell de Montesquiú: 160.
- Von Holst, D.; Hutzelmeyer, H.; Kaetzke, P; Khaschei, M. & Schonheiter, R. (1999). Social rank, stress, fitness and life expectancy in wild rabbit. *Naturwissenschaften* **86**: 388-393.
- Yuna, C.H.; Lillehoj, H.S. & Lillehoj, E.P. (2000). Intestinal immune responses to Coccidiosis. *Developmental & Comparative Immunology* **24**(2-3): 303-324.

8.1. Referências Electrónicas

Edição do Jornal Região Sul: www.regiao-sul.pt/feira/ (18.07.2005).

Instituto de Meteorologia Português: www.meteo.pt (12.07.2005) e
<http://web.meteo.pt/previsao/inicial.jsp> (15.07.2005).

World Agroforestry Centre – International Centre of Research in Agroforestry:
<http://www.worldagroforestry.org/sites/rsu/resources/biodiversity/analysistypes/diversityindices.asp> (20.05.2005)

Anexos

Anexo I. INCIDÊNCIA DE COCCIDIOSES EM LEBRE-IBÉRICA (*LEPUS GRANATENSIS*)

Durante o período em que decorreu o estágio profissionalizante tentou-se recolher amostras de excrementos de Lebre Ibérica para análise da incidência de Coccidioses nesta espécie. No entanto apenas foi possível recolher amostras no mês de Novembro de 2004 e numa só área da Serra da Estrela (Corredor de Mouros).

Com base nas seguintes ilustrações e tabela, chegaram-se aos resultados abaixo indicados. Estes são meramente informativos, não se podendo tirar qualquer conclusão dada a escassez da amostragem.

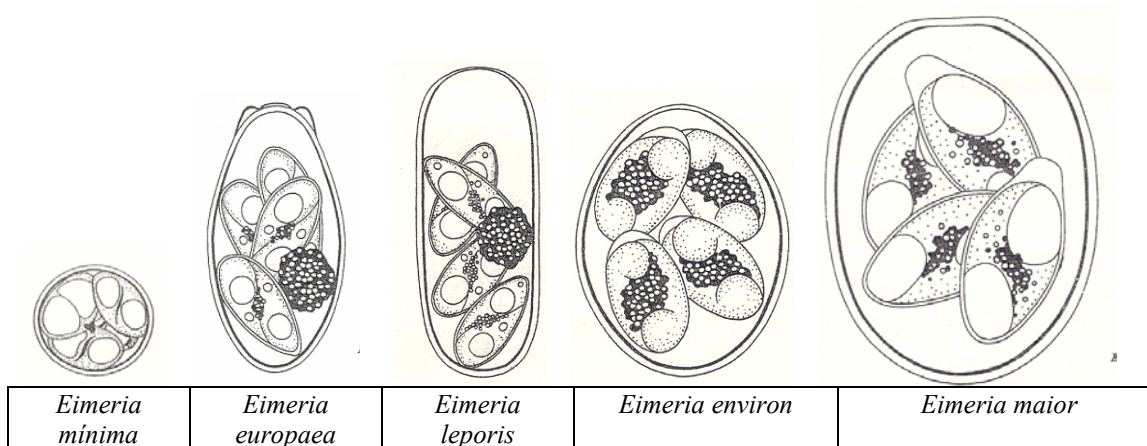


Figura I.1: Esquema dos oocistos das espécies de *Eimeria* que podem parasitar *Lepus granatensis* (Pellerdy, 1974).

Tabela I.1: Descrição das diferentes espécies do género *Eimeria* que podem parasitar *Lepus granatensis*.

Espécie	Oocisto		Esporocisto		Micro-pilo	
	Forma	Tamanho (μ)		Tamanho (μ)		
<i>E. environ</i>	Ovóide	26.1 (23.6-33.0)	21.0 (20.0-22.8)	13.7 (12.2-15.1)	8.8 (7.6-9.4)	grande
<i>E. minima</i>	Esférico ou subsférico	14.6 (13.0-15.4)	12.9 (11.0-13.2)	6	3	ausente
<i>E. europaea</i>	Elipsóide, afunila em ambos os pólos	32.0 (26.0-34.0)	18.0 (15.0-20.0)	9	6	+ escuro; 6-9 μ
<i>E. leporis</i>	Cilíndrico, dobrado ou riniforme	32.0 (26.0-38.0)	16.0 (13.0-20.0)			ausente
<i>E. septentrionalis</i>	Esférico ou ovóide	23.8 (23.0-32.0)	20.6 (20.0-23.0)	12-14	6-8	+ escuro
<i>E. maior</i>	Ovóide	48.4 (44.0-57.0)	29.5 (25.0-35.0)	12.7-17.8	7-10.1	8.5 μ ; 2.6 μ
		41.5 (37.0-51.0)	27.0 (24.0-35.0)	22.1	8.5 (8.0-	

		(19.0-25.0)	10.0)
--	--	-------------	-------

Resultados:

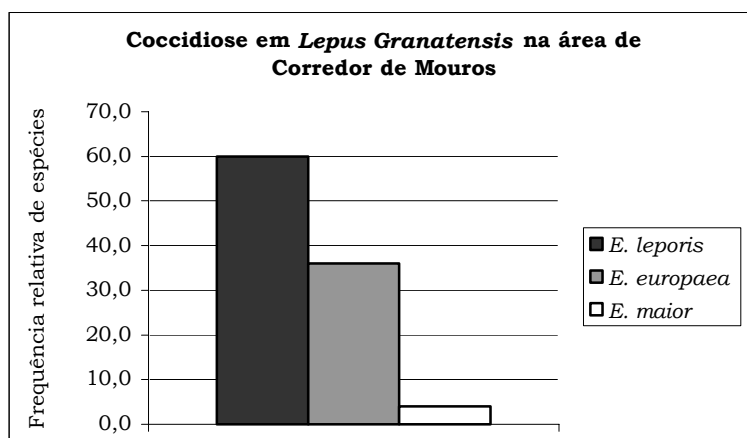


Figura II.I: Coccidioses em *Lepus granatensis* na área de Corredor de Mouros em Novembro de 2004.

Carga parasitária total: 35,1 coccidios / g de excrementos.

Índice de diversidade de Simpson = 0,53.

Anexo II. PROCEDIMENTO LABORATORIAL PARA CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS

- Pesar cerca de 1,00g de fezes;
- Macerar bem;
- Adicionar 30 ml de solução de açúcar* (verificar previamente a sua densidade);
- Misturar e agitar bem;
- Filtrar através de uma gaze de malha fina;
- Aguardar cerca de 5 minutos;
- Recolher o líquido mais superficial com uma pipeta;
- Encher totalmente a câmara de McMaster;
- Observar ao microscópio óptico:
 - Contagem de oocistos na ampliação de 10x;
 - Medição e identificação de oocistos na ampliação de 40x.

* Solução de açúcar:

- Misturar 454g de açúcar a 355ml de água;
- Agitar a quente até totalmente dissolvido.

Anexo III. DENSIDADE MÉDIA DE EXCREMENTOS DISPERSOS RECOLHIDOS MENSALMENTE NAS ÁREAS DE ESTUDO DO PNSACV E DO PNSE

Tabela I.III: Densidade média de excrementos dispersos / m² recolhidos mensalmente nas áreas de estudo do PNSACV (Dados não editados, gentilmente cedidos por Catarina Ferreira).

	Dez. 04	Jan. 05	Fev. 05	Mar. 05	Abr. 05	Mai. 05
Canal	1.889	2.377	2.865	2.780	2.981	3.183
Cadaveiro	4.180	1.478	2.334	1.305	1.689	1.592
Vilarinha	0.690	0.435	0.361	0.340	0.605	0.435
Bordeira	0.361	0.859	1.114	0.637	1.305	1.178

Tabela II.III: Densidade média de excrementos dispersos / m² recolhidos mensalmente nas áreas de estudo do PNSE (Dados não editados, gentilmente cedidos por Nuno Ferreira).

	Dez. 04	Jan. 05	Fev. 05	Mar. 05	Abr. 05	Mai. 05	Jun. 05
Corredor de Mouros	9,374	6,080	7,846	6,207	3,454	6,048	6,175
Casal Maria Viegas	2,037	2,355	1,798	1,989	0,859	1,448	0,446
Cruz Jogadas			1,751	0,891	1,003	1,735	1,958
Quinta da Castanheira				2,355	4,074	5,395	5,061