

Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação

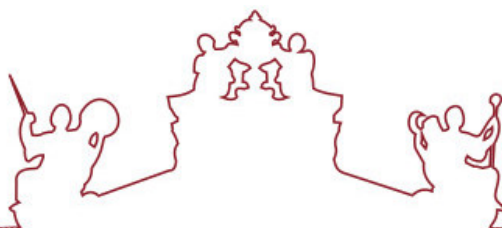
**Interações espaço-temporais numa comunidade de
mamíferos no sudeste de Portugal: relevância para o risco de
transmissão da tuberculose bovina**

Renata Maria Moraes Gonçalves

Orientador(es) | Sara Santos

Eduardo Miguel Ramos Ferreira

Évora 2024



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação

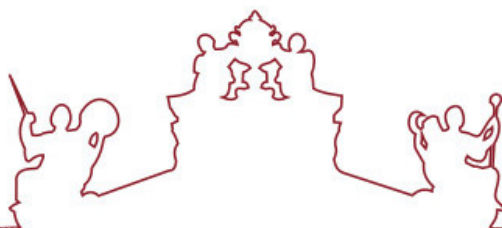
**Interações espaço-temporais numa comunidade de
mamíferos no sudeste de Portugal: relevância para o risco de
transmissão da tuberculose bovina**

Renata Maria Moraes Gonçalves

Orientador(es) | Sara Santos

Eduardo Miguel Ramos Ferreira

Évora 2024



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

Presidente | Paulo Sá-Sousa (Universidade de Évora)

Vogais | Nuno M. Pedroso (Universidade de Évora) (Arguente)
Sara Santos (Universidade de Évora) (Orientador)

Agradecimentos

O trabalho que se segue é o resultado não só do meu esforço, mas também da generosidade, encorajamento e apoio das muitas pessoas, colegas, amigos e família que me rodeiam e acompanham. Sinto uma enorme gratidão por todos, com especial destaque para:

Os meus orientadores: Professora Sara e Eduardo. Foi um grande privilégio e sorte ter feito esta dissertação com a vossa orientação e apoio ao longo de todo o processo. Professora Sara, o seu conhecimento, experiência e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Eduardo, a tua generosidade, atenção e ajuda constantes foram muito importantes durante esta longa etapa de vida. Aprendi imenso com vocês os dois e espero que saibam o quão agradecida vos sou. Obrigada ainda por me terem oferecido a possibilidade de trabalhar num gabinete perto de vocês e por todas as condições proporcionadas.

A Herdade da Coitadinha (Parque de Natureza de Noudar, propriedade da EDIA [Empresa de Desenvolvimento e Infra-estruturas do Alqueva, S.A.]) todo o apoio e colaboração prestados para a realização deste trabalho.

A Equipa da UBC, por me terem recebido tão bem no vosso centro e pela vossa simpatia.

Todos os professores que tive ao longo do meu mestrado, pelo esforço e adaptação que demonstraram durante um período tão desafiador para o ensino marcado pela pandemia. Quero agradecer particularmente ao Professor António Mira e ao Professor Paulo Sá Sousa pelo conhecimento partilhado, pelas oportunidades académicas proporcionadas e por me terem inspirado e feito crescer enquanto bióloga da conservação.

Os meus coleguinhas e amiguinhos de mestrado, com quem passei muitos bons momentos e me diverti imenso. Obrigada pelo esforço e vontade para nos conhecermos, mesmo começando as nossas relações numa altura de aulas *online* e de vários confinamentos. Menciono com grande carinho a Inês Almeida, Joaquina e Irma (Tetés!!!), Amadinho (MRA), Vítor, Bea Costa, Filipa, Miguel e Rituxa! Évora começou a tornar-se casa graças a vocês.

As raízes que comecei a criar em Évora, como a incrível equipa da REFOOD (a qual tive a maior sorte de integrar), as amiguinhas dos Pilates, e as minhas

housemates/elseimates. Numa altura mais desafiadora da minha vida, foram vocês que, sem saberem, me ofereceram orientação, estabilidade e perspetiva. E também muito bons convívios e memórias, mas isso vocês sabem. Um obrigada especial à Emília, à Lúcia e à Dr. Helena!

As pessoas muito especiais que estão ao meu lado em todos os momentos, sejam eles de alegria ou de dificuldade, demonstrando um apoio inestimável e um amor genuíno: Beatriz César (Sou como tu, Igual a ti, para sempre <3), Inês Filipa (It's the climb!!!), Rita Loewenstein (AAAMOOOR), Bart Sluiter, David Santos e Kika Gusmão. Obrigada pela enorme paciência que tiveram ao longo destes últimos tempos, por todas as palavras, força e motivação contínuas. Ajudaram-me a desconstruir muitos monstros e a continuar em frente. Convosco, cresço e descubro quem realmente sou e quero ser. Do fundo do coração, obrigada por serem meus amigos e por serem as pessoas bonitas que são!

Os meus restantes colegas que se tornaram amigos para a vida: Miguel Pisco, Secca, Sasha, Tiago Ferreira, João Almeida e Márcia. Assim como para os anteriores, estar convosco é sempre um misto de euforia e felicidade com conforto de casa. O que partilho convosco é incomparável.

A minha irmã Irma, maninha do coração, que começou a aventura do mestrado e de Évora comigo. És e serás sempre especial de uma maneira especial e única!

A Mafalda e Ganna, pela longa amizade. Desde que entrámos na universidade, cada uma teve rumos muito diferentes e inesperados. Acho engraçado e bonito que, mesmo assim, tenhamos estado nesta fase angustiante de tese as três juntas ao mesmo tempo. Foi bom reviver uma experiência em comum novamente. Obrigada pelo vosso apoio! Vocês significam e significarão sempre muito para mim.

A Danii fofa, pelo apoio, preocupação e motivação. És uma amiga que está sempre pronta para me ajudar e para me divertir. Obrigada por tratares tão bem de mim e pela nossa amizade!

A Mads Jogadora e Rita Ana, as saloias. Estar convosco é rir até os músculos não deixarem mais. É também recuar no tempo e voltar a ser uma criança e adolescente que é facilmente feliz.

The wonderful people and friends I've crossed paths with throughout the world. With you, I've lived unforgettable and unique experiences. I want to express special thanks to

Emily, Lukas, Lis and Greta, for the beautiful relationship we continue to build and for your support, interest and enthusiasm during this time, even from afar.

Caro thank you so much for your company and great conversations, which were so important during this final phase. I admire you very much and wish you all the best!

A Sofia, D. Ana Teresa, D. Graciete, Sr. Agostinho, Sr. Marinho e Rita. Obrigada por estarem sempre a torcer por mim, pelo vosso apoio moral e ajuda prática, pela vossa disponibilidade, por me fazerem comidinha boa, e pelos passeios, aventuras e convívios tão alegres e espontâneos!

A minha família, que também está sempre a torcer por mim e de braços abertos para me receber. À minha mana Cata, obrigada pelo teu apoio e preocupação! És uma grande trabalhadora e admiro-te bastante. Sais mesmo aos teus pais. Mãe e pai, nunca saberei como vos agradecer por tudo o que fazem por mim. O que sou e o que consigo alcançar na vida deve-se a vocês. Obrigada pelo vosso amor e apoio incondicionais, pela paciência que foi precisa mais que nunca, e pela força que me transmitiram e transmitem. Vocês são um enorme exemplo de trabalho, honestidade, esforço, dedicação e altruísmo. Que eu um dia possa ser um bocadinho do que vocês são. Obrigada por tudo, valorizo-vos e adoro-vos tanto!

O Pedrocas. O meu melhor amigo e companheiro de vida. Tenho tanto para te agradecer que nem sei bem como fazê-lo. Obrigada pela enorme paciência e por teres cuidado tão bem de mim. Por todos os miminhos, comidinha deliciosa, refúgio sempre seguro, ajuda com o trabalho, viagens, aventuras, e tanto tanto mais. Hoje escrevo estes agradecimentos com a dissertação concluída graças a todo o teu apoio físico e emocional. Foste e és incansável. Admiro tanto a maneira feliz, tranquila e genuína com que trabalhas e vives. Ensinas-me tanto e és uma enorme inspiração para mim. Obrigada pela tua presença, dedicação e reconhecimento! És o amor da minha vida. E quero passar o resto da minha vida contigo.

Sou verdadeiramente grata e feliz pelas pessoas que fazem parte da minha vida, assim como por todas aquelas que vão surgindo ao longo do caminho. A todos os que me acompanharam nesta jornada e me ajudaram a crescer, aprender e superar desafios, obrigada de coração!

E quem diria que concluiria a minha dissertação de mestrado no dia mais improvável de sempre. Dia 29 de fevereiro. Esperei muito por ti.

Enquadramento científico

Os dados obtidos e explorados no âmbito deste trabalho académico integram e fazem parte de uma bolsa de investigação científica de Doutoramento financiada pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) a Eduardo Ferreira (ref: SFRH/BD/146037/2019). Adicionalmente, esta tese insere-se no âmbito do projeto “MOVERCULOSIS – O uso combinado de comportamento e movimento animal na avaliação da influência das interações silvestres-bovinos domésticos no risco de transmissão espaço-temporal da tuberculose animal” (2022.06014.PTDC), DOI 10.54499/2022.06014.PTDC (<https://doi.org/10.54499/2022.06014.PTDC>), financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT). Agradecemos os financiamentos estratégicos da FCT ao Centro de Investigação MED (UIDP/05183/2020 e UIDB/05183/2020) e ao Laboratório Associado CHANGE (LA/P/0121/2020).

Resumo

Interações espácio-temporais numa comunidade de mamíferos no sudeste de Portugal: relevância para o risco de transmissão da tuberculose bovina

A tuberculose bovina é uma doença infecciosa que é mantida por comunidades multi-hospedeiras na Península Ibérica, onde o gado bovino e mamíferos selvagens estabelecem redes de interação que contribuem para a sua transmissão e persistência. Este estudo visa quantificar as interações espácio-temporais entre bovinos e mamíferos selvagens, utilizando armadilhagem fotográfica em diferentes pontos de atração animal e habitats. Os resultados evidenciam que as interações diretas entre o gado bovino e os mamíferos selvagens são raras, quando comparadas com as indiretas, o que sugere que o ambiente partilhado desempenha um papel crucial na transmissão de *Mycobacterium bovis*. As interações indiretas com o gado bovino foram mais frequentes nos pontos de água e as espécies selvagens mais frequentemente envolvidas foram a raposa, o veado e o javali. É fundamental estudar as diversas áreas da epidemiologia e ecologia da tuberculose bovina para aumentar a sua compreensão e, assim, aplicar medidas preventivas eficazes.

Palavras-chave: interação animal; *M. bovis*; ecologia espacial; hospedeiro; risco de transmissão

Abstract

Spatio-temporal interactions in a mammal community in southeastern Portugal: relevance to the risk of transmission of bovine tuberculosis

Bovine tuberculosis is an infectious disease that is maintained by multi-host communities in the Iberian Peninsula, where cattle and wild mammals establish interaction networks that contribute to its transmission and persistence. This study aims to quantify the spatio-temporal interactions between cattle and wild mammals, using camera trapping at different animal attraction points and habitats. The results show that direct interactions between cattle and wild mammals are rare compared to indirect interactions, suggesting that the shared environment plays a crucial role in *Mycobacterium bovis* transmission. Indirect interactions with cattle were more frequent at water points and the wild species most frequently involved were red fox, red deer and wild boar. It is essential to study the different areas of bovine tuberculosis epidemiology and ecology to increase understanding and thus apply effective preventive measures.

Keywords: animal interaction; *M. bovis*; spatial ecology; host; risk of transmission

Lista de abreviaturas e siglas

AIC – Critério de Informação de Akaike [*Akaike Information Criterion*]

APA – Agência Portuguesa do Ambiente

CMT – Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

Coef. – Coeficiente(s) estimado(s)

DGAV – Direção-Geral de Alimentação e Veterinária

DP – Desvio-padrão

eR² – Estimativa do coeficiente de determinação

EUA – Estados Unidos da América

GLMM – Modelo(s) Linear(es) Generalizado(s) Misto(s) [*Generalized Linear Mixed Model(s)*]

GPS – Sistema de Posicionamento Global [*Global Positioning System*]

HM – Habitat Misto

IC – Intervalo de Confiança

IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera

IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza [*International Union for Conservation of Nature*]

JTC – Janela Temporal Crítica

LVMPC – Livro Vermelho dos Mamíferos de Portugal Continental

MA – Montado Aberto sem matos

MF – Montado Fechado com matos

NUTS – Nomenclatura das Unidades Territoriais para Fins Estatísticos

PDSI – Índice de Severidade de Seca de Palmer [*Palmer Drought Severity Index*]

QGIS – Sistema de Informação Geográfica Quantum [*Quantum Geographic Information System*]

Riq. Esp. Sp. Selv. – Riqueza Específica das Espécies Selvagens

R² – Coeficiente de determinação

SIG – Sistema de Informação Geográfica

SPV – Soma do peso das variáveis

TB – Tuberculose bovina

VEA – Variância do efeito aleatório

VIF – Fator de Inflação da Variância

VI('s) – Visita(s) Independente(s)

WHO – Organização Mundial de Saúde [*World Health Organization*]

WOAH – Organização Mundial da Saúde Animal [*World Organisation for Animal Health*]

Índice

Agradecimentos.....	I
Enquadramento científico	IV
Resumo	V
Abstract.....	VI
Lista de abreviaturas e siglas	VII
Índice de figuras	XI
Índice de tabelas.....	XII
1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Doenças infecciosas nas interfaces fauna selvagem-pecuária-humano.....	1
1.2 – Tuberculose bovina	2
1.3 – Obstáculos à erradicação da TB.....	4
1.4 – Processos de transmissão da TB: interações espaço-temporais entre hospedeiros.....	5
1.5 – TB no contexto ibérico.....	7
1.6 – Objetivos	11
2 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
2.1 – Área de estudo	12
2.2 – Armadilhagem fotográfica.....	15
2.3 – Organização e processamento dos dados.....	16
2.4 – Análise estatística	17
2.4.1 – Quantificação e Modelação das Visitas Independentes	18
2.4.2 – Quantificação e Modelação das Interações Diretas e Indiretas	19
3 – RESULTADOS	21
3.1 – Quantificação das Visitas Independentes	21
3.2 – Modelação das Visitas Independentes	25
3.3 – Quantificação das Interações Diretas	27
3.4 – Quantificação das Interações Indiretas.....	31
3.5 – Modelação das Interações Indiretas	34

4 – DISCUSSÃO	35
4.1 – Caracterização da comunidade	35
4.2 – Descrição dos padrões espaço-temporais:	37
4.2.1 – Visitas Independentes.....	37
4.2.2 – Interações Diretas	40
4.2.3 – Interações Indiretas	42
4.3 – Avaliação dos dados e perspectivas futuras.....	47
5 – CONCLUSÃO.....	49
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
Anexos.....	XIII

Índice de figuras

Figura 1 – Localização da Área Epidemiológica de Risco para a Tuberculose dos Animais de Caça Maior (Edital nº1/2011)	9
Figura 2 – Localização da área de estudo (Herdade da Coitadinha)	12
Figura 3 – Caracterização do uso e ocupação do solo na área de estudo	13
Figura 4 – Exemplificação dos diferentes tipos de pontos de amostragem	16
Figura 5 – Número total de VI's (indicado no topo de cada barra) de cada uma das espécies-alvo selvagens identificadas durante o período de amostragem	23
Figura 6 – Distribuição espacial na área de estudo das VI's do gado bovino e das espécies selvagens pelos pontos de amostragem	24
Figura 7 – Distribuição espacial na área de estudo das VI's de cada uma das espécies selvagens pelos pontos de amostragem	24
Figura 8 – Registo de interação direta entre o gado bovino e o sacarrabos	28
Figura 9 – Registo de interação direta entre o gado bovino e o veado	28
Figura 10 – Registo de interação direta entre o gado bovino e a raposa	29
Figura 11 – Perfil de atividade diária do gado bovino e do sacarrabos na Herdade da Coitadinha durante o período de estudo	29
Figura 12 – Perfil de atividade diária do gado bovino e do veado na Herdade da Coitadinha durante o período de estudo	30
Figura 13 – Perfil de atividade diária do gado bovino e da raposa na Herdade da Coitadinha durante o período de estudo	30
Figura 14 – Distribuição espacial das interações indiretas na área de estudo relativamente aos pares de espécies (gado bovino-javali, gado bovino-veado, gado bovino-raposa, gado bovino-texugo e gado bovino-sacarrabos) pelos pontos de amostragem	33

Índice de tabelas

Tabela 1 – Resultados dos modelos médios obtidos aplicados às taxas de VI's do gado bovino, javali, veado, raposa e texugo	26
Tabela 2 – Número de interações diretas interespecíficas descritas por par de espécies, tipo de ponto de amostragem e tipo de habitat	27
Tabela 3 – Número de interações indiretas interespecíficas descritas por par de espécies, tipo de ponto de amostragem e tipo de habitat	32
Tabela 4 – Resultados do modelo médio obtido aplicado à taxa de interações indiretas dos cinco pares de espécies selecionados (gado bovino-javali, gado bovino-veado, gado bovino-raposa, gado bovino-texugo e gado bovino-sacarrabos)	34

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Doenças infecciosas nas interfaces fauna selvagem-pecuária-humano

Uma doença infecciosa decorre da presença e atividade de microorganismos patogénicos, tais como bactérias, vírus, fungos e parasitas (World Health Organization [WHO], 2023). Estes microorganismos, comumente denominados de agentes patogénicos, têm o potencial de invadir um hospedeiro, desencadeando uma variedade de sintomas clínicos e perturbações fisiológicas, podendo, em casos extremos, levar à sua morte (van Seventer & Hochberg, 2017). A transmissão de agentes patogénicos pode ocorrer por dois mecanismos distintos: transmissão vertical e horizontal (Xue & Scoglio, 2013). A primeira refere-se à passagem de agentes patogénicos da mãe para a sua prole, enquanto a segunda pressupõe a transmissão entre indivíduos de uma dada comunidade, através de um animal ou pessoa infetada, ou do ambiente contaminado para um hospedeiro suscetível (Parratt et al., 2016).

O número de doenças infecciosas causadas por agentes patogénicos provenientes de espécies selvagens tem vindo a aumentar, revelando um risco crescente e altamente significativo não só para a saúde animal, como também para a saúde humana e ambiental (Jones et al., 2008; Gortázar et al., 2015b). Mundialmente, cerca de 67% das doenças infecciosas humanas conhecidas são compartilhadas com espécies animais, sendo que as mais expressivas surgiram após o aparecimento da agricultura e, em particular, desde a domesticação animal (R. J. White & Razgour, 2020; Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2020). Este panorama de saúde partilhado enfatiza a relação entre animais e humanos, sendo as zoonoses – doenças infecciosas transmissíveis de animais vertebrados para humanos – um exemplo especialmente relevante (WHO, 2020). Neste sentido, o papel e a importância da interface fauna selvagem-pecuária-humano na ecologia das doenças infecciosas tem vindo a ser foco de investigação, principalmente no que diz respeito a doenças emergentes e reemergentes de origem animal e que tenham graves implicações na saúde pública, bem como em atividades e setores económicos (Rhyan & Spraker, 2010; Wiethoelter et al., 2015).

Vários fatores interativos de origem antropogénica sustentam o surgimento e a persistência de doenças infecciosas em interfaces compartilhadas, tais como: (1) o crescimento populacional a par com a incursão humana (e dos seus animais

domésticos) de habitats naturais e consequente alteração da paisagem, que levam à destruição desses habitats e de nichos ecológicos; (2) a intensificação e industrialização da produção animal, com medidas de exploração pecuária e de biossegurança inadequadas ou inexistentes; e (3) o aumento de viagens internacionais, incluindo a crescente manipulação, transporte e comércio (legal e ilegal) de espécies e produtos de origem animal (R. J. White & Razgour, 2020; United Nations Environment Programme and International Livestock Research Institute, 2020; Meurens et al., 2021). Estes fatores conduzem a perturbações na estrutura e composição das comunidades e cadeias tróficas, resultando em alterações nas dinâmicas ecológicas das interfaces existentes, bem como na criação de novas, onde múltiplas espécies podem ocorrer (Reis et al., 2021). Desta forma, surgem novas oportunidades de contacto em interfaces fauna selvagem-pecuária-humano amplificadas, sendo assim potenciada a ocorrência e o risco de transmissão de zoonoses.

1.2 – Tuberculose bovina

A tuberculose bovina (doravante TB, também usualmente referida como tuberculose animal) é um dos exemplos mais difundidos de uma zoonose prevalente tanto na pecuária como em animais selvagens, em diferentes contextos epidemiológicos em todo o mundo (Ramos et al., 2020; Reis et al., 2021). A TB é uma doença infecciosa crónica e contagiosa causada, predominantemente, pelo agente patogénico bacteriano *Mycobacterium bovis* e, em menor grau, por outros membros também pertencentes ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT), como *Mycobacterium caprae* e *Mycobacterium tuberculosis* (World Organisation for Animal Health [WOAH], 2023). Esta doença caracteriza-se pela formação de lesões granulomatosas situadas, em grande parte dos casos, nos pulmões e gânglios linfáticos, embora a localização da lesão possa variar de acordo com a espécie hospedeira e a via primária de infeção (A. C. Pereira et al., 2020).

Mycobacterium bovis, que originalmente infetava sobretudo o gado bovino (*Bos taurus*) (Michel et al., 2010; Payne et al., 2017), acredita-se ter sido introduzido na vida selvagem por meio de bovinos domésticos infetados (Fitzgerald & Kaneene, 2013). Atualmente, é um agente patogénico adaptado a uma ampla variedade de espécies hospedeiras, principalmente de mamíferos (Palmer, 2013). Por conseguinte, o controlo da TB torna-se difícil de efetivar, causando constrangimentos a nível económico, de

saúde pública e ecológico (Rodriguez-Campos et al., 2014), impactando tanto o bem-estar social (Michel et al., 2010), como o bem-estar animal (Sainsbury et al., 1995).

Nos países desenvolvidos, o principal motivo para o controlo desta doença é económico (Gortázar et al., 2015a), uma vez que prejudica ou incapacita a produção e comércio de bovinos e respetivos produtos derivados, levando a perdas monetárias significativas, assim como a quebras e bloqueios nos mercados nacionais e internacionais (Cunha et al., 2011). Adicionalmente, em muitos casos, o prejuízo também advém da gestão da doença no gado bovino e da consequente compensação dos proprietários afetados (Campbell et al., 2019). Deste modo, as políticas que regulam o controlo da TB visam à efetiva erradicação da doença nos rebanhos como parte de uma abordagem integrada de segurança alimentar (Michel et al., 2010). Para além disso, a TB pode ainda ter um impacto económico nas atividades cinegéticas, como também no turismo baseado na vida selvagem (Michel et al., 2006).

Na maioria dos países desenvolvidos, a preocupação sanitária sobre esta doença levou as autoridades de saúde pública e outros grupos de interesse a exigirem a pasteurização do leite, bem como a melhoria nas condições de manejo pecuário e o estabelecimento de programas de controlo da TB em bovinos (Palmer, 2013). No entanto, apesar das medidas aplicadas que contribuíram para diminuir a transmissão e prevalência da doença, continuam a ser reportados casos de tuberculose humana de origem zoonótica em países europeus todos os anos (Müller et al., 2013; Cunha et al., 2019c). O risco zoonótico é especialmente maior para aqueles que se encontram na interface animal-humano, como é o caso de produtores pecuários, agricultores, veterinários, caçadores, entre outros trabalhadores (Matos et al., 2014b; Cunha et al., 2019c). Por outro lado, nos países em desenvolvimento, a TB é considerada uma zoonose negligenciada (Michel et al., 2010), continuando a apresentar uma grande incidência e mortalidade em humanos, muitas vezes associada ao consumo de produtos de origem animal contaminados ou ao contato próximo com animais, domésticos ou selvagens, infetados (Dürr et al., 2013; Cunha et al., 2019c). Nestes países, práticas culturais e religiosas, bem como fatores socioeconómicos, foram identificados como contribuintes adicionais para uma ocorrência aumentada de infeções em humanos, comprometendo, para além de questões relacionadas com a saúde, o fornecimento sustentável de alimentos, o rendimento e o estatuto social (Michel et al., 2010).

No que se refere aos problemas de cariz ecológico, a TB pode representar uma ameaça à conservação de espécies de fauna selvagem e, consequentemente, ao equilíbrio do funcionamento dos ecossistemas. Esta doença pode levar à redução do

fitness e do vigor físico, ao aumento da mortalidade, e à alteração dos padrões de dispersão e de movimento dos animais (Scott, 1988; Miller, 2015). Esta situação agrava-se no caso de espécies ameaçadas, como é o exemplo do lince-ibérico (*Lynx pardinus*), que é suscetível à infeção por *M. bovis* (Gortázar & Boadella, 2014). As graves consequências que uma epidemia pode ter nas populações remanescentes desta espécie, juntamente com outras ameaças, podem colocar em causa a viabilidade e manutenção das populações locais (Aranaz et al., 2004; Millán et al., 2009). Em alguns países, também se recorre (ou já se recorreu) ao abate de espécies hospedeiras selvagens (Carstensen & DonCarlos, 2011; O'Brien et al., 2011; Campbell et al., 2019), o que, aliado aos impactos escassamente identificados da doença em populações infetadas, torna-se uma preocupação que não deve ser desvalorizada.

1.3 – Obstáculos à erradicação da TB

Em vários países do mundo, os esforços de erradicação da TB resultaram na diminuição da incidência e prevalência desta doença, através da realização de campanhas de testagem e abate, e da implementação de programas de controlo regionais e/ou nacionais no gado bovino (Ramos et al., 2020). Contudo, em alguns casos na Europa, a prevalência em rebanhos de bovinos tem vindo a aumentar, estando maioritariamente associada à presença de mamíferos selvagens infetados e à consequente transmissão para o gado bovino, comprometendo, assim, o sucesso destas estratégias (Cunha et al., 2012; Santos et al., 2020; Meurens et al., 2021).

Embora a deteção de agentes patogénicos causadores de TB numa espécie seja importante, não implica necessariamente que a infeção esteja estabelecida nessa espécie em particular (Santos et al., 2009). Em acréscimo, nem todas as espécies suscetíveis à infeção desempenham o mesmo papel na transmissão e manutenção da doença (Rhyan & Spraker, 2010; Gortázar et al., 2015a). Neste sentido, são identificados como epidemiologicamente mais significativos para as dinâmicas de infeção os hospedeiros reservatório, dado serem os principais impulsionadores na transmissão da TB para outras espécies, assim como na sua persistência e disseminação geográfica (Gortázar et al., 2008; Roberts & Heesterbeek, 2020). Esta característica não é intrínseca nem absoluta de cada espécie, pois depende do contexto ecológico e epidemiológico em que os indivíduos se inserem (Palmer, 2013).

Atualmente, os hospedeiros reservatório selvagens reconhecidos da TB incluem: o cusu-comum (*Trichosurus vulpecula*) na Nova Zelândia (Fitzgerald & Kaneene, 2013),

o veado-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*) nos Estados Unidos da América (EUA) (Gortázar et al., 2015a), o búfalo-africano (*Syncerus caffer*) e o cudo-maior (*Tragelaphus strepsiceros*) na África do Sul (Renwick et al., 2007), o texugo-euroasiático (*Meles meles*) no Reino Unido e na República da Irlanda (O'Connor et al., 2012), e o javali-euroasiático (*Sus scrofa*) e o veado-vermelho (*Cervus elaphus*) na Península Ibérica (Duarte et al., 2008; Naranjo et al., 2008; A. C. Pereira et al., 2020). Para além destes, segundo Michel et al. (2010), à data do estudo, tinham sido relatados casos de infeção por *M. bovis* em mais de 40 espécies selvagens, incluindo mamíferos carnívoros, ungulados, marsupiais, primatas, roedores e lagomorfos, e ainda aves necrófagas (Delahay et al., 2002; Cunha et al., 2019c; Reis et al., 2021).

As diferentes contribuições de cada hospedeiro na transmissão da TB, num dado cenário epidemiológico com dadas condições ambientais e de gestão, podem ser determinadas por vários parâmetros. A título de exemplo, esses parâmetros podem ser relativos: à densidade populacional local da espécie hospedeira e à respetiva taxa de prevalência da doença na população, assim como à sua suscetibilidade à infeção, patologia induzida, genética, ecologia e comportamento (Power & Mitchell, 2004; Gortázar et al., 2011; Palmer, 2013; Cowie et al., 2016; Madeira et al., 2017; A. C. Pereira et al., 2020). Embora tais fatores estejam identificados, a sua importância e o papel que desempenham em distintas situações carece de clarificação. Ademais, a compreensão da TB torna-se ainda mais complexa perante a existência de uma diversidade de hospedeiros simpátricos, tanto domésticos como selvagens, que por estarem ecológica e epidemiologicamente conectados, formam comunidades multi-hospedeiras, nas quais o agente patogénico persiste (Haydon et al., 2003; Cowie et al., 2016).

1.4 – Processos de transmissão da TB: interações espaço-temporais entre hospedeiros

Indivíduos infetados podem excretar bacilos dos agentes patogénicos causadores da TB por meio de aerossóis, saliva, expectoração, secreções de feridas, urina, fezes e leite materno (Corner et al., 2011; Borham et al., 2022). Por sua vez, a infeção pode ocorrer através da inalação, ingestão e transmissão transcutânea de micobactérias infecciosas provenientes das excreções mencionadas, e ainda, com menor frequência, pela via sexual e transplacentária da gestante para o feto (Kaneene & Pfeiffer, 2006; Cunha et al., 2019c). Considera-se que a principal via de

transmissão aconteça pela inalação de aerossóis contaminados, no decorrer de contatos sociais diretos e próximos entre os animais (Cunha et al., 2012; Campbell et al., 2019; Borham et al., 2022; Mtetwa et al., 2022).

Os processos de transmissão, tanto intra como interespecíficos, podem ocorrer de duas formas: direta ou indiretamente. A transmissão direta refere-se ao contacto físico ou de grande proximidade entre indivíduos (L. A. White et al., 2017). Casos em que um hospedeiro infetado expira, tosse ou espirra e aerossóis são absorvidos diretamente por um hospedeiro não infetado, são exemplos de interações diretas que podem levar à transmissão de agentes patogénicos (Kaneene & Pfeiffer, 2006).

Por sua vez, a transmissão indireta ocorre quando indivíduos usam o mesmo espaço em momentos diferentes, servindo o ambiente partilhado como mediador do processo de transmissão (Cowie et al., 2016). Especificamente, pode suceder-se perante o consumo de carcaças infetadas (Fitzgerald & Kaneene, 2013; Carrasco-Garcia et al., 2018) ou quando um hospedeiro não infetado entra em contacto com matrizes ambientais contaminadas, tais como pastagens, alimentos, água ou solos, como consequência da excreção e transferência para o ambiente de material infeccioso, decorrente da utilização prévia por indivíduos infetados (Santos et al., 2015; Barasona et al., 2017). Têm vindo a ser cada vez mais os estudos relacionados com a contaminação, infecciosidade e sobrevivência ambientais de micobactérias do CMT, porém os seus resultados permanecem bastante variáveis (A. C. Pereira et al., 2020). Uma revisão da literatura identificou estimativas do tempo de sobrevivência ambiental de *M. bovis*, as quais variaram entre nenhuma recuperação de *M. bovis* à sua recuperação após 730 dias, em diferentes tipos de substratos e localizações geográficas (ver Kukielka et al., 2013). Apesar da falta de precisão, resultante das dificuldades e limitações no diagnóstico do tempo de sobrevivência ambiental bacteriana, a sua variação parece estar relacionada com as condições ambientais, nomeadamente com a temperatura, humidade, radiação ultravioleta e pH (Rodríguez-Hernández et al., 2016; Barasona et al., 2017; A. C. Pereira et al., 2020). Ademais, é reconhecido que as micobactérias tendem a ser resistentes a condições ambientais adversas, como demonstrado por Fine et al. (2011).

As interações entre a fauna selvagem e a pecuária têm-se mostrado como um dos principais promotores na manutenção da TB, particularmente em sistemas agroflorestais (Payne et al., 2017; Reis et al., 2021). Investigações científicas em diferentes contextos epidemiológicos (e.g. Espanha, França, EUA) sugerem que as interações diretas interespecíficas entre hospedeiros de TB são escassas,

comparativamente à ocorrência de interações indiretas (Drewe et al., 2013; Kukielka et al., 2013; Carrasco-Garcia et al., 2016; Cowie et al., 2016). Porém, ambas tendem a ocorrer com maior frequência em locais com recursos disponíveis, principalmente em áreas de alimentação e pontos hídricos (Carrasco-Garcia et al., 2016; Martínez-Guijosa et al., 2021). Esta utilização partilhada no espaço e/ou no tempo de determinados recursos na interface fauna selvagem-pecuária tem sido especialmente favorecida pelo crescimento populacional e expansão territorial de algumas espécies selvagens, como também pela sobreposição de habitats entre estas e os animais domésticos criados em regime extensivo (Gortázar et al., 2006, 2007). Deste modo, estes locais de convergência e concentração animal conduzem a um aumento na probabilidade de transmissão e circulação de *M. bovis* (Barasona et al., 2017).

Outros fatores de risco promovem a interação intra e interespecífica entre indivíduos, em virtude das consequentes transformações na distribuição, agregação, densidade e comportamento das espécies (A. C. Pereira et al., 2020; Reis et al., 2021). É o caso de fatores ambientais, alusivos à influência das condições climáticas e da estrutura e configuração dos habitats, e de fatores socioculturais, relacionados, por exemplo, com a interferência humana, segundo práticas de manejo que incluam alimentação suplementar, bebedouros artificiais, translocação de populações selvagens e movimentação de animais domésticos entre rebanhos (Gortázar et al., 2012; Fitzgerald & Kaneene, 2013; Gortázar & Boadella, 2014; Carrasco-Garcia et al., 2016).

1.5 – TB no contexto ibérico

Na Península Ibérica, acredita-se que a TB seja mantida por uma complexa comunidade multi-hospedeira composta pelos seguintes animais domésticos criados em regime extensivo – bovinos, caprinos (*Capra aegagrus hircus*), suínos (*Sus scrofa domesticus*) e ovinos (*Ovis aries*) – e pelos seguintes animais selvagens – javali, veado, gamo (*Dama dama*) e texugo (Gortázar et al., 2015a; A. C. Pereira et al., 2020; Santos et al., 2020, 2022). Para além das espécies referidas, foi também identificada a presença de *M. bovis* no corço (*Capreolus capreolus*), muflão (*Ovis aries*), fuinha (*Martes foina*), geneta (*Genetta genetta*), lince-ibérico, lontra (*Lutra lutra*), raposa (*Vulpes vulpes*) e sacarrabos (*Herpestes ichneumon*) (Matos et al., 2013, 2014b; Gortázar & Boadella, 2014). Apesar de ter sido confirmada a suscetibilidade à TB destas espécies, são desconhecidas as potenciais contribuições na transmissão da doença. Por outro lado, está cada vez mais documentada a relevância epidemiológica do javali

e do veado na manutenção da TB no panorama ibérico, sendo descritos como hospedeiros reservatório, como anteriormente mencionado (Cunha et al., 2012; Madeira et al., 2017; Reis et al., 2020; Santos et al., 2022).

Portugal tem um programa nacional de erradicação da TB no gado bovino em curso desde 1987 (Cunha et al., 2019c). Atualmente, este programa consiste na realização de testes imunológicos de controlo rotineiros para a deteção de bovinos infetados, seguida do abate sanitário dos efetivos considerados clinicamente suspeitos de TB, em conjunto com uma inspeção veterinária oficial (European Commission, 2015; S. Gonçalves et al., 2022). Foram ainda aplicadas medidas complementares, como a realização de testes de pré-movimento e subsequente rastreamento dos bovinos, a notificação e classificação sanitária obrigatórias dos efetivos e regiões, e a sensibilização dos intervenientes envolvidos (European Commission, 2015; Cunha et al., 2019c).

Para além dos esforços mencionados dirigidos ao gado bovino, em 2011 a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), através da publicação do Edital nº1/2011, definiu a “Área Epidemiológica de Risco para a Tuberculose dos Animais de Caça Maior”, com o objetivo de monitorizar e controlar a transmissão de TB por e em espécies de caça maior (DGAV, 2011). Esta área compreende os concelhos das unidades territoriais das regiões do Centro e Alentejo, estendendo-se ao longo da fronteira com Espanha ([Figura 1](#)) (Cunha et al., 2019c). A aplicação do Edital obriga a medidas específicas dirigidas à avaliação sanitária de ungulados cinegéticos caçados (DGAV, 2011). A sua emissão surgiu no seguimento da emergência da TB em ungulados selvagens, assente em evidências crescentes de infeção em javalis e veados, e no reconhecimento da propagação da doença a partir do núcleo de alta prevalência no centro-sudoeste da Península Ibérica (Santos et al., 2009; Cunha et al., 2011, 2019c; Vieira-Pinto et al., 2011). Complementarmente, nessa mesma área, foram registadas prevalências mais elevadas de TB no gado bovino, abrindo a suspeita de transmissão entre bovinos e fauna selvagem (Cunha et al., 2012).

A aplicação abrangente e rigorosa destes instrumentos conduziu a uma melhoria sustentada nos indicadores epidemiológicos, isto é, nas taxas de incidência (animal) e prevalência (animal e em exploração) (Cunha et al., 2019c). Em 2012, a região do Algarve foi reconhecida como uma área sem transmissão de TB, tendo-lhe sido atribuída o estatuto de região oficialmente indemne de TB e, conseqüentemente, aplicado um plano de vigilância específico para a manutenção deste estatuto (Cunha et al., 2019c). No entanto, continua a verificar-se uma forte heterogeneidade regional nas taxas de

prevalência no resto do país, com destaque na região do Alentejo, a qual apresenta anualmente os valores mais elevados a nível nacional (DGAV, 2023).

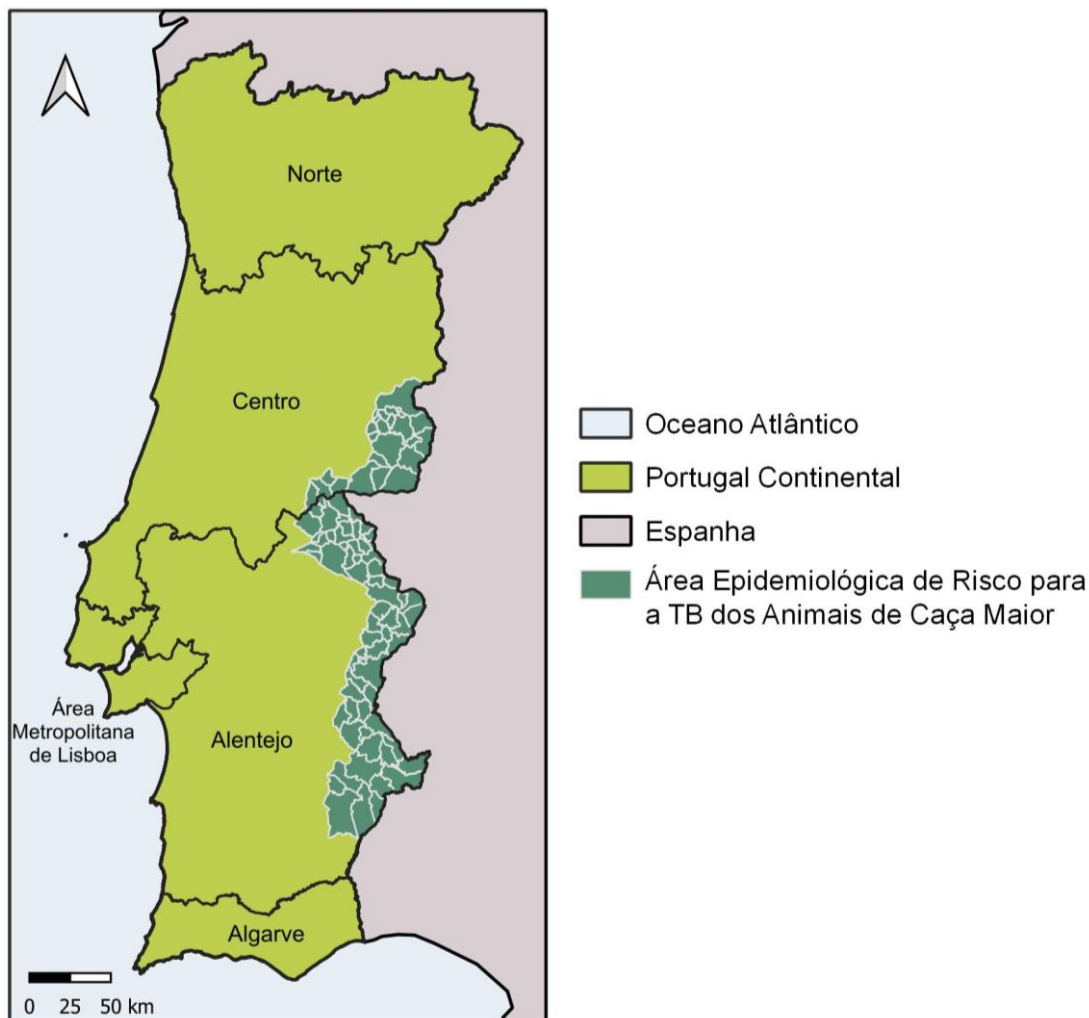


Figura 1 – Localização da Área Epidemiológica de Risco para a Tuberculose dos Animais de Caça Maior (Edital nº1/2011). Indicação das cinco regiões de Portugal Continental, de acordo com Nomenclatura das Unidades Territoriais para Fins Estatísticos (NUTS) II: Norte, Centro, Área Metropolitana de Lisboa, Alentejo e Algarve. Partição ao nível da freguesia da Área Epidemiológica de Risco para a TB dos Animais de Caça Maior.

Os contrastes geográficos podem estar relacionados com diferenças no tamanho dos rebanhos e nas práticas de manejo, como também com a presença e abundância de animais selvagens infetados com TB (Cunha et al., 2011; Triguero-Ocaña et al., 2019). Nas regiões mais afetadas predominam: (1) os rebanhos de maior dimensão; (2) a criação de animais domésticos em regime extensivo e em grandes áreas de pastoreio, onde as propriedades pecuárias se sobrepõem com habitats de fauna selvagem; e (3) a sobreabundância de ungulados amplamente distribuídos e/ou geridos artificialmente

para fins de caça, nomeadamente o javali e o veado, resultando na coexistência das atividades de exploração pecuária e cinegética (Cunha et al., 2011; Reis et al., 2020). Para além disso, na Península Ibérica, o gradiente norte-sul na prevalência da TB na fauna selvagem pode refletir um gradiente de agregação de hospedeiros, mediado pelo clima, particularmente durante a época seca (Gavier-Widén et al., 2012; Abrantes et al., 2021).

Estudos moleculares de isolados de *M. bovis* de bovinos, javalis e veados confirmam a transmissão entre estas espécies na Península Ibérica (Duarte et al., 2008, 2010; Cunha et al., 2012; Madeira et al., 2017). Por outro lado, já foi comprovado que populações de javalis e veados, que ocorram em altas densidades e nas circunstâncias particulares dos ambientes mediterrânicos, são capazes de manter a circulação de *M. bovis* na ausência de gado doméstico e de outros hospedeiros selvagens (Gortázar et al., 2011). Adicionalmente, foi evidenciada a disseminação de forma endémica de TB em populações de ungulados selvagens e domésticos, com elevada prevalência em determinadas regiões, nomeadamente ao longo da fronteira luso-espanhola, nos territórios de Idanha-a-Nova (região Centro) e Moura-Barrancos (região do Alentejo), sendo estes considerados focos de TB a nível nacional (Cunha et al., 2012, 2019a; Barasona et al., 2017; Reis et al., 2020).

1.6 – Objetivos

Para que seja possível desenvolver e otimizar estratégias eficazes para o controlo direcionado da TB, é necessário compreender as várias dimensões desta doença, através da realização de estudos nas diferentes áreas relevantes. Neste sentido, é essencial a caracterização e quantificação da composição das diferentes comunidades hospedeiras, em conjunto com a descrição, numa perspetiva eco-epidemiológica, dos padrões espaciais e temporais das interações nas interfaces fauna selvagem-pecuária, com potencial relevância para as dinâmicas da TB. Este conhecimento é particularmente importante em regiões com elevada prevalência de TB e onde ocorram hospedeiros reservatório, dado o papel reconhecido que desempenham na transmissão da doença.

Em vista disso, o presente trabalho tem como principal objetivo contribuir para a identificação e compreensão de uma comunidade multi-hospedeira de mamíferos (ungulados e carnívoros), particularmente a partir da quantificação espaço-temporal de interações entre bovinos e espécies selvagens, numa região com elevada prevalência de TB em animais de pecuária e selvagens.

Especificamente, pretende-se:

- (1) Caracterizar a comunidade de mamíferos selvagens na área de estudo;
- (2) Avaliar a influência de diferentes recursos atrativos e habitats na frequência de visitas de diferentes espécies suscetíveis à TB;
- (3) Quantificar os padrões de interações (diretas e indiretas) entre o gado bovino e as espécies selvagens suscetíveis à TB mais frequentes na comunidade;
- (4) Avaliar a influência de diferentes recursos atrativos, habitats e tipos de hospedeiros na frequência de interações indiretas entre o gado bovino e as espécies selvagens suscetíveis à TB mais frequentes na comunidade.

2 – MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 – Área de estudo

Este estudo foi realizado na Herdade da Coitadinha, localizada no município de Barrancos (distrito de Beja, região do Alentejo, 38° 10'28"N 7° 02'18"W), no sudeste de Portugal (Figura 2a). Esta propriedade compreende uma área de, aproximadamente, 1000 hectares e é delimitada, em grande parte da sua extensão, pela ribeira de Múrtega a sul e pelo rio Ardila a norte, sendo este último o limite fronteiriço com Espanha (Figura 2b). A este é contígua com três outras propriedades locais. Esta área insere-se numa das regiões epidemiológicas de risco de TB definida pela DGAV em 2011 (Edital n.º 1/2011), justificada pela maior prevalência de infeções por *M. bovis* em gado doméstico e animais de caça maior (Cunha et al., 2011, 2019c). Os dados mais recentes da DGAV (2018), alusivos a 2017, indicaram uma prevalência e incidência em exploração de 1,24% e 0,88%, respetivamente, na região do Alentejo. Embora na Herdade da Coitadinha não tenha sido registado nenhum caso de incidência de TB no gado bovino entre 2017 e 2021, foi conhecida a ocorrência de bovinos infetados em outras propriedades locais durante o período de amostragem (2021).

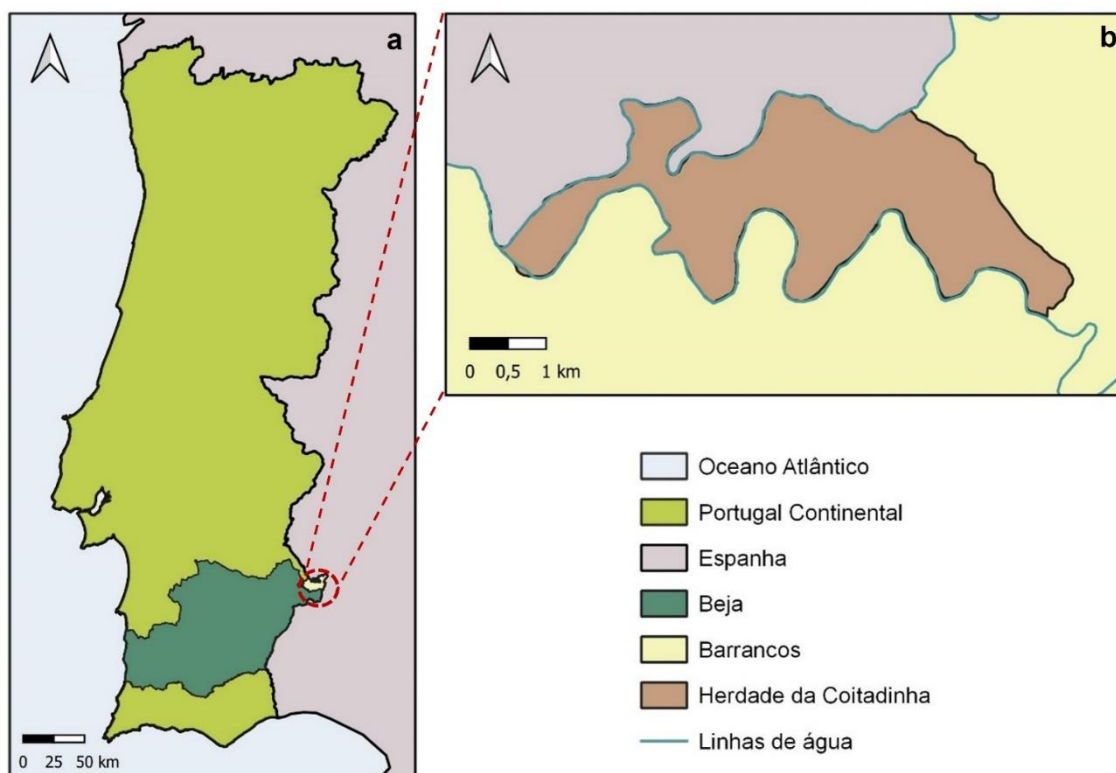


Figura 2 – Localização da área de estudo (Herdade da Coitadinha).

a) Localização da área de estudo no contexto nacional: concelho de Barrancos, localizado no distrito de Beja, em Portugal Continental. **b)** Delimitação geográfica da área de estudo: Herdade da Coitadinha, inserida no concelho de Barrancos e delimitada a norte pelo Rio Ardila, o qual faz fronteira com Espanha, e a sul pela Ribeira de Múrtega.

Em oposição à paisagem predominante do Alentejo, Barrancos apresenta um relevo acidentado, com declives acentuados (Município de Barrancos & Unidade de Ação Sociocultural, 2019). A Herdade da Coitadinha é caracterizada maioritariamente por florestas densas, matos e montados, sendo a azinheira (*Quercus rotundifolia*) o povoamento dominante nos diferentes habitats (Figura 3). Também se verificam algumas áreas agrícolas de olival tradicional, zonas de pastagem, e ainda linhas e pontos de águas permanentes e temporários (Figura 3). O padrão de uso do solo mencionado também se observa na envolvência da área de estudo. Relativamente ao montado, este é um ecossistema seminatural exclusivo da região mediterrânica e emblemático da Península Ibérica, onde as práticas agro-silvo-pastoris promovem a heterogeneidade da paisagem, criando padrões complexos de habitat e de disponibilidade de recursos (Pinto-Correia & Voss, 2005).

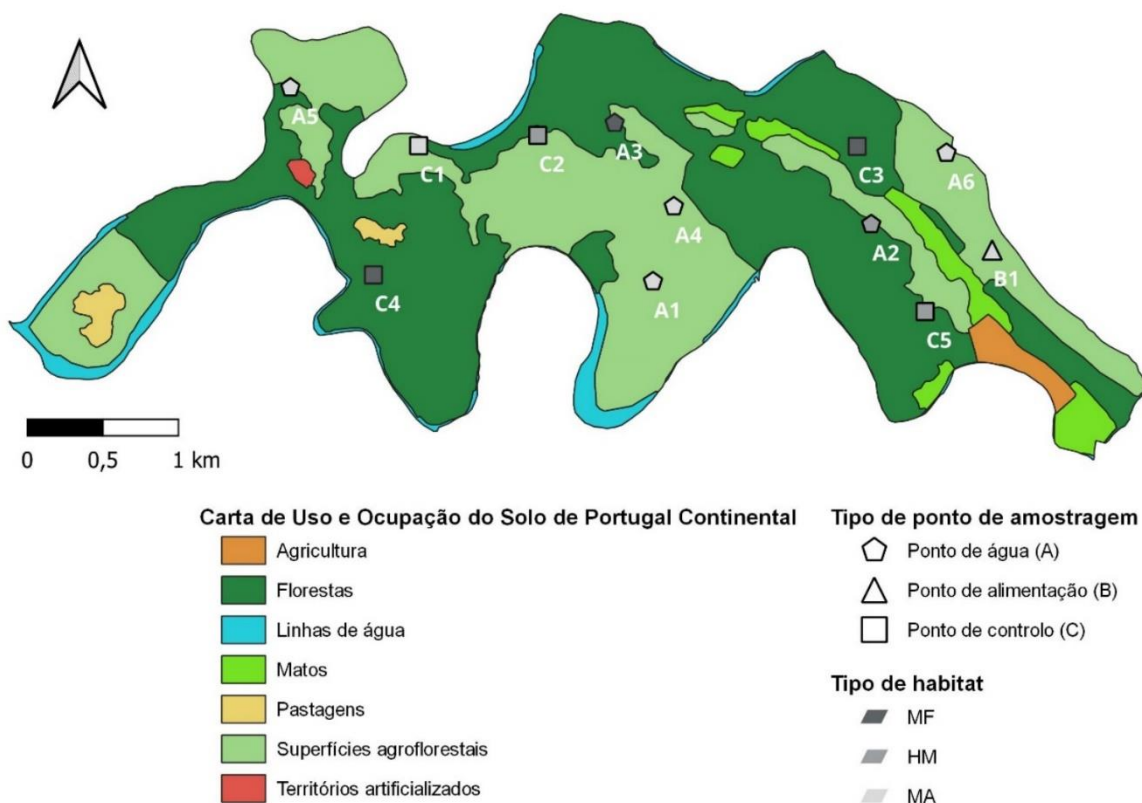


Figura 3 – Caracterização do uso e ocupação do solo na área de estudo através da Carta de Uso e Ocupação do Solo de Portugal Continental para o ano de 2018 (Direção-Geral do Território, 2019). Distribuição dos pontos de amostragem pela área de estudo. As figuras distinguem os diferentes tipos de pontos de amostragem e as cores distinguem os diferentes tipos de habitats classificados no âmbito deste trabalho.

(MF – Montado Fechado com matos; HM – Habitat Misto; MA – Montado Aberto sem matos)

A área de estudo insere-se num clima mediterrânico, definido por cerca de 4 meses consecutivos de *stress* hídrico durante a época mais quente do ano, na qual se regista uma temperatura média máxima de 33,3°C durante o mês de julho (Instituto Português do Mar e da Atmosfera [IPMA], 2022). Nessa altura, verifica-se uma menor disponibilidade de recursos hídricos e alimentares para várias espécies (Barasona et al., 2014b). O inverno é frio e chuvoso, atingindo uma temperatura média mínima de 5,4°C em janeiro e valores médios de precipitação total máxima equivalentes a 97,1 mm no mês de dezembro (IPMA, 2022). A precipitação total anual é de 555 mm, que ocorre sobretudo entre o outono e a primavera (IPMA, 2022). Os níveis de precipitação afetam de forma significativa a produtividade das pastagens e a sua irregularidade (intra e inter-anual) reflete a flutuação na disponibilidade de alimento para a fauna (Fonseca, 2004).

Na Herdade da Coitadinha dá-se a criação de gado bovino em regime extensivo das raças Mertolenga e Garvonesa, com um encabeçamento aproximado de 133 e 30 vacas adultas, respetivamente. Os bovinos ocorrem em grande parte da extensão da propriedade, dando-se, ocasionalmente, a rotação entre parcelas de pastagem. Estas parcelas são cercadas, tornando difícil o seu atravessamento por bovinos, todavia, são permeáveis a espécies selvagens. Para além da agropecuária, a caça maior tem um importante papel económico e estruturador nesta propriedade, assim como na região, em que ungulados selvagens ocorrem paralelamente com a gestão dos bovinos. Especificamente na área de estudo, as atividades de cariz cinegético existentes são a espera ao javali e as montarias, embora mais pontuais, direcionadas ao javali e ao veado. Ambas as espécies ocorrem abundantemente na região, a qual corresponde a um refúgio histórico do javali e contem uma das duas maiores populações de veado em Portugal (Vingada et al., 2010; Cunha et al., 2019b).

Relativamente à fauna selvagem, no que se refere a mamíferos ungulados e carnívoros relevantes ou potencialmente relevantes no contexto da TB, encontram-se documentados na área de estudo 14 espécies (ordem Artiodactyla (n=5) e Carnivora (n=9) (Bencatel et al., 2019) ([Anexo A](#)). Todas as espécies de carnívoros com ocorrência identificada nesta área correspondem a mesocarnívoros, isto é, carnívoros de médio e pequeno porte (<15kg), sendo que 10 das 14 espécies de mesocarnívoros que residem em Portugal estão associadas a habitats de montado (Santos-Reis & Correia, 1999; Roemer et al., 2009). Entre estas, o gato-bravo (*Felis silvestris*), o lince-ibérico e o toirão (*Mustela putorius*) apresentam um estatuto de conservação preocupante a nível nacional, estando classificados como “Em Perigo” pelo Livro Vermelho dos Mamíferos de Portugal Continental (Mathias et al., 2023) ([Anexo A](#)).

2.2 – Armadilhagem fotográfica

A amostragem foi realizada de 21 de abril a 21 de outubro de 2021, sendo restrita à época seca, de acordo com o índice de seca PDSI (*Palmer Drought Severity Index*) (Agência Portuguesa do Ambiente [APA], 2023; IPMA, 2023). Devido a limitações logísticas, não foi possível incluir um período de amostragem referente à época húmida. Recorreu-se à metodologia de armadilhagem fotográfica para obter dados de frequência de ocorrência de bovinos, e de ungulados e carnívoros selvagens presentes na área de estudo. A amostragem foi feita através de câmaras digitais com sensores infravermelhos passivos, acionadas por objetos em movimento que apresentassem uma temperatura superficial contrastante com a do ambiente de fundo (Apps & McNutt, 2018). Este método é considerado não invasivo (Pauli et al., 2010) e tem sido amplamente empregue em estudos de ecologia aplicada, tendo um foco mais recente no âmbito de interações ecológicas no contexto de transmissão de agentes patogénicos, bem como de efeitos comportamentais (Payne et al., 2017; Rasambainarivo et al., 2017; Varela-Castro et al., 2021).

De forma a selecionar os pontos de amostragem, sobrepôs-se uma grelha espacial de 1x1 km sobre a área de estudo (Monterroso et al., 2014b; Santos et al., 2018; Curveira-Santos et al., 2019; Kumar et al., 2021; Zanni et al., 2021). Após o reconhecimento e avaliações prévias da área de estudo, foram selecionados, primeiramente, os tipos de pontos de amostragem com recursos atrativos e, como tal, favoráveis à agregação de espécies (pontos de água e pontos de alimentação), que se localizassem em quadrículas distintas e separados entre si por uma distância mínima de 500 m, de forma a assegurar a independência espacial dos registos (Rasambainarivo et al., 2017; Triguero-Ocaña et al., 2020). Posteriormente, foram estipulados os pontos de controlo (locais sem recursos-chave e, por isso, menos prováveis à agregação de espécies) nas células vazias da grelha, tendo-se utilizado o centroide das células como forma sistemática na sua seleção. Deste modo, foi definido um total de 12 pontos de amostragem na área de estudo, divididos por três tipos: seis pontos de água, um ponto de alimentação e cinco pontos de controlo (Figuras 3 e 4). Todos os pontos de água corresponderam a charcos naturais, com dimensões que variaram entre 0 m² (porém com solo húmido) e 1661 m² ao longo do período de amostragem. O teor de água foi estimado com base na área coberta por água, utilizando indicadores *in situ* para obter estimativas durante as visitas de campo. Por sua vez, o ponto de alimentação localizava-se num local com um comedouro, permitindo a colocação de alimento suplementar (feno) para o gado bovino.



Figura 4 – Exemplificação dos diferentes tipos de pontos de amostragem: a) Ponto de água; b) Ponto de alimentação; c) Ponto de controlo.

Os pontos de amostragem foram distribuídos proporcionalmente, de modo a refletir a representatividade real de três tipos de habitats distintos, definidos no decorrer do estudo: montado fechado com matos (MF), montado aberto sem matos (MA) e habitat misto (HM; presença dos dois anteriores) (Figura 3). O MF assemelha-se a habitats naturais mediterrânicos, com povoamentos concentrados de azinheira e sub-bosque bem desenvolvido e denso, com baixos ou ausentes níveis de pastoreio. Por outro lado, o MA corresponde a um habitat intervencionado pelo humano, com povoamentos de azinheira esparsos e pouco densos, e sub-bosque reduzido ou ausente (por efeito da pressão de pastoreio e/ou atividades de desmatção), e ainda com pastagens naturais e/ou cultivadas. Por sua vez, os pontos classificados como HM tinham a presença simultânea dos dois habitats anteriores. A caracterização do MF e do MA foi baseada nas descrições apresentadas por Curveira-Santos et al. (2017) e adaptada para este estudo.

Em cada ponto de amostragem foi instalada uma câmara de armadilhagem fotográfica (modelos Bushnell Trophy Cam HD Aggressor e Reconyx Hyperfire) em locais potencialmente acessíveis a bovinos e espécies selvagens, a fim de maximizar a detetabilidade dos mesmos. Cada câmara foi colocada em suportes verticais, como troncos de árvores, vedações e estacas artificiais, a uma altura de 30-40 cm do solo. Foram programadas para operar durante 24 horas por dia e para tirar três fotografias consecutivas por disparo, com um tempo de recuperação de 30 segundos entre disparos sucessivos. A data e a hora encontravam-se exibidas em cada fotografia. Em média, a cada 15 dias, foi feita uma substituição das baterias e cartões de memória.

2.3 – Organização e processamento dos dados

As imagens obtidas foram armazenadas em pastas separadas por ponto de amostragem numa base de dados digital e, posteriormente, triadas, eliminando-se as

fotografias desfocadas, impercetíveis e sem espécies de relevância para o estudo. As espécies selvagens consideradas foram ungulados e carnívoros, reconhecidos ou não como hospedeiros de TB. No que diz respeito a animais domésticos, o único grupo de interesse foi o gado bovino.

Todas as informações relativas a cada registo fotográfico com importância para o presente trabalho foram registadas e organizadas numa base de dados no programa Microsoft Office Excel (versão 2016). As informações em questão eram relativas: à espécie identificada, após observação individual de cada imagem; à data (dd/mm/aa) e hora inicial e final (hh:mm:ss) de cada série de imagens; à identificação do ponto de amostragem; ao tipo de ponto de amostragem (água, alimentação e controlo); ao tipo de habitat (MF, HM e MA); ao tipo de hospedeiro; e à possibilidade de acesso do gado bovino.

Para cada ponto de amostragem foi caracterizado o tipo de habitat dominante na sua envolvente e a respetiva verificação através da interpretação visual no campo. Esta caracterização foi feita a partir da avaliação do habitat com maior proporção em *buffers* circulares de 250 m de raio em redor de cada ponto de amostragem, realizados com base na Carta de Uso e Ocupação do Solo de Portugal Continental para o ano de 2018 (Direção-Geral do Território, 2019) no *software* QGIS (versão 3.28.0) (QGIS Development Team, 2009). Relativamente ao papel eco-epidemiológico no contexto ibérico das espécies em estudo, consideraram-se dois tipos de hospedeiros possíveis: hospedeiros reservatório (espécies reconhecidas com este estatuto – javali e veado (A. C. Pereira et al., 2020)) e hospedeiros suscetíveis (espécies que apresentam casos reportados de TB) ([Anexo A](#)). Por último, o acesso de gado bovino nos diferentes pontos de amostragem foi reconhecido através da observação de bovinos e indícios de presença recentes no campo (dejetos e pegadas), complementado com a comunicação pessoal com os colaboradores da Herdade da Coitadinha sobre a movimentação destes animais.

2.4 – Análise estatística

Após a organização dos dados, foram realizadas estatísticas descritivas para relatar os resultados dos registos das câmaras fotográficas no Excel. De seguida, a base de dados foi integrada na plataforma de linguagem R (versão 1.1.463) (R Core Team, 2022), a partir da qual se realizou a restante análise estatística e a construção de gráficos, recorrendo-se à utilização dos pacotes “dplyr” (Wickham et al., 2022), “lattice”

(Sarkar, 2008), “ggplot2” (Wickham, 2016), “overlap” (Ridout & Linkie, 2009), “activity” (Rowcliffe et al., 2014), “MuMIn” (Burnham & Anderson, 2002), “lme4” (Bates et al., 2015), “car” (Fox & Weisberg, 2019) e “MASS” (Venables & Ripley, 2022). Complementarmente, utilizou-se o *software* QGIS para a construção, em SIG (Sistema de Informação Geográfica), de um mapeamento georreferenciado da área de estudo e da localização dos pontos de amostragem, bem como para a produção de mapas.

2.4.1 – Quantificação e Modelação das Visitas Independentes

Para responder ao 1º objetivo deste trabalho, foram aplicados critérios aos dados para definir as visitas independentes (VI’s) das espécies, a fim de evitar a contagem múltipla do mesmo evento de deteção entre imagens consecutivas de indivíduos da mesma espécie. Deste modo, só foram consideradas como VI’s para uma dada espécie numa mesma câmara, as fotografias com mais de 15 minutos de intervalo temporal entre si (Kukielka et al., 2013; Martínez-Guijosa et al., 2021). A comunidade foi caracterizada ao nível da sua composição e da frequência de VI’s ocorrentes.

Por sua vez, para ir de encontro ao 2º objetivo, calculou-se a taxa de VI’s para o gado bovino, assim como para as espécies selvagens reconhecidas como suscetíveis à infeção no contexto ibérico ([Anexo A](#)). Esta taxa correspondeu ao número de VI’s de cada espécie por ponto de amostragem e por semana. Após a verificação da existência de valores extremos nas variáveis analisadas, foram aplicados modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para testar o efeito do tipo de ponto de amostragem e do tipo de habitat (variáveis explicativas) na taxa de VI’s de cada espécie selecionada (variável resposta). As espécies selecionadas para modelação foram, para além do gado bovino, as espécies selvagens que apresentaram taxas de VI’s mais frequentes, isto é, aquelas com uma taxa de ausências semanais por ponto de amostragem inferior a 75% das observações da matriz de dados. Complementarmente, o ponto de alimentação foi excluído desta análise, dado que durante o período de amostragem nunca foi colocado alimento suplementar nas devidas instalações.

Para cada GLMM foi assumida uma distribuição *Poisson* (frequentemente utilizada para expressar a probabilidade de ocorrência de um determinado número de eventos num intervalo fixo de espaço ou tempo) (Hayat & Higgins, 2014; Turney, 2022) e considerou-se o ponto de amostragem como fator aleatório, de forma a considerar múltiplos registos pertencentes a um mesmo local ao longo do período de amostragem, abrangendo, deste modo, uma potencial dependência temporal e espacial.

Adicionalmente, uma vez que o tempo de amostragem de cada câmara variou durante o período de estudo devido a imprevistos (e.g. descarga das baterias e cartões de memória cheios), foi incorporado nos modelos o logaritmo do esforço de amostragem semanal. O esforço de amostragem semanal foi calculado através da soma do número de horas operacionais por semana de cada câmara, sendo que “horas operacionais” equivalem às horas em que cada câmara esteve ativa e a monitorizar o ponto de amostragem correspondente. Para avaliar se existiam problemas de multicolinearidade entre as variáveis explicativas, calculou-se o fator de inflação da variância ($VIF \leq 4$) (Zuur et al., 2010).

Os modelos com melhor poder explicativo foram obtidos por comparação do Critério de Informação de Akaike (AIC), aplicando a metodologia de Inferência de Multi-Modelo (Burnham & Anderson, 2002; Symonds & Moussalli, 2011). Para uma mesma espécie, nos casos em que se verificaram modelos com um $\Delta AIC < 2$ em relação ao melhor modelo, calculou-se e apresentou-se o modelo médio, a partir do qual se realizaram inferências (Burnham & Anderson, 2002; Bandeira et al., 2018). O modelo médio corresponde à média ponderada (de acordo com a adequação aos dados) de um conjunto de modelos candidatos semelhantes. A qualidade de ajuste dos modelos foi avaliada através da análise do padrão de resíduos dos mesmos e foram consideradas como significativas as variáveis cujo intervalo de confiança a 95% dos coeficientes não incluísse o zero. Por fim, com o intuito de obter uma estimativa do coeficiente de determinação de cada modelo médio através do R^2 de Nakagawa e Schielzeth (Johnson, 2014; Payne et al., 2017), calculou-se a média ponderada da proporção de variância explicada de cada modelo integrado na construção dos respetivos modelos médios.

2.4.2 – Quantificação e Modelação das Interações Diretas e Indiretas

De modo a responder ao 3º objetivo, obteve-se o número de interações diretas e indiretas interespecíficas. Uma interação direta foi registada sempre que se verificou a presença de indivíduos de diferentes espécies-alvo na mesma fotografia. Adicionalmente, para compreender melhor a probabilidade de interações diretas, calculou-se para toda a área de estudo a sobreposição temporal (e respetivos coeficientes) entre o padrão de atividade média diária do gado bovino e das espécies selvagens que interagiram diretamente com este. O coeficiente de sobreposição temporal mede a extensão da sobreposição entre duas estimativas de densidade de *kernel*, sendo uma medida quantitativa que varia entre 0 (sem sobreposição) e 1

(padrões de atividade idênticos) (Ridout & Linkie, 2009). Dado que o tamanho da menor amostra de observações utilizada foi superior a 75 registros, utilizou-se o estimador $\hat{\Delta}_4$ (Meredith & Ridout, 2014).

Por sua vez, uma interação indireta foi definida, para um dado ponto de amostragem, como uma VI do gado bovino seguida de uma VI de uma espécie selvagem, ou vice-versa, dentro de uma janela temporal crítica (JTC) pré-estabelecida. A JTC está relacionada com a sobrevivência ambiental de *M. bovis*, em que um determinado hospedeiro pode entrar em contacto com o agente patogénico depositado no ambiente durante um certo intervalo de tempo. Especificamente, utilizou-se uma JTC de três dias, previamente aplicada no contexto da TB em sistemas mediterrâneos, com foco nos períodos estivais/secos, tendo em conta as similaridades da região e do período amostral com o presente estudo (ver Kukiela et al., 2013).

Dado o número reduzido de observações correspondentes às interações diretas recolhidas, só foram aplicados modelos às interações indiretas. Para além disso, na quantificação e modelação das interações indiretas voltou a excluir-se o ponto de alimentação e consideraram-se apenas os dados referentes aos pares de espécies compostos entre o gado bovino e as espécies selvagens suscetíveis à TB com maior número de VI's.

No seguimento do 4º objetivo, para determinar a potencial influência do tipo de ponto de amostragem, do tipo de habitat e do tipo de hospedeiro (variáveis explicativas) na taxa de interações indiretas (frequência de interações indiretas por ponto de amostragem e por mês; variável resposta) foi ajustado um GLMM com distribuição *Poisson* ao conjunto de dados definido. O fator aleatório voltou a ser o ponto de amostragem e, uma vez que a variável resposta foi calculada em termos mensais, o logaritmo do esforço de amostragem foi incluído nos modelos para esse período temporal como fator de correção. O restante protocolo de modelação das interações indiretas foi semelhante ao anteriormente descrito para os dados das VI's.

3 – RESULTADOS

O período de amostragem correspondeu a 184 dias e, em média, foram monitorizados, aproximadamente, 166 ± 16 dias por câmara. A amostragem originou, após triagem, 47 726 registos fotográficos.

As espécies-alvo identificadas corresponderam a bovinos, a ungulados selvagens (n=2: javali e veado) e a carnívoros selvagens (n=7: doninha (*Mustela nivalis*), fuinha, geneta, lontra, raposa, sacarrabos e texugo), resultando num total de 10 espécies capturadas pelas câmaras. Nos registos fotográficos excluídos verificou-se também a ocorrência na área de estudo da lebre-ibérica (*Lepus granatensis*; n=801 registos), coelho-bravo (*Oryctolagus cuniculus*; n=6), cão (*Canis lupus familiaris*; n=6), gato doméstico (*Felis catus*; n=6) e ouriço-cacheiro (*Erinaceus europaeus*; n=3).

3.1 – Quantificação das Visitas Independentes

Obteve-se um total de 4674 VI's, das quais mais de metade corresponderam a visitas do gado bovino (n=2464; 52,72%) (Figura 5, Anexo B). As espécies selvagens para as quais se registou maior número de VI's foram, por ordem decrescente: a raposa (n=597; 12,77%), o veado (n=561; 12,00%), o javali (n=331; 7,08%), o texugo (n=271; 5,80%) e o sacarrabos (n=260; 5,56%). A geneta e a fuinha manifestaram uma menor frequência de VI's (n=101; 2,16% e n=79; 1,69%, respetivamente), porém ocorreram de forma generalizada pela área de estudo (deteção de ambas em 75% dos pontos de amostragem). No caso da lontra e da doninha, as VI's registadas foram poucas (n=9; 0,19% e n=1; 0,02%, respetivamente) e espacialmente restritas a um número reduzido de pontos de amostragem (Figura 5, Anexo B).

O gado bovino não ocorreu em dois pontos de amostragem (C3 e C4), os quais apresentaram um número reduzido de VI's das espécies selvagens (Figura 6, Anexo B). Por sua vez, foram observadas espécies selvagens em todos os pontos de amostragem (Figuras 6 e 7, Anexo B). Os pontos com maior frequência total de VI's foram o A6 (n=1117), B1 (n=1040) e A4 (n=538), enquanto o C3 (n=70), C5 (n=56) e C4 (n=20) apresentaram os valores mais baixos (Figura 6, Anexo B). No que diz respeito às VI's exclusivas das espécies selvagens, verificaram-se frequências mais elevadas nos pontos A6 (n=585), A4 (n=409), C2 (n=238), A3 (n=233) e A5 (n=230) (Figura 7, Anexo B).

Considerando apenas os mamíferos selvagens, obteve-se uma riqueza média de $6 \pm 1,5$ espécies por ponto de amostragem (Figura 7, Anexo B). Os pontos que exibiram uma maior riqueza específica selvagem ($n=8$) corresponderam a três pontos de água (pontos de amostragem A3, A5, A6), os quais se encontram na zona centro-norte da área de estudo. Em oposição, outros três pontos de amostragem (pontos A1, B1, C5), assim como o ponto A2 registaram os menores níveis de riqueza de espécies selvagens ($n=4$ e $n=3$, respetivamente), todos localizados na zona sudeste da área de estudo. A raposa foi a única espécie selvagem registada em todos os pontos de amostragem (Figura 7, Anexo B).

Ao nível do tipo de ponto de amostragem, todas as espécies amostradas ocorreram nos pontos de água ($n=2965$, 63,44% face ao total de VI's), salvante a doninha, registada unicamente num ponto de controlo (Figuras 6 e 7, Anexo C). Cada uma dessas espécies ocorreu com maior frequência em pontos de água, exceto a geneta e a fuinha, que demonstraram uma frequência ligeiramente mais elevada de VI's nos pontos de controlo. O ponto de alimentação teve um total de 1040 VI's (22,25%), sendo que 976 corresponderam a VI's de bovinos e as restantes a VI's de quatro espécies (raposa: $n=54$; texugo: $n=6$; fuinha: $n=3$; geneta: $n=1$). O tipo de ponto menos visitado foi o ponto de controlo ($n=669$; 14,31%) (Figuras 6 e 7, Anexo C).

Relativamente ao tipo de habitat, foram registadas mais VI's no MA ($n=3558$; 76,12%), seguido do HM ($n=636$; 13,61%) e do MF ($n=480$; 10,27%) (Figura 6, Anexo C). Verificou-se uma maior ocorrência de todas as espécies no MA, à exceção da doninha, que teve a sua única VI no MF, e da geneta, que foi mais frequente também neste último tipo de habitat, embora tenha registado um valor muito próximo de VI's no MF e no MA (Figuras 6 e 7, Anexo C). Para além da doninha e da lontra, as restantes espécies foram detetadas nos três tipos de habitats. Todas as espécies ocorreram no MF (Figuras 6 e 7, Anexo C).

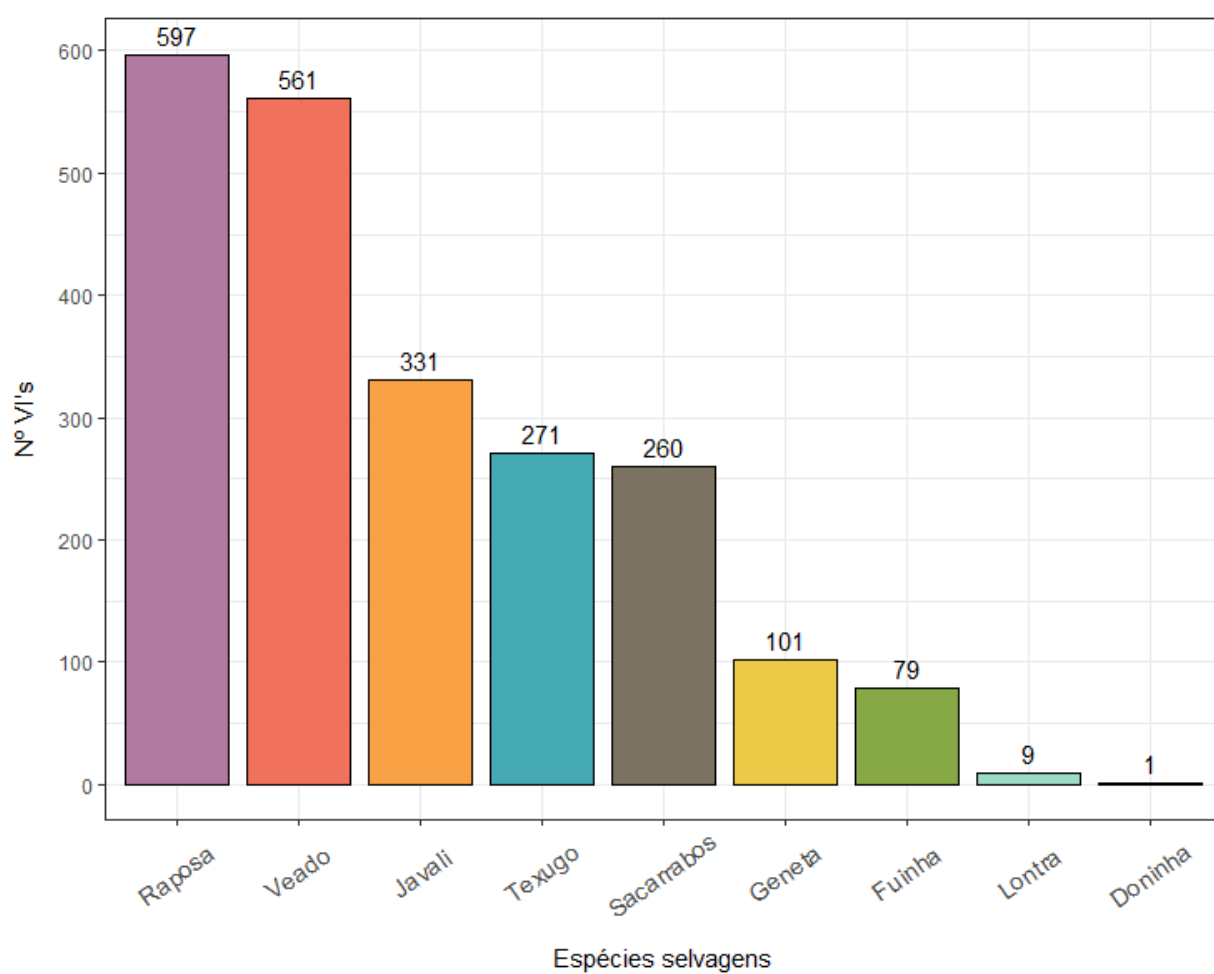


Figura 5 – Número total de VI's (indicado no topo de cada barra) de cada uma das espécies-alvo selvagens identificadas durante o período de amostragem.

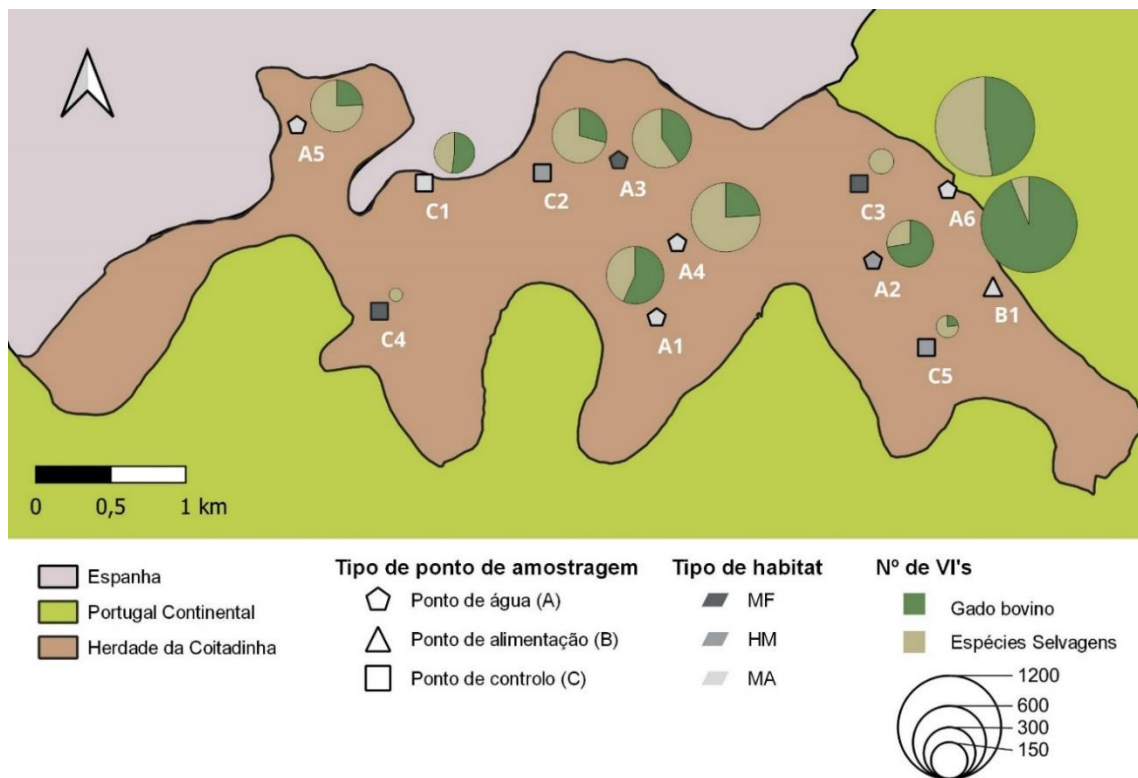


Figura 6 – Distribuição espacial na área de estudo das VI's do gado bovino e das espécies selvagens pelos pontos de amostragem.

(MF – Montado Fechado com matos; HM – Habitat Misto; MA – Montado Aberto sem matos)

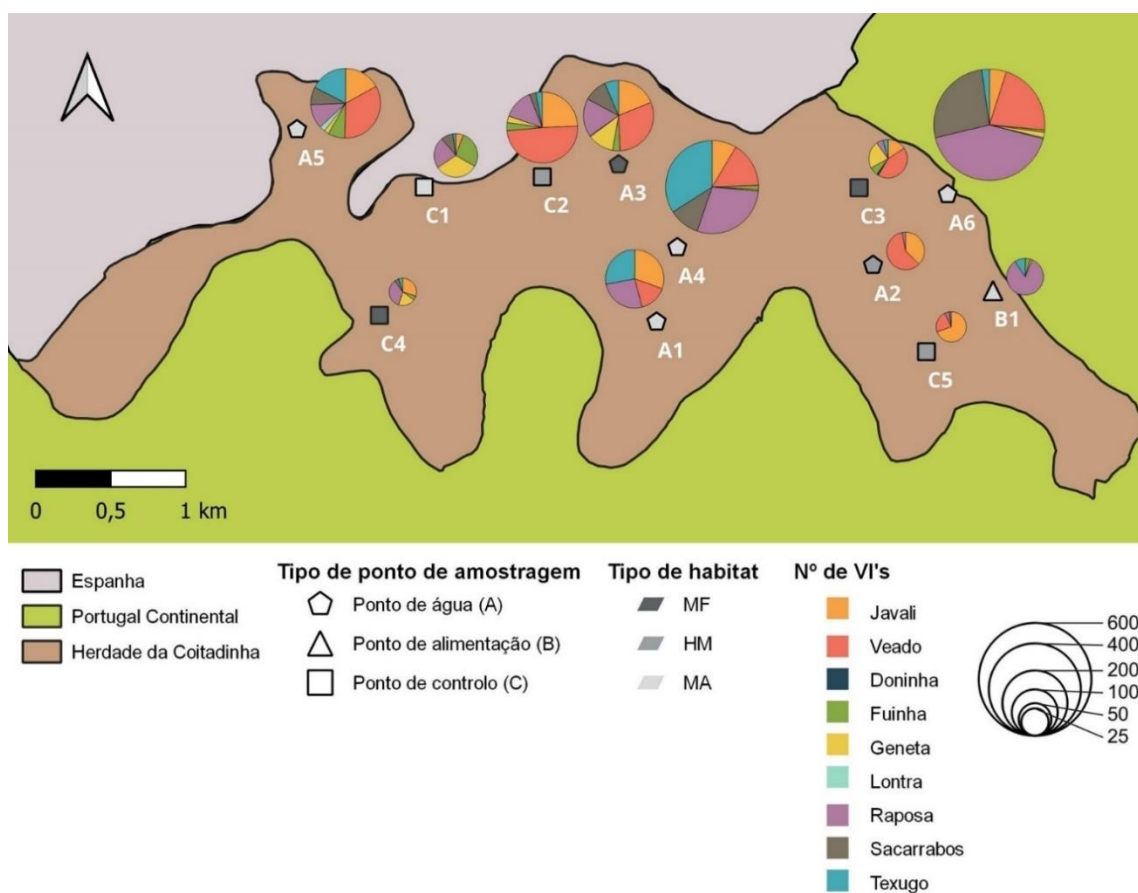


Figura 7 – Distribuição espacial na área de estudo das VI's de cada uma das espécies selvagens pelos pontos de amostragem.

(MF – Montado Fechado com matos; HM – Habitat Misto; MA – Montado Aberto sem matos)

3.2 – Modelação das Visitas Independentes

As espécies selvagens consideradas para análise que cumpriam os critérios definidos foram: o javali, o veado, a raposa e o texugo ([Anexo D](#)). Os resultados dos diferentes modelos mostraram que para todas as espécies analisadas, exceto para a raposa, as taxas de VI's estavam positivamente associadas aos pontos de água (javali: coef. = 0,75 [0,07 – 1,43 IC95%]; veado: coef. = 2,10 [0,24 – 3,96 IC95%]; texugo: coef. = 2,20 [0,56 – 3,84 IC95%]; gado bovino: coef. = 2,41 [0,33 – 4,49 IC95%]), refletindo um maior número de VI's neste tipo de ponto em comparação com os pontos de controlo ([Tabela 1](#)). Contudo, uma vez que o modelo médio ajustado aos dados do javali incluiu o modelo nulo, deve ser interpretado com cautela ([Anexo E](#)).

Os modelos do gado bovino e do javali permitiram inferir que a variável tipo de habitat teve um efeito significativo nas respetivas taxas de VI's. No caso dos bovinos, o modelo demonstrou que a taxa de VI's foi significativamente mais elevada no HM e no MA (coef. = 3,01 [0,39 – 5,63 IC95%] e coef. = 2,53 [0,09 – 4,97 IC95%], respetivamente), quando comparados com o MF. No que se refere ao javali, a taxa de VI's foi mais elevada no HM em relação ao MF (coef. = 0,77; [0,01 – 1,53 IC95%]) ([Tabela 1](#)).

Os resíduos dos modelos apresentados não revelaram padrões preocupantes e indicaram um ajuste satisfatório-bom dos modelos aos dados ([Anexos F-J](#)). O modelo com maior poder explicativo foi o do gado bovino ($eR^2 = 68,94\%$), seguido pelos modelos do texugo ($eR^2 = 44,61\%$) e do veado ($eR^2 = 42,76\%$) ([Tabela 1](#)). O modelo da raposa explicou, em média, 28,83% da variabilidade dos dados testados, enquanto o do javali apresentou a menor capacidade explicativa ($eR^2 = 6,80\%$).

Tabela 1 – Resultados dos modelos médios obtidos aplicados às taxas de VI's do gado bovino, javali, veado, raposa e texugo.

Para cada variável explicativa, a tabela apresenta as respectivas categorias, coeficientes estimados (Coef.) e intervalos de confiança (IC) a 95% obtidos. As categorias de referências para as variáveis “Tipo de ponto de amostragem” e “Tipo de habitat” foram, respetivamente, o “Ponto de controlo” e a “MF”. A significância encontra-se destacada a negrito. Indicação do peso das variáveis explicativas nos modelos (SPV), da variância explicada (VEA) e respetivo desvio-padrão (DP) pelo efeito aleatório, e da estimativa da variância explicada pelo modelo médio (eR^2).

Espécies	Variáveis explicativas e respetivas categorias		Coef.	IC		SPV	VEA (DP)	eR^2
				2,5%	97,5%			
<u>Gado bovino</u>	Tipo de ponto de amostragem	Ponto de água	2,41	0,33	4,49	1		
		HM	3,01	0,39	5,63		2,01 (1,42)	68,94%
	Tipo de habitat					0,71		
		MA	2,53	0,09	4,97			
<u>Javali</u>	Tipo de ponto de amostragem	Ponto de água	0,75	0,07	1,43	0,83		
		HM	0,77	0,01	1,53		0,16 (0,41)	6,80%
	Tipo de habitat					0,43		
		MA	0,11	-0,64	0,87			
<u>Veados</u>	Tipo de ponto de amostragem	Ponto de água	2,10	0,24	3,96	1		
		HM	1,08	-1,07	3,22		1,61 (1,27)	42,76%
	Tipo de habitat					0,28		
		MA	-0,50	-2,65	1,65			
<u>Raposa</u>	Tipo de ponto de amostragem	Ponto de água	1,04	-0,49	2,58	0,53		
		HM	-0,61	-2,31	1,09		0,87 (0,94)	28,83%
	Tipo de habitat					0,76		
		MA	1,37	-0,17	2,91			
<u>Texugo</u>	Tipo de ponto de amostragem	Ponto de água	2,20	0,56	3,84	0,75		
		HM	-1,32	-3,18	0,55		1,36 (1,17)	44,61%
	Tipo de habitat					0,59		
		MA	1,41	-0,20	3,02			

MF – Montado Fechado com matos; **HM** – Habitat Misto; **MA** – Montado Aberto sem matos; **Coef.** – Coeficientes estimados; **IC** – Intervalos de Confiança; **SPV** – Soma do peso das variáveis; **VEA** – Variância do efeito aleatório; **DP** – Desvio-padrão; **eR^2** – Estimativa da variância explicada pelo modelo médio

3.3 – Quantificação das Interações Diretas

Foram identificadas 15 interações diretas interespecíficas entre as espécies-alvo (Tabela 2). Contudo, unicamente três ocorreram entre o gado bovino e espécies selvagens: sacarrabos, veado e raposa (Figuras 8-10, Tabela 2). Todas as interações diretas foram registadas em pontos de água. Relativamente ao tipo de habitat, apenas a interação entre o gado bovino e o veado se sucedeu no HM, enquanto as restantes deram-se no MA. O veado e a raposa foram os mamíferos envolvidos em mais interações diretas (ambas com 10 eventos de interações diretas com outras espécies) e que interagiram com mais espécies (com quatro e três espécies diferentes, respetivamente) (Tabela 2).

O gado bovino manifestou uma atividade maioritariamente diurna, registando três picos de atividade entre as 7h-9h, 12h-15h e 17h-19h (Figuras 11-13). O sacarrabos exibiu um padrão de atividade predominantemente diurno, com um pico de atividade entre as 13h e as 16h (Figura 11). Por sua vez, o veado revelou maior atividade a partir das 20h até às 9h, demonstrando alguma atividade diurna, enquanto a raposa esteve ativa preeminentemente das 21h até às 7h (Figuras 12 e 13). A análise da sobreposição temporal dos padrões de atividade demonstrou que o sacarrabos apresentou maior sobreposição com o período de atividade do gado bovino (coeficiente de sobreposição temporal = 77,19%), enquanto o veado e a raposa obtiveram valores de sobreposição mais baixos (35,00% e 13,66%, respetivamente) (Figuras 11-13).

Tabela 2 – Número de interações diretas interespecíficas descritas por par de espécies, tipo de ponto de amostragem e tipo de habitat.

Par de espécies		Nº de interações diretas	Tipo de ponto de amostragem	Tipo de habitat
Gado bovino – Espécie selvagem	Gado bovino – Veados	1	Ponto de água	HM
	Gado bovino – Raposa	1	Ponto de água	MA
	Gado bovino – Sacarrabos	1	Ponto de água	MA
Espécie selvagem – Espécie selvagem	Veados – Javali	1	Ponto de água	MA
	Veados – Texugo	2	Ponto de água	MA
	Raposa – Texugo	3	Ponto de água	MA
	Raposa – Veados	6	Ponto de água	MA
Total		15		

HM – Habitat Misto; MA – Montado Aberto sem matos



Figura 8 – Registo de interação direta entre o gado bovino e o sacarrabos. Na imagem, destacado a vermelho, encontra-se circulado um bovino. A sua presença foi identificada com base nas observações anteriores e posteriores da sequência de imagens.



Figura 9 – Registo de interação direta entre o gado bovino e o veado.



Figura 10 – Registo de interação direta entre o gado bovino e a raposa.

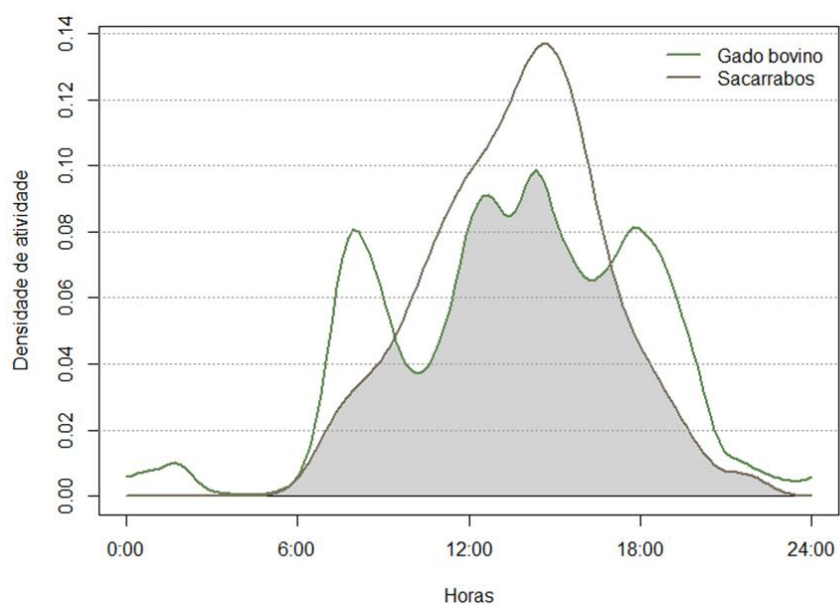


Figura 11 – Perfil de atividade diária do gado bovino e do sacarrabos na Herdade da Coitadinha durante o período de estudo. Estimativa do coeficiente de sobreposição temporal de atividade = 77,19%.

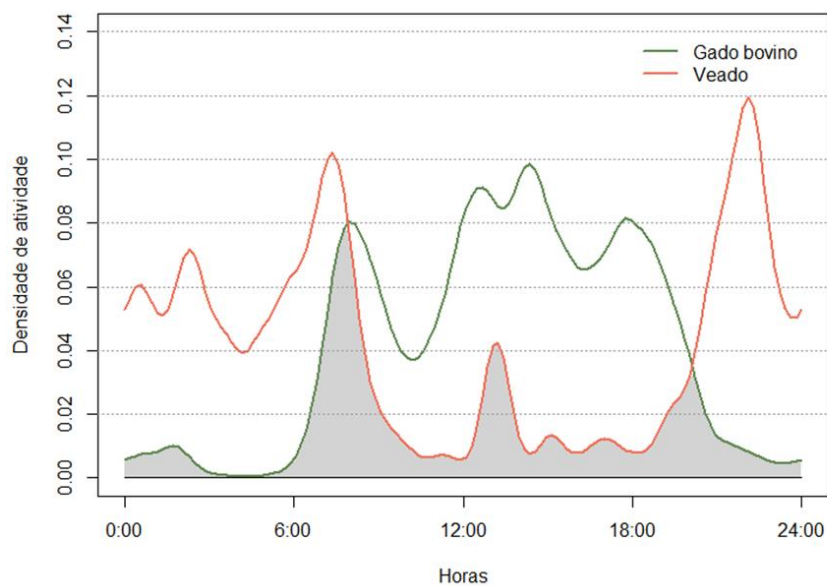


Figura 12 – Perfil de atividade diária do gado bovino e do veado na Herdade da Coitadinha durante o período de estudo. Estimativa do coeficiente de sobreposição temporal de atividade = 35,00%.

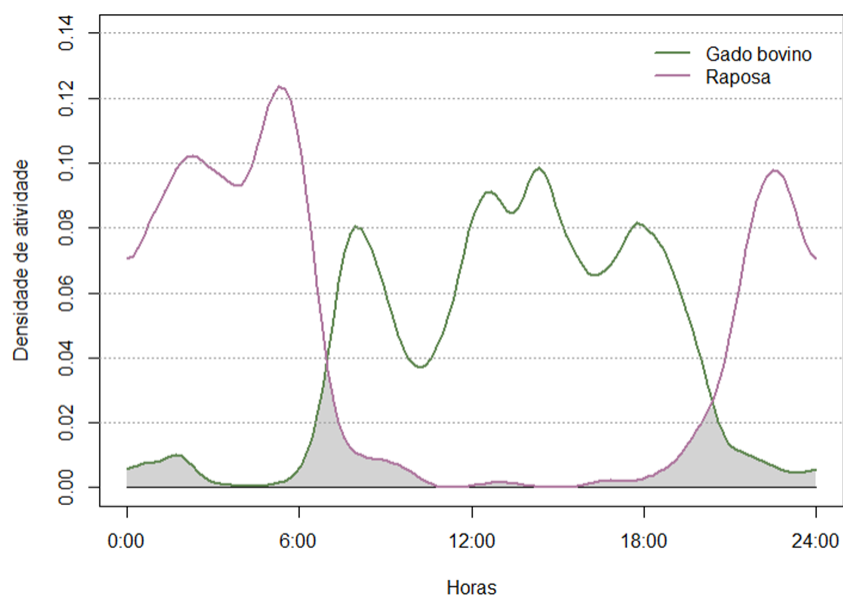


Figura 13 – Perfil de atividade diária do gado bovino e da raposa na Herdade da Coitadinha durante o período de estudo. Estimativa do coeficiente de sobreposição temporal de atividade = 13,66%.

3.4 – Quantificação das Interações Indiretas

Foram obtidas 666 interações indiretas entre o gado bovino e as espécies selvagens com maior número de VI's – javali, veado, raposa, texugo e sacarrabos (Figura 5, Tabela 3). No caso das interações entre o gado bovino e as espécies selvagens analisadas, verificou-se que as interações indiretas foram, em média, 222 vezes mais frequentes do que as interações diretas.

O par de espécies que registou um maior número de interações indiretas foi o gado bovino-raposa (n=208; 31,23%), acompanhado do gado bovino-veado (n=193; 28,98%) (Tabela 3). O gado bovino-javali foi o terceiro par de espécies com mais interações indiretas (n=120; 18,02%) e para o qual se registaram interações em todos os pontos de amostragem passíveis de ocorrerem (Figura 14, Tabela 3). A menor frequência de interações indiretas observou-se para os pares de espécies gado bovino-texugo (n=83; 12,46%) e gado bovino-sacarrabos (n=62; 9,31%) (Tabela 3).

Relativamente à distribuição espacial das interações indiretas pela área de estudo, uma vez que nos pontos de amostragem C3 e C4 não foi constatada a presença do gado bovino, não houve interações indiretas entre esta espécie e as restantes (Figura 14). Por sua vez, nos pontos de amostragem A4, A5, A6 e C2, todos localizados na zona centro-norte da propriedade, foram verificadas interações indiretas dos cinco pares de espécies designados para análise, tendo-se obtido as frequências mais elevadas de interações indiretas nos pontos A6 (n=238), A4 (n=191) e C2 (n=81) (Anexo K). Contrariamente, nos pontos C1 (n=16), A5 (n=10), A1 (n=9) e C5 (n=4) obteve-se um total de interações indiretas mais reduzido.

Tabela 3 – Número de interações indiretas interespecíficas descritas por par de espécies, tipo de ponto de amostragem e tipo de habitat. Indicação dos tipos de hospedeiros pertencentes a cada par de espécies com o gado bovino.

Tipo de hospedeiro	Par de espécies	Nº de interações indiretas					Total
		Tipo de ponto de amostragem		Tipo de habitat			
		Ponto de água	Ponto de controlo	MF	HM	MA	
Reservatório	Gado bovino – Javali	84	36	16	46	58	120
	Gado bovino – Veado	162	31	32	56	105	193
Suscetível	Gado bovino – Raposa	188	20	28	14	166	208
	Gado bovino – Texugo	77	6	2	5	76	83
	Gado bovino – Sacarrabos	54	8	0	3	59	62
Total		565	101	101	124	464	666

MF – Montado Fechado com matos; **HM** – Habitat Misto; **MA** – Montado Aberto sem matos

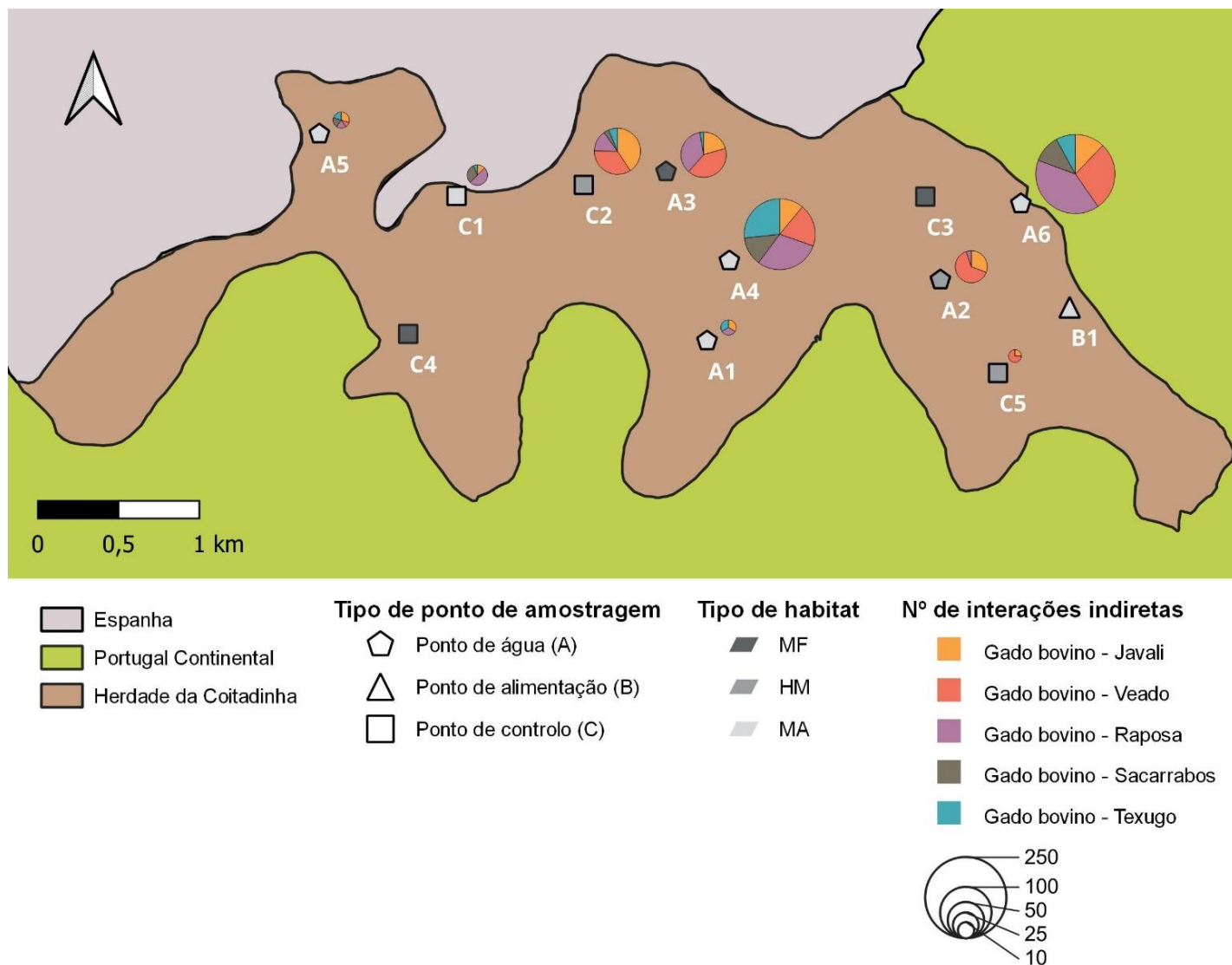


Figura 14 – Distribuição espacial das interações indiretas na área de estudo relativamente aos pares de espécies (gado bovino-javali, gado bovino-veado, gado bovino-raposa, gado bovino-texugo e gado bovino-sacarrabos) pelos pontos de amostragem.

(MF – Montado Fechado com matos; HM – Habitat Misto; MA – Montado Aberto sem matos)

3.5 – Modelação das Interações Indiretas

O GLMM médio obtido (Anexo L) e aplicado aos dados dos cinco pares de espécies seleccionados (Tabela 3) previu que as interações indiretas foram mais abundantes nos pontos de água (coef = 2,30 [0,25 – 4,35 IC95%]) e, ao nível do tipo de hospedeiro, mais abundantes para os hospedeiros reservatório (hospedeiros suscetíveis: coef = - 0,29 [- 0,44 – - 0,13 IC95%]) (Tabela 4). Não foram reveladas diferenças estatísticas ao comparar os diferentes tipos de habitat. Este modelo encontra-se bem ajustado aos dados (Anexo M) e explica, aproximadamente, 45,58% da variabilidade dos mesmos (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados do modelo médio obtido aplicado à taxa de interações indiretas dos cinco pares de espécies seleccionados (gado bovino-javali, gado bovino-veado, gado bovino-raposa, gado bovino-texugo e gado bovino-sacarrabos).

Para cada variável explicativa, a tabela apresenta as respetivas categorias, coeficientes estimados (Coef.) e intervalos de confiança (IC) a 95% obtidos. As categorias de referências para as variáveis “Tipo de ponto de amostragem”, “Tipo de habitat” e “Tipo de hospedeiro” foram, respetivamente, o “Ponto de controlo”, a “MF” e “Reservatório”. A significância encontra-se destacada a negrito. Indicação do peso das variáveis explicativas nos modelos (SPV), da variância explicada (VEA) e respetivo desvio-padrão (DP) pelo efeito aleatório e da estimativa da variância explicada pelo modelo médio (eR^2).

Variáveis explicativas e respetivas categorias		Coef.	IC		SPV	VEA (DP)	eR^2
			2,5%	97,5%			
Tipo de ponto de amostragem	Ponto de água	2,30	0,25	4,35	1		
	HM	2,07	-0,84	4,98			
Tipo de habitat					0,3	2,29 (1,5)	45,58%
	MA	1,43	-1,26	4,11			
Tipo de hospedeiro	Suscetível	-0,29	-0,44	-0,13	1		

MF – Montado Fechado com matos; **HM** – Habitat Misto; **MA** – Montado Aberto sem matos; **Coef.** – Coeficientes estimados; **IC** – Intervalos de Confiança; **SPV** – Soma do peso das variáveis; **VEA** – Variância do efeito aleatório; **DP** – Desvio-padrão; **eR^2** – Estimativa da variância explicada pelo modelo médio

4 – DISCUSSÃO

A realização deste estudo permitiu caracterizar a comunidade de ungulados e carnívoros selvagens da Herdade da Coitadinha, localizada numa região *hotspot* de TB em Portugal. Complementarmente, possibilitou a descrição e comparação dos padrões espaço-temporais de visitas de diferentes espécies suscetíveis à TB e a quantificação de interações entre o gado bovino e espécies selvagens. Deste modo e uma vez que as interações entre indivíduos são dos principais fatores que podem conduzir à transmissão de agentes patogénicos, foi possível aumentar a compreensão relativa a estes processos, na perspetiva de perceber o risco epidemiológico na transmissão de TB numa comunidade multi-hospedeira.

Em função dos objetivos definidos, os resultados obtidos mostraram que:

- (1) A comunidade de mamíferos selvagens é dominada por espécies ecologicamente generalistas e com comportamento noturno/crepuscular, com destaque da raposa, do veado e do javali, dado o número elevado de visitas e a sua distribuição generalizada pela área de estudo;
- (2) A frequência de visitas foi significativamente maior em pontos de água para o gado bovino, o veado, o texugo e o javali, quando comparado com os pontos de controlo;
- (3) As interações diretas entre o gado bovino e as espécies selvagens foram raras, quando comparadas com as indiretas. As espécies selvagens mais frequentemente envolvidas em interações indiretas foram a raposa, o veado e o javali;
- (4) Ao nível da comunidade, a frequência de interações indiretas foi significativamente maior em pontos de água e quando os hospedeiros reservatório estavam envolvidos.

4.1 – Caracterização da comunidade

A comunidade alvo de mamíferos selvagens identificada ao longo do estudo foi composta por um total de nove espécies: duas de ungulados (javalí e veado) e sete de carnívoros (doninha, fuinha, geneta, lontra, raposa, sacarrabos e texugo). Todas as espécies mencionadas são nativas de ecossistemas mediterrânicos europeus, à exceção da geneta e do sacarrabos, que são nativas de África e exóticas, naturalizadas,

na Península Ibérica (Gaubert, 2016). De todas as espécies observadas durante o período de amostragem, não se encontra documentada na área de estudo a doninha (Bencatel et al., 2019; Mathias et al., 2023). As espécies obtidas neste trabalho, excluindo a doninha, representam cerca de 57% das espécies de ungulados e carnívoros inicialmente descritas como ocorrentes na área de estudo (Bencatel et al., 2019). A comunidade de mamíferos observada é consistente com a descrita num estudo anterior realizado na mesma região (Peixoto, 2015). Complementarmente, assemelha-se a comunidades reportadas para áreas com características climáticas, de habitat e de gestão idênticas, como é o caso da Charneca do Infantado, na Companhia das Lezírias (P. Gonçalves et al., 2012; Alves et al., 2022), e da Herdade da Ribeira Abaixo, em Grândola (Santos-Reis et al., 1999).

Neste sentido, a área de estudo sustenta uma comunidade diversa, dominada por espécies generalistas no contexto mediterrânico (Rosalino et al., 2005a, 2005c; Carrasco-Garcia et al., 2016). Todas as espécies observadas são consideradas abundantes no território continental português (à exceção da doninha) e encontram-se amplamente distribuídas pelo país, estando todas classificadas como “Pouco Preocupante” a nível nacional (Mathias et al., 2023). A abundância e a ampla distribuição destas espécies podem estar associadas à plasticidade ecológica específica das mesmas, resultante da adaptação à sazonalidade e à imprevisibilidade das condições climáticas mediterrânicas e, consequentemente, da disponibilidade (quantidade e diversidade) de recursos alimentares e de habitat (Virgós et al., 1999; Rosalino et al., 2005a; Verdade et al., 2011).

Relativamente aos ungulados, as espécies registadas vão de encontro ao esperado, em virtude dos elevados níveis de abundância reconhecidos do javali e do veado na região de Moura-Barrancos (Vingada et al., 2010; Cunha et al., 2019b). No que diz respeito aos mesocarnívoros, foram identificadas sete das 10 espécies que ocorrem nas áreas de montado da região Sul de Portugal (Santos-Reis et al., 1999). Esta diversidade pode ser justificada pela heterogeneidade da paisagem que se verifica na área de estudo, favorável a suportar altos níveis de biodiversidade. Verdade et al. (2011) e Curveira-Santos et al. (2017) sugerem que paisagens heterogêneas, alteradas e geridas pelo ser humano, como é o caso do montado, podem promover a abundância e a expansão de mesocarnívoros generalistas, ao proporcionarem uma maior disponibilidade de recursos tróficos, assim como de diferentes condições de habitat. Deste modo, surgem combinações particulares de recursos ecológicos favoráveis aos requisitos de cada espécie, podendo, potencialmente, otimizar a coexistência entre carnívoros (Rosenzweig, 1987; P. Pereira et al., 2012; Curveira-Santos et al., 2017).

Assim como neste trabalho, no qual a raposa foi a espécie mais frequentemente identificada, o mesmo foi verificado em estudos anteriores, abrangentes de diferentes ordens de mamíferos (Varela-Castro et al., 2021) e exclusivos da ordem Carnívora (Grilo et al., 2016; Curveira-Santos et al., 2017, 2019). O veado e o javali foram as espécies que registaram o segundo e o terceiro maior número de visitas, respetivamente. A maior frequência de observações destas três espécies pode estar relacionada com a maior abundância das mesmas, refletindo a realidade a nível nacional, como resultado de uma expansão demográfica e geográfica (Apollonio et al., 2010; Gortázar et al., 2012; Alves et al., 2022). Estas expansões têm sido impulsionadas por alterações no uso do solo, e pelo declínio e ausência a longo prazo de predadores de topo, nomeadamente, do lince-ibérico e do lobo-ibérico (*Canis lupus signatus*), bem como por fatores intrínsecos destas três espécies (e.g. potencial reprodutivo) (Acevedo et al., 2011; Santos et al., 2012; Curveira-Santos et al., 2019). Para além disso, no caso do javali e do veado, determinadas práticas de gestão, como alimentação suplementar, reintroduções, repovoamentos e translocações, inicialmente para fins de conservação e, atualmente, para fins cinegéticos, favorecem o aumento populacional e de área de distribuição de ambas as espécies (Apollonio et al., 2010; Gortázar & Boadella, 2014).

4.2 – Descrição dos padrões espaço-temporais:

4.2.1 – Visitas Independentes

No que diz respeito à taxa de visitas de cada espécie analisada, o estudo revelou que o gado bovino, o veado, o texugo e o javali ocorreram mais frequentemente nos pontos de água em comparação com os pontos de controlo. Trabalhos anteriores mostraram padrões semelhantes no que concerne ao uso de recursos hídricos por estas espécies (Kukielka et al., 2013; Barasona et al., 2014a; Carrasco-Garcia et al., 2016; Payne et al., 2017), bem como a função desempenhada pelos respetivos pontos na distribuição espacial de espécies (Barasona et al., 2014b; Curveira-Santos et al., 2017; Triguero-Ocaña et al., 2019). A seleção dos pontos de água pelas espécies mencionadas pode refletir a necessidade vital deste tipo de recurso para hidratação e a sua relevância na termorregulação corporal, especialmente durante o período em que decorreu o estudo, ou seja, na época seca (Carrasco-Garcia et al., 2016). Durante esta época, para além da maior demanda, a disponibilidade de água é limitada, em virtude da baixa precipitação e elevada taxa de evaporação (Tramblay et al., 2020). A

importância e a escassez de recursos hídricos tendem a promover uma maior frequência de visitas, o que, por sua vez, aumenta a probabilidade de contaminação ambiental, assim como potencia a agregação intra e interespecífica nestes locais (Triguero-Ocaña et al., 2019). Complementarmente, os resultados sugeriram valores mais elevados de riqueza específica nos pontos de água ao longo deste estudo, revelando a ocorrência de um grande número de espécies nesses locais.

Neste sentido, no Centro-Sul de Espanha, Vicente et al. (2007) relataram um maior risco de detecção de lesões compatíveis com TB em espécies selvagens quando estas se agregavam em pontos de água. Ademais, na mesma região, Barasona et al. (2017) descreveram uma associação positiva entre a taxa de amostras positivas para o CMT em pontos de água com a ocorrência de visitas a esses pontos de indivíduos com sinais de caquexia, isto é, que apresentassem enfraquecimento geral das suas funções vitais. Indivíduos visivelmente caquéticos podem corresponder a indivíduos infetados com TB generalizada e num estado avançado da doença, os quais são capazes de contribuir desproporcionalmente mais para a excreção de agentes patogénicos do CMT e, conseqüentemente, para a contaminação do meio envolvente e de outros animais (A. C. Pereira et al., 2020). Este maior potencial de excreção é importante, uma vez que a detecção de *M. bovis* tem sido associada, não só ao número de excretores, como também à frequência de excreção por indivíduos infetados (Courtenay et al., 2006).

Os modelos do gado bovino e do javali sugeriram uma influência do tipo de habitat no número de visitas. Primeiro, foi possível identificar que o gado bovino visitou com maior frequência o habitat misto, seguido do montado aberto (sem matos), o que se pode dever à sua preferência alimentar por vegetação herbácea (Schoenbaum et al., 2017). As pastagens existentes tanto no montado aberto, como também, em menor proporção, no habitat misto, são dominadas por vegetação herbácea. No entanto, os padrões de forrageamento dos bovinos em regime extensivo são influenciados pela disponibilidade e qualidade nutritiva da vegetação, sendo que na época seca, em habitats mediterrânicos, verifica-se uma diminuição de ambas no que diz respeito à vegetação herbácea (Bugalho & Milne, 2003; Rivero et al., 2021). Perante este cenário, estudos indicam que durante a época em questão o gado bovino tende a aumentar o seu consumo de vegetação lenhosa (Brosh et al., 2006; Schoenbaum et al., 2017), a qual pode estar mais acessível e existir em maior quantidade nos habitats mistos. Para além disso, este tipo de habitat apresenta zonas ensobradas, as quais são necessárias para facilitar a termorregulação dos animais em condições de temperaturas quentes, sendo que as temperaturas mais elevadas se registam na época seca.

O modelo aplicado ao javali mostrou uma relação significativamente positiva entre o número de visitas e o habitat misto, comparativamente com o montado fechado (com matos). Apesar da plasticidade ecológica do javali, que o permite colonizar diversos ambientes, alguns estudos indicam uma preferência por áreas florestais que forneçam alimento e refúgio, em oposição a habitats abertos (Acevedo et al., 2006; González-Crespo et al., 2018; Keuling et al., 2018). Não obstante, Laguna et al. (2021) referem que os javalis são normalmente caçados em áreas florestais e mostram que a pressão cinegética pode ter uma influência na seleção de habitat por esta espécie, ao evitar zonas de bosque e selecionando zonas de matos. Deste modo, ao considerar que os javalis evitam áreas abertas devido à reduzida oferta de abrigo e menor disponibilidade de alimento, assim como áreas fechadas em resposta a um potencial risco de caça, é compreensível que o habitat misto seja o mais visitado. Este habitat apresenta uma combinação de áreas abertas e fechadas que se encontram próximas e, como tal, pode oferecer um equilíbrio mais favorável entre a disponibilidade de recursos e a proteção perante a prática ativa de caça ao javali na área de estudo.

O maior número de visitas do gado bovino e do javali no habitat misto pode também ser justificado pela presença da espécie oposta nesse mesmo habitat. Carrasco-Garcia et al. (2016) e Martínez-Guijosa et al. (2021) revelaram uma associação positiva entre a presença destas duas espécies na região Centro-Sul de Espanha. Neste seguimento, tem vindo a ser sugerido que estas espécies não se evitam mutuamente e que até podem exercer algum tipo de atração sobre a outra (Carrasco-Garcia et al., 2016). Um exemplo disso é a procura por parte do javali de minhocas e outros invertebrados em locais onde bovinos defecaram previamente (Baubet et al., 2003; Bueno & Jiménez, 2014). Assim, o habitat misto pode ser o principal tipo de habitat que promove interações entre estas espécies, tanto no espaço, como no tempo.

Relativamente aos resultados alusivos ao javali, é importante observar que o modelo nulo, ao ter integrado o modelo médio, foi incluído na análise, indicando que outros fatores não capturados pelo modelo podem influenciar a ocorrência de visitas desta espécie. Esta observação é sustentada pelo baixo valor de estimativa do coeficiente de determinação obtido, sugerindo uma explicação limitada da variabilidade dos dados pelas variáveis independentes consideradas. Isto ressalta a complexidade da relação entre os animais e o ambiente em que se inserem, e destaca a necessidade de se considerar uma diversidade de variáveis na análise para uma compreensão abrangente dos padrões de ocorrência.

4.2.2 – Interações Diretas

No que concerne as interações diretas interespecíficas, estas foram pouco comuns, tal como evidenciado em pesquisas anteriores e através de diferentes métodos de amostragem, como armadilhagem fotográfica (Kukielka et al., 2013; Carrasco-Garcia et al., 2016; Barasona et al., 2017; Payne et al., 2017; Martínez-Guijosa et al., 2021), dispositivos de registo de proximidade (*proximity loggers*) (Drewe et al., 2013), colares GPS (*GPS collars*) (Barasona et al., 2014a; Triguero-Ocaña et al., 2019) e combinação das duas tecnologias anteriores (Cowie et al., 2016). Apesar de reduzidas, todas as interações diretas observadas foram documentadas em pontos de água, ressaltando a relevância desses locais como potenciais pontos de encontro entre as espécies. Noutra perspetiva, apenas três das 15 interações diretas interespecíficas obtidas neste estudo corresponderam a interações entre o gado bovino e espécies selvagens. É possível que o número reduzido de interações gado bovino-espécies selvagens possa ter sido influenciado: (1) pelo efeito negativo da presença de bovinos na ocorrência de algumas espécies selvagens e (2) pela diferença nos padrões de atividade diários.

Em referência à primeira hipótese, foi demonstrado que alguns carnívoros, como o texugo (Drewe et al., 2013; Hipólito et al., 2016a; Campbell et al., 2019), a raposa (Curveira-Santos et al., 2017; Alexandre et al., 2020) e a fuinha (Teixeira et al., 2023) tendem a evitar o gado bovino, restringindo os seus padrões ecológicos, de modo a evitar a perturbação causada por este último (Oberosler et al., 2017; Ferreira et al., 2023). Esta perturbação pode ser direta ou pode estar ligada, por exemplo, à pressão do pastoreio, uma vez que a pecuária molda a estrutura e a composição da vegetação local. Consequentemente, os padrões de provisão de alimentos sofrem alterações, como é o caso da diminuição da abundância e diversidade de micromamíferos, os quais são importantes na determinação das preferências de habitat dos mesocarnívoros (Muñoz et al., 2009; P. Gonçalves et al., 2012; Curveira-Santos et al., 2017).

Similarmente, a presença do gado bovino pode afetar negativamente a ocorrência de ungulados selvagens simpátricos, através da competição por recursos partilhados (Latham, 1999), resultando em possíveis segregações espaciais e temporais (Hibert et al., 2010; Zanni et al., 2021). A adoção destas estratégias, ao evitar que as diferentes espécies se encontrem, possibilita a redução de interações competitivas, facilitando a coexistência. Estas adaptações foram observadas por alguns autores, em que ungulados selvagens ajustaram os seus padrões espaciais (Barrett, 1982; Hibert et al., 2010) e temporais (Kie et al., 1991) consoante a presença, abundância ou atividade do gado bovino.

Quanto à segunda hipótese, os padrões de atividade diária de cada espécie são dependentes de ritmos estabelecidos endogenamente, os quais são regulados por relógios biológicos, assim como por estímulos abióticos e bióticos externos (Kronfeld-Schor & Dayan, 2003; Zanni et al., 2021). De todas as espécies observadas neste estudo, apenas o gado bovino e o sacarrabos são considerados espécies diurnas, contrastando com as restantes, que demonstram uma preferência pelo período noturno e crepuscular (Clavero et al., 2010; Monterroso et al., 2014a; Rossa et al., 2021; Rosalino et al., 2022). Assim, tendo somente em conta a dimensão temporal, a probabilidade de encontro entre o gado bovino e todas as espécies, à exceção do sacarrabos, poderá ser reduzida.

Para além dos fatores mencionados, outros aspetos podem também contribuir para explicar as poucas interações diretas obtidas entre o gado bovino e as espécies selvagens. Como exemplo, as diferentes preferências de habitat entre os bovinos e as espécies selvagens podem levar a uma segregação espacial natural, reduzindo as oportunidades de encontro. Por outro lado, distúrbios antropogénicos associados ao gado bovino, tais como o aumento da presença e ruído humano nas áreas de pastagem para a realização de atividades de manejo (e.g. alimentação, movimentação, transporte, marcação e vacinação dos animais) podem fazer com que as espécies selvagens se afastem dos locais onde os bovinos se encontram (Oberosler et al., 2017).

Considerando as três interações diretas que envolviam o gado bovino, observou-se, primeiramente, que tanto o gado bovino quanto o sacarrabos apresentaram um padrão de atividade diurna e uma elevada sobreposição de atividade entre si, resultados que estão em conformidade com pesquisas anteriores (Palomares & Delibes, 1991; Ferreira-Arias et al., 2021). Para além dos hábitos diurnos reconhecidos e obtidos destas duas espécies, o sacarrabos foi observado mais vezes no montado aberto, habitat este que está estatisticamente associado às visitas de bovinos, podendo, de certa forma, potenciar a ocorrência de interações diretas, tendo em conta as similaridades circadianas demonstradas.

Em contrapartida, o veado e a raposa exibiram uma preferência pelo período noturno e crepuscular, com perfis de atividade semelhantes aos descritos na literatura em sistemas mediterrânicos (Carranza et al., 1991; Monterroso et al., 2014a). De acordo com este estudo, foi durante os períodos crepusculares que ambas as espécies revelaram níveis mais altos de sobreposição temporal com o gado bovino, através das tendências opostas de atividade. Estes resultados realçam que estes períodos podem ter uma determinada importância em eventuais interações diretas entre estas espécies.

Por outro lado, tendo em conta os períodos de atividade idênticos, não é surpreendente que a maioria das interações diretas registadas tenham ocorrido entre espécies selvagens com hábitos noturnos/crepusculares (Carranza et al., 1991; Rosalino et al., 2005b; Monterroso et al., 2014a; Brivio et al., 2017). Estes resultados evidenciam que, mesmo em menor escala, as interações diretas devem ser equacionadas aquando do estudo da transmissão de TB em comunidades hospedeiras, inclusive as interações interespecíficas que não envolvam o gado bovino, tendo em conta o papel que as espécies selvagens atualmente desempenham em termos epidemiológicos em alguns cenários (Santos et al., 2020). É ainda importante mencionar que o veado e a raposa se destacaram por participar em mais interações diretas e por interagir com um maior número de espécies, o que pode indicar um possível envolvimento na transmissão da TB para animais domésticos e selvagens na área de estudo, bem como na conexão epidemiológica entre espécies.

4.2.3 – Interações Indiretas

Como destacado em estudos anteriores, as interações indiretas interespecíficas entre o gado bovino e as espécies selvagens analisadas foram consideravelmente superiores às diretas (Kukielka et al., 2013; Carrasco-Garcia et al., 2016; Cowie et al., 2016; Payne et al., 2017; Triguero-Ocaña et al., 2019; Varela-Castro et al., 2021). Estes resultados sugerem que, na interface fauna selvagem-pecuária da área de estudo, as interações indiretas poderão ter um papel significativo na transmissão e manutenção da TB. Contudo, não devem ser negligenciadas as possíveis consequências que as interações diretas possam ter quando animais infetados estão envolvidos, uma vez que este tipo de contacto implica uma exposição maior a agentes patogénicos, assim como uma maior eficiência na transmissão (Gavier-Widén et al., 2012; Drewe et al., 2013).

As interações indiretas entre o gado bovino e o javali, o veado, a raposa, o texugo e o sacarrabos, analisadas ao nível da comunidade, mostraram-se significativamente mais frequentes nos pontos de água em relação aos pontos de controlo. Este resultado apoia a hipótese de que os pontos de água desempenham um papel importante e estruturador em contextos epidemiológicos, ao potenciarem contactos espaciais e espaço-temporais intra e interespecíficos e, como tal, aumentando as oportunidades de transmissão e disseminação de doenças infecciosas em ambientes partilhados.

Estas observações vão de encontro às de outras pesquisas, as quais realçam ainda um aumento de interações na época seca, particularmente em sistemas

mediterrânicos, relacionado com o desprovisionamento de recursos hídricos característico da época (Gavier-Widén et al., 2012; Kukiélka et al., 2013; Gortázar & Boadella, 2014; Carrasco-Garcia et al., 2016; Cowie et al., 2016; Payne et al., 2017; Triguero-Ocaña et al., 2019). Isso ocorre devido à reduzida disponibilidade de locais com água, que pode forçar os indivíduos a visitarem os mesmos locais, aumentando as oportunidades de transmissão indireta (e direta). De facto, foi demonstrado que, em propriedades de criação de gado bovino em regime extensivo, a densidade de pontos de água se encontrava inversamente associada à deteção de TB em bovinos (Cowie et al., 2014) e animais selvagens (Barasona et al., 2014b). Por sua vez, Barasona et al. (2017) apontaram uma relação negativa entre o tamanho dos pontos de água e a presença ambiental do CMT, sendo que em pontos de água menores, há maior probabilidade de contacto animal, bem como maior concentração de matéria orgânica na água, o que pode explicar a relação precedente (Barasona et al., 2017; A. C. Pereira et al., 2020). Estas condições resultam em maiores níveis de contaminação do ambiente e exposição ao mesmo e, consequentemente, num maior risco de transmissão de TB.

Para além dos pontos de água serem recursos atrativos para as diferentes espécies e potenciarem interações indiretas, apresentam também condições favoráveis à sobrevivência ambiental do CMT (Barbier et al., 2017), principalmente as amostras de lama de margens de charcos (Fine et al., 2011; Barasona et al., 2017). Deste modo, os pontos de água tornam-se um fator de risco a vários níveis. Todavia, é importante mencionar que as condições climáticas registadas na área de estudo durante a época seca, apesar de levarem a um aumento da taxa de contaminação ambiental (caso o agente patogénico esteja presente), levam também a uma menor taxa de sobrevivência ambiental bacteriana, devido aos baixos teores de humidade, elevadas temperaturas e altos níveis de radiação solar (A. C. Pereira et al., 2020).

Em termos de comunidade, a taxa de interações indiretas foi significativamente maior para os pares de espécies entre o gado bovino e os hospedeiros reservatório (javali e veado) do que para os hospedeiros suscetíveis (raposa, sacarrabos e texugo). O número considerável de interações indiretas gado bovino-javali/veado está em concordância com trabalhos prévios (Kukiélka et al., 2013; Carrasco-Garcia et al., 2016). Assim, este resultado enfatiza o papel epidemiológico que as populações de javali e veado podem ter na área de estudo, dado que para além de serem considerados os hospedeiros responsáveis pela manutenção da TB na Península Ibérica (Madeira et al., 2017; Santos et al., 2020), foram os que, enquanto grupo, mais interagiram indiretamente com o gado bovino neste estudo.

Várias investigações têm destacado as relações eco-epidemiológicas entre o gado bovino e o javali, algumas das quais demonstraram uma associação positiva entre a variação espacial na incidência de TB em bovinos e a prevalência da doença em javalis em cenários ibéricos (Barasona et al., 2014a; LaHue et al., 2016). O javali tem sido descrito como a espécie selvagem epidemiologicamente mais relevante no contexto da TB na Europa, com maior ênfase na Península Ibérica (Naranjo et al., 2008; Santos et al., 2009; Gortázar et al., 2012; Hardstaff et al., 2014; Triguero-Ocaña et al., 2019), e de acordo com Santos et al. (2022) é o principal hospedeiro de manutenção da TB na região deste estudo. Esta espécie é considerada altamente suscetível à infecção por *M. bovis* e *M. caprae*, o que faz com que a dose necessária para que a infecção se estabeleça possa ser baixa (Santos et al., 2018). Para além disso, determinados comportamentos do javali, tais como fossar no solo à procura de alimento (*rooting*), consumir carcaças (*scavenging*) e revolver na lama ou na água (*wallowing*), aumentam a sua exposição aos agentes patogénicos referidos e, consequentemente, a probabilidade de contração de TB (Palmer, 2013; Carrasco-Garcia et al., 2018; Santos et al., 2018b). Por outro lado, estes comportamentos podem contribuir também para a contaminação ambiental das áreas circundantes caso o javali esteja infetado, criando, assim, oportunidades de transmissão para outros indivíduos (Cooper et al., 2010; Barasona et al., 2017; Payne et al., 2017).

Por sua vez, diversos estudos realizados em Portugal têm vindo a apontar que a infecção em javalis está correlacionada com a presença e elevada densidade de veados (Santos et al., 2009, 2018; Vieira-Pinto et al., 2011), com Madeira et al. (2017) sugerindo que o veado pode ser o hospedeiro responsável por impulsionar a transmissão de TB ao javali. Deste modo, para além de ambas as espécies serem consideradas hospedeiros reservatório, as relações epidemiológicas entre si têm consequências graves na manutenção da doença. No caso do veado, note-se ainda que certas características (e.g. a infecção nesta espécie poder durar anos e, quando infetado, tende a apresentar lesões mais abertas e purulentas, o que potencia a excreção de uma grande quantidade de micobactérias infecciosas) fazem com que este hospedeiro seja particularmente relevante na manutenção e transmissão da TB para outras espécies suscetíveis (Cunha et al., 2012; Gavier-Widén et al., 2012; Gortázar et al., 2015a). Ademais, a prevalência de TB em veados e a sua densidade foram identificadas como fatores de risco para a ocorrência da doença em comunidades de mamíferos multi-hospedeiras (Cunha et al., 2019a; Santos et al., 2022).

No que diz respeito aos hospedeiros suscetíveis considerados, as três espécies corresponderam a carnívoros e existem poucas informações disponíveis sobre a

prevalência e potencial implicação destas espécies nas dinâmicas da TB em Portugal (Matos et al., 2014b; Pérez de Val et al., 2022). Na Península Ibérica, a raposa é considerada um hospedeiro de disseminação (*spillover host*) da TB, ou seja, é capaz de manter a infeção por um determinado período, mas requer a entrada regular de outra fonte (Rhyan & Spraker, 2010; Gortázar et al., 2011). Têm sido cada vez mais os casos reportados de raposas infetadas com *M. bovis*, com prevalências estimadas para regiões endémicas de TB no Reino Unido, França e Portugal equivalentes a 4,52%, 9,00% e 26,90%, respetivamente (Delahay et al., 2007; Matos et al., 2014b; Richomme et al., 2020). Richomme et al. (2020) sugeriram ainda que, em áreas onde a transmissão de TB se dá de forma ativa em sistema multi-hospedeiros, as raposas tendem a estar envolvidas nesses processos.

A nível ecológico, a raposa apresenta um comportamento alimentar oportunista, cuja dieta inclui espécies suscetíveis à doença, como o coelho-bravo e micromamíferos, e ainda carcaças de ungulados (Cunha et al., 2011; Matos et al., 2014b). Acredita-se que o consumo dessas carcaças infetadas com TB seja a principal fonte de infeção para a raposa (Millán et al., 2008; Matos et al., 2014a). Alternativamente, as raposas ao habitarem tocas de texugos abandonadas ou ocupadas em partes vazias, podem adquirir a infeção através do ambiente contaminado ou podem infetar os texugos e outras espécies que se encontrem nestes sistemas subterrâneos (Corner et al., 2011; Michelet et al., 2018). Por sua vez, entende-se que a principal via de transmissão de TB pela raposa a outras espécies seja através de excreção fecal de *M. bovis* (Delahay et al., 2007; Richomme et al., 2020), tendo já sido observadas raposas a defecar, e também a urinar, em comedouros artificiais, o que constitui um risco de infeção, principalmente para o gado bovino (Payne, 2014). No contexto do presente estudo, a raposa foi a espécie que registou o maior número de interações indiretas com o gado bovino e, como tal, o seu contributo nas dinâmicas da TB não deve ser descurado.

Quanto ao texugo, foi registado um menor número de interações indiretas com o gado bovino. Este resultado foi obtido num contexto ibérico mediterrâneo, onde há escassa informação sobre a contribuição epidemiológica do texugo, apesar de se suspeitar que esteja envolvido na manutenção da TB (Santos et al., 2012, 2020; Gortázar & Boadella, 2014). No entanto, no Reino Unido e na República da Irlanda (onde os texugos são reconhecidos como reservatórios de TB) (Gortázar et al., 2012), e no contexto ibérico atlântico, mais especificamente nas Astúrias (onde se sugere que os texugos possam desempenhar um papel semelhante) (Acevedo et al., 2019), foram registadas interações indiretas frequentes entre estas duas espécies, principalmente em latrinas e tocas de texugos (Drewe et al., 2013; Varela-Castro et al., 2021). Isto pode

estar relacionado com as maiores densidades populacionais do texugo nestas regiões (Balseiro et al., 2013; Vázquez et al., 2021), em contraste com os ecossistemas mediterrânicos, onde densidades mais baixas têm sido observadas (Rosalino et al., 2004; Silva et al., 2021), o que pode limitar o seu envolvimento na epidemiologia da TB.

Na Espanha atlântica já foram detetados os mesmos isolados de *M. bovis* no gado bovino e texugo, o que confirma a transmissão de TB entre estas espécies (Acevedo et al., 2019; Vázquez et al., 2021). Para além disso, quando infetados, os texugos têm alta capacidade de excreção de *M. bovis* e de disseminação da doença (Sobrinho et al., 2008; Gavier-Widén et al., 2012). Complementarmente, algumas particularidades ecológicas e comportamentais dos texugos podem favorecer o risco de contração e transmissão de TB. É o caso: (1) das suas estruturas sociais, que permitem contacto prolongado e repetido uns com os outros (Delahay et al., 2000); (2) da longevidade dos indivíduos infetados (Corner et al., 2011); e (3) de se alimentarem de besouros coprófilos associados a fezes de bovinos, os quais são um dos principais recursos alimentares do texugo na região mediterrânica, assim como de carcaças de ungulados, o que facilita a interação com membros do CMT de ungulados infetados (Martín-Atance et al., 2006; Hipólito et al., 2016b; Silva et al., 2021).

Por fim, o sacarrabos foi a espécie analisada que menos interagiu indiretamente com o gado bovino. Até ao momento deste estudo, tinham sido reportados poucos casos de infeção de *M. bovis* em Portugal (Matos et al., 2013, 2014b) e em Espanha (Ferrerías-Colino et al., 2023). Como tal, a participação desta espécie na epidemiologia da TB na Península Ibérica é pouco compreendida, carecendo de investigação. Porém, na África do Sul há sugestões de que o mangusto-listrado (*Mungos mungo*) pode ser exposto a *M. bovis* através do consumo de fezes, carcaças e restos de matadouro contaminados (Brüns et al., 2017). Pesquisas adicionais são necessárias para confirmar a fonte e rota de infeção do sacarrabos no mundo e na Península Ibérica.

Em suma, os resultados desta análise destacaram a importância dos pontos de água, dos hospedeiros reservatório e da raposa na promoção de interações indiretas com o gado bovino, apontando para uma possível contribuição significativa na transmissão da TB. Além disso, considerando as potenciais implicações epidemiológicas de cada espécie estudada, com base em atributos e comportamentos recolhidos da literatura, é possível entender a complexidade subjacente aos fatores que podem influenciar a dinâmica da doença. Essa complexidade inclui também a relação entre as diferentes espécies e com o ambiente em que se inserem.

4.3 – Avaliação dos dados e perspectivas futuras

Embora o presente estudo tenha proporcionado resultados robustos e confiáveis, contribuindo para a compreensão de uma comunidade de mamíferos e das suas interações no contexto da epidemiologia da TB, é importante destacar algumas limitações e considerações para uma análise mais íntegra e que possam ser acomodadas em pesquisas futuras. Uma das limitações refere-se ao período limitado de recolha de dados, o qual se focou exclusivamente numa época seca. Para uma compreensão mais completa das dinâmicas da TB, deve-se não só incluir outras épocas do ano, particularmente em ecossistemas sazonalmente variáveis, como também investigar um conjunto de anos consecutivos. Deste modo, será possível capturar as alterações sazonais e acompanhar as tendências a longo prazo dos padrões espaço-temporais das espécies e da relação entre estas. Por outro lado, uma área de estudo mais extensa poderia oferecer uma visão mais abrangente e representativa das interações entre os hospedeiros, e entre estes e o ambiente.

Neste seguimento, é importante notar que os resultados e interpretações deste estudo não devem ser extrapolados para outras épocas do ano ou ecossistemas, uma vez que cada contexto é único, dinâmico e influenciado por características específicas. Essas características podem incluir a densidade populacional das espécies, a fase do ciclo de vida (como a época de reprodução e de criação), bem como as relações espécie-habitat, as quais dependem da variabilidade ambiental, fenologia das espécies e pressões humanas (como a caça, a criação de pecuária e atividades de silvicultura). Esses aspetos podem levar a alterações comportamentais e exercer influência sobre a atividade espaço-temporal dos indivíduos. No futuro, a análise pode ser aprimorada com a inclusão de outros preditores potencialmente relevantes no contexto da TB, tais como: temporais (e.g. estação do ano e período do dia), ambientais (e.g. temperatura, precipitação, relevo, altitude e tipo de vegetação) e paisagísticos (e.g. distância a corpos de água, distância a manchas de floresta e outros pontos de agregação animal). Além disso, seria interessante replicar este estudo em outras regiões reconhecidas como focos de TB, como é o caso de Idanha-a-Nova. Investigar esta doença em diferentes contextos geográficos e ambientais é fundamental para entender melhor a sua distribuição e epidemiologia.

Adicionalmente, ao se definir as “interações indiretas”, apenas se considerou a época do ano aquando da estipulação da janela temporal crítica para a sobrevivência de *M. bovis*. Seria relevante incorporar outros fatores, como o tipo de substrato em que as interações ocorrem, pois poderão proporcionar condições distintas que levam à

manutenção da viabilidade do CMT no ambiente. Apesar dos esforços de investigação em curso, a quantificação rigorosa da sobrevivência ambiental de agentes patogénicos permanece desafiadora, especialmente em escalas mais refinadas, como ao nível local. Desta forma, é crucial aprofundar o conhecimento sobre a sobrevivência ambiental de micobactérias causadoras de TB, assim como de outros parâmetros que influenciam a transmissão (e.g. contaminação e infeciosidade ambientais), a fim de obter estimativas precisas e aplicáveis em diferentes contextos e estudos.

Por fim, este estudo refere-se exclusivamente às interações interespecíficas entre o gado bovino e as espécies selvagens. Como tal, não deve ser tomado como um modelo de transmissão, mas sim como uma indicação de potenciais oportunidades de transmissão de *M. bovis* no espaço, no tempo e por que espécies. Complementarmente, revela-se crucial investigar não apenas as interações entre animais domésticos e selvagens, mas também entre espécies selvagens, assim como a contribuição de cada hospedeiro. Esta abordagem é fundamental devido ao reconhecimento crescente do papel significativo dos hospedeiros selvagens na epidemiologia da TB.

5 – CONCLUSÃO

Este estudo contribuiu para a compreensão de uma comunidade de mamíferos potencialmente hospedeira de TB num contexto agroflorestal. Para a área de estudo e, pelo menos, para a época seca, determinou-se que os pontos de água desempenham um papel proeminente na interface gado bovino-espécies selvagens, e que as interações indiretas são o principal tipo de contacto que se estabelece nesta interface. Desta forma, evidencia-se o potencial risco associado à contaminação do ambiente partilhado. Adicionalmente, os hospedeiros reservatório (javali e veado) e a raposa destacaram-se como as espécies mais relevantes nas dinâmicas de interações neste sistema multi-hospedeiro, devido aos seus padrões espaço-temporais que potenciam ou resultam em interações com o gado bovino, aumentando, assim, as oportunidades de transmissão de TB.

Diante dos resultados obtidos, é imperativo implementar medidas de gestão direccionadas aos pontos de água, e aos hospedeiros reservatório e raposa, que previnam ou impossibilitem interações com o gado bovino, nestes locais e envolvendo estas espécies. No entanto, é fundamental não subestimar ou negligenciar outros fatores de risco ainda desconhecidos ou pouco compreendidos, como outros tipos de locais atrativos para as diferentes espécies, ou outros hospedeiros com possível envolvimento na transmissão da TB. Neste sentido, reforça-se a necessidade de investigação nas diversas áreas da TB, adotando uma abordagem integrada que englobe tanto a epidemiologia quanto a ecologia da doença. Esta perspetiva visa preencher as lacunas no conhecimento e orientar políticas de gestão biosseguras, eficazes e adequadas, que previnam a transmissão e manutenção da TB. Concluindo, acredita-se que o presente trabalho possa representar uma contribuição para o avanço do conhecimento sobre a doença em Portugal.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrantes, A. C., Serejo, J., & Vieira-Pinto, M. (2021). The Association between Palmer Drought Severity Index Data and Tuberculosis-like Lesions Occurrence in Mediterranean Hunted Wild Boars. *Animals*, 11(7), 2060. <https://doi.org/10.3390/ani11072060>
- Acevedo, P., Escudero, M. A., Muñoz, R., & Gortázar, C. (2006). Factors affecting wild boar abundance across an environmental gradient in Spain. *Acta Theriologica*, 51(3), 327–336. <https://doi.org/10.1007/BF03192685>
- Acevedo, P., Farfán, M. Á., Márquez, A. L., Delibes-Mateos, M., Real, R., & Vargas, J. M. (2011). Past, present and future of wild ungulates in relation to changes in land use. *Landscape Ecology*, 26(1), 19–31. <https://doi.org/10.1007/s10980-010-9538-2>
- Acevedo, P., Prieto, M., Quirós, P., Merediz, I., de Juan, L., Infantes-Lorenzo, J. A., Triguero-Ocaña, R., & Balseiro, A. (2019). Tuberculosis Epidemiology and Badger (*Meles meles*) Spatial Ecology in a Hot-Spot Area in Atlantic Spain. *Pathogens*, 8(4), 292. <https://doi.org/10.3390/pathogens8040292>
- Alexandre, M., Hipólito, D., Ferreira, E., Fonseca, C., & Rosalino, L. M. (2020). Humans do matter: determinants of red fox (*Vulpes vulpes*) presence in a western Mediterranean landscape. *Mammal Research*, 65(2), 203–214. <https://doi.org/10.1007/s13364-019-00449-y>
- Alves, R., Simões, J., Alcobia, S., & Nunes, C. (2022). *Plano de Gestão Florestal da Companhia das Lezírias (2022-2032)*.
- APA. (2023). *Riscos Ambientais*. <https://rea.apambiente.pt/content/seca?fbclid=IwAR1BP56qc9gchD2GHdCV6n81o7PJzulmzNW-jFz0VLHfpVJ6b9syrf0vzBU>
- Apollonio, M., Anderson, R., & Putman, R. (2010). *European ungulates and their management in the 21st Century*. Cambridge University Press.
- Apps, P. J., & McNutt, J. W. (2018). How camera traps work and how to work them. *African Journal of Ecology*, 56(4), 702–709. <https://doi.org/10.1111/aje.12563>
- Aranaz, A., de Juan, L., Montero, N., Sánchez, C., Galka, M., Delso, C., Álvarez, J., Romero, B., Bezos, J., Vela, A. I., Briones, V., Mateos, A., & Domínguez, L. (2004). Bovine Tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in Wildlife in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6), 2602–2608. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.6.2602-2608.2004>
- Balseiro, A., González-Quirós, P., Rodríguez, Ó., Francisca Copano, M., Merediz, I., de Juan, L., Chambers, M. A., Delahay, R. J., Marreros, N., Royo, L. J., Bezos, J., Prieto, J. M., & Gortázar, C. (2013). Spatial relationships between Eurasian badgers (*Meles meles*) and cattle infected with *Mycobacterium bovis* in Northern Spain. *The Veterinary Journal*, 197(3), 739–745. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.03.017>
- Bandeira, V., Virgós, E., Carvalho, J., Barros, T., Cunha, M. V., & Fonseca, C. (2018). Diet footprint of Egyptian mongoose along ecological gradients: effects of primary

- productivity and life history traits. *Mammalian Biology*, 88, 16–25.
<https://doi.org/10.1016/j.mambio.2017.11.004>
- Barasona, J. A., Latham, M. C., Acevedo, P., Armenteros, J. A., Latham, A. D. M., Gortázar, C., Carro, F., Soriguer, R. C., & Vicente, J. (2014a). Spatiotemporal interactions between wild boar and cattle: implications for cross-species disease transmission. *Veterinary Research*, 45(1), 122. <https://doi.org/10.1186/s13567-014-0122-7>
- Barasona, J. A., Mulero-Pázmány, M., Acevedo, P., Negro, J. J., Torres, M. J., Gortázar, C., & Vicente, J. (2014b). Unmanned Aircraft Systems for Studying Spatial Abundance of Ungulates: Relevance to Spatial Epidemiology. *PLoS ONE*, 9(12), e115608. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115608>
- Barasona, J. A., Vicente, J., Díez-Delgado, I., Aznar, J., Gortázar, C., & Torres, M. J. (2017). Environmental Presence of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in Aggregation Points at the Wildlife/Livestock Interface. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(4), 1148–1158. <https://doi.org/10.1111/tbed.12480>
- Barbier, E., Rochelet, M., Gal, L., Boschioli, M. L., & Hartmann, A. (2017). Impact of temperature and soil type on *Mycobacterium bovis* survival in the environment. *PLOS ONE*, 12(4), e0176315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176315>
- Barrett, R. H. (1982). Habitat Preferences of Feral Hogs, Deer, and Cattle on a Sierra Foothill Range. *Journal of Range Management*, 35(3), 342.
<https://doi.org/10.2307/3898314>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. M., & Walker, S. C. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1).
<https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Baubet, E., Ropert-Coudert, Y., & Brandt, S. (2003). Seasonal and annual variations in earthworm consumption by wild boar (*Sus scrofa scrofa* L.). *Wildlife Research*, 30(2), 179. <https://doi.org/10.1071/WR00113>
- Bencatel, J., Sabino-Marques, H., Álvares, F., Moura A., E., & Barbosa A., M. (2019). *Atlas de Mamíferos de Portugal, 2ª edição*. Universidade de Évora.
- Borham, M., Oreiby, A., El-Gedawy, A., Hegazy, Y., Khalifa, H. O., Al-Gaabary, M., & Matsumoto, T. (2022). Review on Bovine Tuberculosis: An Emerging Disease Associated with Multidrug-Resistant *Mycobacterium* Species. *Pathogens*, 11(7), 715. <https://doi.org/10.3390/pathogens11070715>
- Brivio, F., Grignolio, S., Brogi, R., Benazzi, M., Bertolucci, C., & Apollonio, M. (2017). An analysis of intrinsic and extrinsic factors affecting the activity of a nocturnal species: The wild boar. *Mammalian Biology*, 84, 73–81.
<https://doi.org/10.1016/j.mambio.2017.01.007>
- Brosh, A., Henkin, Z., Orlov, A., & Aharoni, Y. (2006). Diet composition and energy balance of cows grazing on Mediterranean woodland. *Livestock Science*, 102(1–2), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.11.016>
- Brüns, A. C., Tanner, M., Williams, M. C., Botha, L., O'Brien, A., Fosgate, G. T., van Helden, P. D., Clarke, J., & Michel, A. L. (2017). Diagnosis and implications of *Mycobacterium bovis* infection in banded mongooses (*Mungos mungo*) in the

- Kruger National Park, South Africa. *Journal of Wildlife Diseases*, 53(1), 19–29.
<https://doi.org/10.7589/2015-11-318>
- Bueno, C. G., & Jiménez, J. J. (2014). Livestock grazing activities and wild boar rooting affect alpine earthworm communities in the Central Pyrenees (Spain). *Applied Soil Ecology*, 83, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.04.013>
- Bugalho, M. N., & Milne, J. A. (2003). The composition of the diet of red deer (*Cervus elaphus*) in a Mediterranean environment: a case of summer nutritional constraint? *Forest Ecology and Management*, 181(1–2), 23–29.
[https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(03\)00125-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(03)00125-7)
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2002). Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach. *Springer*.
- Campbell, E. L., Byrne, A. W., Menzies, F. D., McBride, K. R., McCormick, C. M., Scantlebury, M., & Reid, N. (2019). Interspecific visitation of cattle and badgers to fomites: A transmission risk for bovine tuberculosis? *Ecology and Evolution*, 9(15), 8479–8489. <https://doi.org/10.1002/ece3.5282>
- Carranza, J., Hidalgo de Trucios, S. J., Medina, R., Valencia, J., & Delgado, J. (1991). Space use by red deer in a Mediterranean ecosystem as determined by radio-tracking. *Applied Animal Behaviour Science*, 30(3–4), 363–371.
[https://doi.org/10.1016/0168-1591\(91\)90141-J](https://doi.org/10.1016/0168-1591(91)90141-J)
- Carrasco-Garcia, R., Barasona, J. A., Gortázar, C., Montoro, V., Sanchez-Vizcaino, J. M., & Vicente, J. (2016). Wildlife and livestock use of extensive farm resources in South Central Spain: implications for disease transmission. *European Journal of Wildlife Research*, 62(1), 65–78. <https://doi.org/10.1007/s10344-015-0974-9>
- Carrasco-Garcia, R., Barroso, P., Perez-Olivares, J., Montoro, V., & Vicente, J. (2018). Consumption of Big Game Remains by Scavengers: A Potential Risk as Regards Disease Transmission in Central Spain. *Frontiers in Veterinary Science*, 5.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00004>
- Carstensen, M., & DonCarlos, M. W. (2011). Preventing the Establishment of a Wildlife Disease Reservoir: A Case Study of Bovine Tuberculosis in Wild Deer in Minnesota, USA. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1–10.
<https://doi.org/10.4061/2011/413240>
- Clavero, M., Hermoso, V., Brotons, L., & Delibes, M. (2010). Natural, human and spatial constraints to expanding populations of otters in the Iberian Peninsula. *Journal of Biogeography*, 37(12), 2345–2357. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02377.x>
- Cooper, S. M., Scott, H. M., de la Garza, G. R., Deck, A. L., & Cathey, J. C. (2010). Distribution and interspecies contact of feral swine and cattle on rangeland in South Texas: implications for disease transmission. *Journal of Wildlife Diseases*, 46(1), 152–164. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.1.152>
- Corner, L. A. L., Murphy, D., & Gormley, E. (2011). *Mycobacterium bovis* Infection in the Eurasian Badger (*Meles meles*): the Disease, Pathogenesis, Epidemiology and Control. *Journal of Comparative Pathology*, 144(1), 1–24.
<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2010.10.003>

- Courtenay, O., Reilly, L. A., Sweeney, F. P., Hibberd, V., Bryan, S., Ul-Hassan, A., Newman, C., Macdonald, D. W., Delahay, R. J., Wilson, G. J., & Wellington, E. M. H. (2006). Is *Mycobacterium bovis* in the environment important for the persistence of bovine tuberculosis? *Biology Letters*, 2(3), 460–462. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2006.0468>
- Cowie, C. E., Beck, B. B., Gortázar, C., Vicente, J., Hutchings, M. R., Moran, D., & White, P. C. L. (2014). Risk factors for the detected presence of *Mycobacterium bovis* in cattle in south central Spain. *European Journal of Wildlife Research*, 60(1), 113–123. <https://doi.org/10.1007/s10344-013-0757-0>
- Cowie, C. E., Hutchings, M. R., Barasona, J. A., Gortázar, C., Vicente, J., & White, P. C. L. (2016). Interactions between four species in a complex wildlife: livestock disease community: implications for *Mycobacterium bovis* maintenance and transmission. *European Journal of Wildlife Research*, 62(1), 51–64. <https://doi.org/10.1007/s10344-015-0973-x>
- Cunha, M. V., Matos, F., Canto, A., Albuquerque, T., Alberto, J. R., Aranha, J. M., Vieira-Pinto, M., & Botelho, A. (2012). Implications and challenges of tuberculosis in wildlife ungulates in Portugal: A molecular epidemiology perspective. *Research in Veterinary Science*, 92(2), 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.03.009>
- Cunha, M. V., Monteiro, M., Carvalho, P., Mendonça, P., Albuquerque, T., & Botelho, A. (2011). Multihost Tuberculosis: Insights from the Portuguese Control Program. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1–10. <https://doi.org/10.4061/2011/795165>
- Cunha, M. V., Reis, A., Botelho, A., & Proença, J. (2019a). *Tuberculose animal. A realidade em Portugal*.
- Cunha, M. V., Reis, A. C., & Vitorino, P. (2019b). Expansão demográfica do javali. *Revista Caça & Cães de Caça*, 257, 49–51. www.researchgate.net/publication/337906060_Expansao_demografica_do_javali
- Cunha, M. V., Reis, A., Pereira, A., Ramos, B., Albuquerque, T., Botelho, A., & Santos, N. (2019c). Tuberculose animal: diagnóstico, epidemiologia, investigação e controlo. *Vida Rural*, 38–44.
- Curveira-Santos, G., Marques, T. A., Björklund, M., & Santos-Reis, M. (2017). Mediterranean mesocarnivores in spatially structured managed landscapes: community organisation in time and space. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 237, 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.12.037>
- Curveira-Santos, G., Pedroso, N. M., Barros, A. L., & Santos-Reis, M. (2019). Mesocarnivore community structure under predator control: Unintended patterns in a conservation context. *PLOS ONE*, 14(1), e0210661. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210661>
- Delahay, R. J., De Leeuw, A. N. S., Barlow, A. M., Clifton-Hadley, R. S., & Cheeseman, C. L. (2002). The Status of *Mycobacterium bovis* Infection in UK Wild Mammals: A Review. *The Veterinary Journal*, 164(2), 90–105. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2001.0667>
- Delahay, R. J., Langton, S., Smith, G. C., Clifton-Hadley, R. S., & Cheeseman, C. L. (2000). The spatio-temporal distribution of *Mycobacterium bovis* (bovine

- tuberculosis) infection in a high-density badger population. *Journal of Animal Ecology*, 69(3), 428–441. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2000.00406.x>
- Delahay, R. J., Smith, G. C., Barlow, A. M., Walker, N., Harris, A., Clifton-Hadley, R. S., & Cheeseman, C. L. (2007). Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: A survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle. *The Veterinary Journal*, 173(2), 287–301. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.11.011>
- DGAV. (2011). *Tuberculose Em Caça Maior*.
- DGAV. (2018). *Relatório Técnico – Plano de Erradicação: Tuberculose Dos Bovinos*.
- DGAV. (2023). *Planos Oficiais. Saúde Animal em Bovinos*.
<https://www.dgav.pt/animais/conteudo/animais-de-producao/bovinos/saude-animal-em-bovinos/planos-de-controlo-oficial-e-relatorios/>
- Direção-Geral do Território. (2019). Carta de Uso e Ocupação do Solo – 2018. *Portal de Dados Aberto Da Administração Pública*.
- Drewe, J. A., O'Connor, H. M., Weber, N., McDonald, R. A., & Delahay, R. J. (2013). Patterns of direct and indirect contact between cattle and badgers naturally infected with tuberculosis. *Epidemiology and Infection*, 141(7), 1467–1475. <https://doi.org/10.1017/S0950268813000691>
- Duarte, E. L., Domingos, M., Amado, A., & Botelho, A. (2008). Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* animal isolates. *Veterinary Microbiology*, 130(3–4), 415–421. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.02.012>
- Duarte, E. L., Domingos, M., Amado, A., Cunha, M. V., & Botelho, A. (2010). MIRU-VNTR typing adds discriminatory value to groups of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* strains defined by spoligotyping. *Veterinary Microbiology*, 143(2–4), 299–306. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.11.027>
- Dürr, S., Müller, B., Alonso, S., Hattendorf, J., Laisse, C. J. M., van Helden, P. D., & Zinsstag, J. (2013). Differences in Primary Sites of Infection between Zoonotic and Human Tuberculosis: Results from a Worldwide Systematic Review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(8), e2399. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002399>
- European Commission. (2015). *Programmes for eradication, control and surveillance of animal diseases and zoonoses submitted for obtaining EU contribution. Annex I.B: Programme for the eradication of bovine tuberculosis, bovine brucellosis or sheep and goat brucellosis (B. melitensis)*. https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/01/Portugal-_Tb2016_-alterado-7out15_programas_portal.pdf
- Ferreira, E. M., Duarte, E. L., Cunha, M. V., Mira, A., & Santos, S. M. (2023). Disentangling wildlife–cattle interactions in multi-host tuberculosis scenarios: systematic review and meta-analysis. *Mammal Review*, 53(4), 287–302. <https://doi.org/10.1111/mam.12324>
- Ferreiro-Arias, I., Isla, J., Jordano, P., & Benítez-López, A. (2021). Fine-scale coexistence between Mediterranean mesocarnivores is mediated by spatial, temporal, and trophic resource partitioning. *Ecology and Evolution*, 11(22), 15520–15533. <https://doi.org/10.1002/ece3.8077>

- Ferreras-Colino, E., Descalzo, E., Romero, B., Gortázar, C., & Ferreras, P. (2023). *Mycobacterium bovis* in Egyptian mongoose, Spain. *Zoonoses and Public Health*, 70(4), 365–368. <https://doi.org/10.1111/zph.13033>
- Fine, A. E., Bolin, C. A., Gardiner, J. C., & Kaneene, J. B. (2011). A Study of the Persistence of *Mycobacterium bovis* in the Environment under Natural Weather Conditions in Michigan, USA. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1–12. <https://doi.org/10.4061/2011/765430>
- Fitzgerald, S. D., & Kaneene, J. B. (2013). Wildlife Reservoirs of Bovine Tuberculosis Worldwide: Hosts, Pathology, Surveillance, and Control. *Veterinary Pathology*, 50(3), 488–499. <https://doi.org/10.1177/0300985812467472>
- Fonseca, A. (2004). *O Montado no Alentejo (Séculos XV a XVIII)*. Fernando Mão de Ferro.
- Fox, J., & Weisberg, S. (2019). *An R Companion to Applied Regression*. Sage.
- Gaubert, P. (2016). Fate of the Mongooses and the Genet (Carnivora) in Mediterranean Europe: None Native, All Invasive? In *Problematic Wildlife* (pp. 295–314). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22246-2_14
- Gavier-Widén, D., Duff, J. P., & Meredith, A. (2012). *Infectious Diseases of Wild Mammals and Birds in Europe*. Wiley Black Well.
- Gonçalves, P., Alcobia, S., Simões, L., & Santos-Reis, M. (2012). Effects of management options on mammal richness in a Mediterranean agro-silvo-pastoral system. *Agroforestry Systems*, 85(3), 383–395. <https://doi.org/10.1007/s10457-011-9439-7>
- Gonçalves, S., Cardoso, M. F., Vieira-Pinto, M., & Gomes-Neves, E. (2022). Bovine Tuberculosis - Analysis of 10-year cases and impact of visual inspection in the surveillance at the slaughterhouse in Portugal. *One Health*, 15, 100451. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100451>
- González-Crespo, C., Serrano, E., Cahill, S., Castillo-Contreras, R., Cabañeros, L., López-Martín, J. M., Roldán, J., Lavín, S., & López-Olvera, J. R. (2018). Stochastic assessment of management strategies for a Mediterranean peri-urban wild boar population. *PLOS ONE*, 13(8), e0202289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202289>
- Gortázar, C., Acevedo, P., Ruiz-Fons, F., & Vicente, J. (2006). Disease risks and overabundance of game species. *European Journal of Wildlife Research*, 52(2), 81–87. <https://doi.org/10.1007/s10344-005-0022-2>
- Gortázar, C., & Boadella, M. (2014). Animal tuberculosis in Spain: A multihost system. In C.O. Thoen, J.H. Steele and J.B. Kaneene (Eds.), *Zoonotic Tuberculosis: Mycobacterium bovis and other pathogenic mycobacteria*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118474310.ch30>
- Gortázar, C., Che Amat, A., & O'Brien, D. J. (2015a). Open questions and recent advances in the control of a multi-host infectious disease: animal tuberculosis. *Mammal Review*, 45(3), 160–175. <https://doi.org/10.1111/mam.12042>

- Gortázar, C., Delahay, R. J., McDonald, R. A., Boadella, M., Wilson, G. J., Gavier-Widen, D., & Acevedo, P. (2012). The status of tuberculosis in European wild mammals. *Mammal Review*, 42(3), 193–206. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2011.00191.x>
- Gortázar, C., Diez-Delgado, I., Barasona, J. A., Vicente, J., De La Fuente, J., & Boadella, M. (2015b). The Wild Side of Disease Control at the Wildlife-Livestock-Human Interface: A Review. *Frontiers in Veterinary Science*, 1. <https://doi.org/10.3389/fvets.2014.00027>
- Gortázar, C., Ferroglio, E., Höfle, U., Frölich, K., & Vicente, J. (2007). Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective. *European Journal of Wildlife Research*, 53(4), 241. <https://doi.org/10.1007/s10344-007-0098-y>
- Gortázar, C., Torres, M. J., Vicente, J., Acevedo, P., Reglero, M., de la Fuente, J., Negro, J. J., & Aznar-Martín, J. (2008). Bovine Tuberculosis in Doñana Biosphere Reserve: The Role of Wild Ungulates as Disease Reservoirs in the Last Iberian Lynx Strongholds. *PLoS ONE*, 3(7), e2776. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002776>
- Gortázar, C., Vicente, J., Boadella, M., Ballesteros, C., Galindo, R. C., Garrido, J., Aranaz, A., & de la Fuente, J. (2011). Progress in the control of bovine tuberculosis in Spanish wildlife. *Veterinary Microbiology*, 151(1–2), 170–178. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.041>
- Grilo, F., Ferreira, E., Alcobia, S., Simões, L., & Santos-Reis, M. (2016). Do fine-scale factors shape the use of riparian galleries by carnivores in a Mediterranean agro-forested environment? *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, 2(4), 59–71.
- Hardstaff, J. L., Marion, G., Hutchings, M. R., & White, P. C. L. (2014). Evaluating the tuberculosis hazard posed to cattle from wildlife across Europe. *Research in Veterinary Science*, 97, S86–S93. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.12.002>
- Hayat, M. J., & Higgins, M. (2014). Understanding Poisson Regression. *Journal of Nursing Education*, 53(4), 207–215. <https://doi.org/10.3928/01484834-20140325-04>
- Haydon, D., Cleaveland, S., Taylor, L., & Laurenson, M. (2003). Identifying Reservoirs of Infection: A Conceptual and Practical Challenge. *Emerging Infectious Diseases*, 8, 1468–1473. <https://doi.org/10.3201/eid0812.010317>
- Hibert, F., Calenge, C., Fritz, H., Maillard, D., Bouché, P., Ipavec, A., Convers, A., Ombredane, D., & de Visscher, M.-N. (2010). Spatial avoidance of invading pastoral cattle by wild ungulates: insights from using point process statistics. *Biodiversity and Conservation*, 19(7), 2003–2024. <https://doi.org/10.1007/s10531-010-9822-0>
- Hipólito, D., Santos-Reis, M., & Rosalino, L. M. (2016a). Effects of agro-forestry activities, cattle-raising practices and food-related factors in badger sett location and use in Portugal. *Mammalian Biology*, 81(2), 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2015.11.005>

- Hipólito, D., Santos-Reis, M., & Rosalino, L. M. (2016b). European badger (*Meles meles*) diet in an agroforestry and cattle ranching area of Central-West Portugal. *Wildlife Biology in Practice*, 12(3). <https://doi.org/10.2461/wbp.2016.eb.1>
- IPMA. (2022). *Normal Climatológica – Beja 1981-2010*.
- IPMA. (2023). *Índice PDSI (Palmer Drought Severity Index)*. https://www.ipma.pt/pt/oclima/observatorio.secas/pdsi/monitorizacao/servico.situacaoatual/?fbclid=IwAR0yIMIN8VG28QxHTiew3_axgGApsLXdkGUshAgJHgnogczRu4LPqAISOB1
- IUCN. (2024). *The IUCN Red List of Threatened Species*. www.iucnredlist.org
- Johnson, P. C. D. (2014). Extension of Nakagawa & Schielzeth's R2GLMM to random slopes models. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(9), 944–946. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12225>
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7181), 990–993. <https://doi.org/10.1038/nature06536>
- Kaneene, J. B., & Pfeiffer, D. (2006). Epidemiology of *Mycobacterium Bovis*. In *Mycobacterium Bovis Infection in Animals and Humans* (pp. 34–48). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470344538.ch5>
- Keuling, O., Podgórski, T., Monaco, A., Melletti, M., Merta, D., Albrycht, M., Genov, P. V., Gethöffer, F., Vetter, S. g., Jori, F., Scalera, R., & Gongora, J. (2018). Eurasian wild boar *Sus scrofa* (Linnaeus, 1758). In M. Melletti & E. Meijaard (Eds.), *Ecology, conservation and management of wild pigs and peccaries* (pp. 202–233). Cambridge University Press.
- Kie, J. G., Evans, C. J., Loft, E. R., & Menke, J. W. (1991). Foraging Behavior by Mule Deer: The Influence of Cattle Grazing. *The Journal of Wildlife Management*, 55(4), 665. <https://doi.org/10.2307/3809516>
- Kronfeld-Schor, N., & Dayan, T. (2003). Partitioning of Time as an Ecological Resource. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34(1), 153–181. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132435>
- Kukielka, E., Barasona, J. A., Cowie, C. E., Drewe, J. A., Gortázar, C., Cotarelo, I., & Vicente, J. (2013). Spatial and temporal interactions between livestock and wildlife in South Central Spain assessed by camera traps. *Preventive Veterinary Medicine*, 112(3–4), 213–221. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.08.008>
- Kumar, N. S., Karanth, K. U., Nichols, J. D., Vaidyanathan, S., Gardner, B., & Krishnaswamy, J. (2021). Development of Hierarchical Spatial Models for Assessing Ungulate Abundance and Habitat Relationships. In *Spatial Dynamics and Ecology of Large Ungulate Populations in Tropical Forests of India* (pp. 35–82). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6934-0_2
- Laguna, E., Barasona, J. A., Vicente, J., Keuling, O., & Acevedo, P. (2021). Differences in wild boar spatial behaviour among land uses and management scenarios in Mediterranean ecosystems. *Science of The Total Environment*, 796, 148966. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148966>

- LaHue, N. P., Baños, J. V., Acevedo, P., Gortázar, C., & Martínez-López, B. (2016). Spatially explicit modeling of animal tuberculosis at the wildlife-livestock interface in Ciudad Real province, Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 128, 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.04.011>
- Latham, J. (1999). Interspecific interactions of ungulates in European forests: an overview. *Forest Ecology and Management*, 120(1–3), 13–21. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(98\)00539-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(98)00539-8)
- Madeira, S., Manteigas, A., Ribeiro, R., Otte, J., Fonseca, A. P., Caetano, P., Abernethy, D., & Boinas, F. (2017). Factors that Influence *Mycobacterium bovis* Infection in Red Deer and Wild Boar in an Epidemiological Risk Area for Tuberculosis of Game Species in Portugal. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(3), 793–804. <https://doi.org/10.1111/tbed.12439>
- Martín-Atance, P., León-Vizcaíno, L., Palomares, F., Revilla, E., González-Candela, M., Calzada, J., Cubero-Pablo, M. J., & Delibes, M. (2006). Antibodies to *Mycobacterium bovis* in Wild Carnivores from Doñana National Park (Spain). *Journal of Wildlife Diseases*, 42(3), 704–708. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-42.3.704>
- Martínez-Guijosa, J., López-Alonso, A., Gortázar, C., Acevedo, P., Torres, M. J., & Vicente, J. (2021). Shared use of mineral supplement in extensive farming and its potential for infection transmission at the wildlife-livestock interface. *European Journal of Wildlife Research*, 67(3), 55. <https://doi.org/10.1007/s10344-021-01493-3>
- Mathias, M. L., Fonseca, C., Rodrigues, L., Grilo, C., Lopes-Fernandes, M., Palmeirim, J. M., Santos-Reis, M., Alves, P. C., Cabral, J. A., Ferreira, M., Mira, A., Eira, C., Negrões, N., Paupério, J., Pita, R., Rainho, A., Rosalino, L. M., Tapisso, J. T., & Vingada, J. (2023). *Livro Vermelho dos Mamíferos de Portugal Continental*. FCiências.ID, ICNF.
- Matos, A. C., Figueira, L., Martins, M. H., Matos, M., Morais, M., Dias, A. P., & Coelho, A. C. (2013). *Mycobacterium bovis* in an Egyptian mongoose. *Veterinary Record*, 173(15), 376–377. <https://doi.org/10.1136/vr.f6231>
- Matos, A. C., Figueira, L., Martins, M. H., Matos, M., Morais, M., Dias, A. P., Pinto, M. L., & Coelho, A. C. (2014a). Disseminated *Mycobacterium bovis* Infection in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) with Cerebral Involvement Found in Portugal. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(7), 531–533. <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1500>
- Matos, A. C., Figueira, L., Martins, M. H., Pinto, M. L., Matos, M., & Coelho, A. C. (2014b). New Insights into *Mycobacterium bovis* Prevalence in Wild Mammals in Portugal. *Transboundary and Emerging Diseases*, 63(5), e313–e322. <https://doi.org/10.1111/tbed.12306>
- Meredith, M., & Ridout, M. S. (2014). The overlap package. *CRAN*.
- Meurens, F., Dunoyer, C., Fourichon, C., Gerdts, V., Haddad, N., Kortekaas, J., Lewandowska, M., Monchatre-Leroy, E., Summerfield, A., Wichgers Schreur, P. J., van der Poel, W. H. M., & Zhu, J. (2021). Animal board invited review: Risks of zoonotic disease emergence at the interface of wildlife and livestock systems. *Animal*, 15(6), 100241. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100241>

- Michel, A. L., Bengis, R. G., Keet, D. F., Hofmeyr, M., Klerk, L. M. de, Cross, P. C., Jolles, A. E., Cooper, D., Whyte, I. J., Buss, P., & Godfroid, J. (2006). Wildlife tuberculosis in South African conservation areas: Implications and challenges. *Veterinary Microbiology*, 112(2–4), 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.035>
- Michel, A. L., Müller, B., & van Helden, P. D. (2010). *Mycobacterium bovis* at the animal–human interface: A problem, or not? *Veterinary Microbiology*, 140(3–4), 371–381. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.029>
- Michelet, L., De Cruz, K., Hénault, S., Tambosco, J., Richomme, C., Réveillaud, É., Gares, H., Moyon, J.-L., & Boschioli, M. L. (2018). *Mycobacterium bovis* Infection of Red Fox, France. *Emerging Infectious Diseases*, 24(6), 1150–1153. <https://doi.org/10.3201/eid2406.180094>
- Millán, J., Candela, M. G., Palomares, F., Cubero, M. J., Rodríguez, A., Barral, M., de la Fuente, J., Almería, S., & León-Vizcaíno, L. (2009). Disease threats to the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *The Veterinary Journal*, 182(1), 114–124. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.04.005>
- Millán, J., Jiménez, M. Á., Viota, M., Candela, M. G., Peña, L., & León-Vizcaíno, L. (2008). Disseminated Bovine Tuberculosis in a Wild Red Fox (*Vulpes vulpes*) in Southern Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 44(3), 701–706. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.3.701>
- Miller, M. A. (2015). *Tuberculosis in South African Wildlife: Why is it important?* SU Language Centre.
- Monterroso, P., Alves, P. C., & Ferreras, P. (2014a). Plasticity in circadian activity patterns of mesocarnivores in Southwestern Europe: implications for species coexistence. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 68(9), 1403–1417. <https://doi.org/10.1007/s00265-014-1748-1>
- Monterroso, P., Rich, L. N., Serronha, A., Ferreras, P., & Alves, P. C. (2014b). Efficiency of hair snares and camera traps to survey mesocarnivore populations. *European Journal of Wildlife Research*, 60(2), 279–289. <https://doi.org/10.1007/s10344-013-0780-1>
- Mtsetwa, H. N., Amoah, I. D., Kumari, S., Bux, F., & Reddy, P. (2022). The source and fate of *Mycobacterium tuberculosis* complex in wastewater and possible routes of transmission. *BMC Public Health*, 22(1), 145. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-12527-z>
- Müller, B., Dürr, S., Alonso, S., Hattendorf, J., Laisse, C. J. M., Parsons, S. D. C., van Helden, P. D., & Zinsstag, J. (2013). Zoonotic *Mycobacterium bovis* – induced Tuberculosis in Humans. *Emerging Infectious Diseases*, 19(6), 899–908. <https://doi.org/10.3201/eid1906.120543>
- Município de Barrancos & Unidade de Ação Sociocultural. (2019). *Diagnóstico Social de Barrancos (3ª atualização)*.
- Muñoz, A., Bonal, R., & Díaz, M. (2009). Ungulates, rodents, shrubs: interactions in a diverse Mediterranean ecosystem. *Basic and Applied Ecology*, 10(2), 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2008.01.003>

- Naranjo, V., Gortázar, C., Vicente, J., & de la Fuente, J. (2008). Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Veterinary Microbiology*, 127(1–2), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.10.002>
- Oberosler, V., Groff, C., Iemma, A., Pedrini, P., & Rovero, F. (2017). The influence of human disturbance on occupancy and activity patterns of mammals in the Italian Alps from systematic camera trapping. *Mammalian Biology*, 87, 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2017.05.005>
- O'Brien, D. J., Schmitt, S. M., Rudolph, B. A., & Nugent, G. (2011). Recent advances in the management of bovine tuberculosis in free-ranging wildlife. *Veterinary Microbiology*, 151(1–2), 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.022>
- O'Connor, C. M., Haydon, D. T., & Kao, R. R. (2012). An ecological and comparative perspective on the control of bovine tuberculosis in Great Britain and the Republic of Ireland. *Preventive Veterinary Medicine*, 104(3–4), 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.11.010>
- Palmer, M. V. (2013). *Mycobacterium bovis*: Characteristics of Wildlife Reservoir Hosts. *Transboundary and Emerging Diseases*, 60, 1–13. <https://doi.org/10.1111/tbed.12115>
- Palomares, F., & Delibes, M. (1991). Assessing Three Methods to Estimate Daily Activity Patterns in Radio-Tracked Mongooses. *The Journal of Wildlife Management*, 55(4), 698. <https://doi.org/10.2307/3809521>
- Parratt, S. R., Numminen, E., & Laine, A.-L. (2016). Infectious Disease Dynamics in Heterogeneous Landscapes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 47(1), 283–306. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-121415-032321>
- Pauli, J. N., Whiteman, J. P., Riley, M. D., & Middleton, A. D. (2010). Defining Noninvasive Approaches for Sampling of Vertebrates. *Conservation Biology*, 24(1), 349–352. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2009.01298.x>
- Payne, A. (2014). *Rôle de la faune sauvage dans le système multi-hôtes de Mycobacterium bovis et risque de transmission entre faune sauvage et bovins: étude expérimentale en Côte d'Or*. [Ph.D.]. Université Claude Bernard.
- Payne, A., Philippon, S., Hars, J., Dufour, B., & Gilot-Fromont, E. (2017). Wildlife Interactions on Baited Places and Waterholes in a French Area Infected by Bovine Tuberculosis. *Frontiers in Veterinary Science*, 3. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00122>
- Peixoto, R. da S. (2015). *Biologia Populacional de um Repovoamento de Veado (Cervus elaphus L.) em Ambiente Mediterrânico: Padrões de Uso do Espaço, Expansão Geográfica e Dinâmica de uma População Fundadora* [Ph.D.]. Universidade de Évora.
- Pereira, A. C., Reis, A. C., Ramos, B., & Cunha, M. V. (2020). Animal tuberculosis: impact of disease heterogeneity in transmission, diagnosis, and control. *Transboundary and Emerging Diseases*, tbed.13539. <https://doi.org/10.1111/tbed.13539>

- Pereira, P., Alves da Silva, A., Alves, J., Matos, M., & Fonseca, C. (2012). Coexistence of carnivores in a heterogeneous landscape: habitat selection and ecological niches. *Ecological Research*, 27(4), 745–753. <https://doi.org/10.1007/s11284-012-0949-1>
- Pérez de Val, B., Perea, C., Estruch, J., Solano-Manrique, C., Riera, C., Sanz, A., Vidal, E., & Velarde, R. (2022). Generalized tuberculosis due to *Mycobacterium caprae* in a red fox phylogenetically related to livestock breakdowns. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 352. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03454-7>
- Pinto-Correia, T., & Voss, W. (2005). Multifunctionality in Mediterranean Landscapes - past and future. In R. H. G. Jongman (Ed.), *The New Dimensions of the European Landscapes*. Springer Science & Business Media.
- Power, A. G., & Mitchell, C. E. (2004). Pathogen Spillover in Disease Epidemics. *The American Naturalist*, 164(S5), S79–S89. <https://doi.org/10.1086/424610>
- QGIS Development Team. (2009). QGIS Geographic Information System. *Open Source Geospatial Foundation*.
- R Core Team. (2022). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*.
- Ramos, B., Pereira, A. C., Reis, A. C., & Cunha, M. V. (2020). Estimates of the global and continental burden of animal tuberculosis in key livestock species worldwide: A meta-analysis study. *One Health*, 10, 100169. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2020.100169>
- Rasambainarivo, F., Farris, Z. J., Andrianalizah, H., & Parker, P. G. (2017). Interactions Between Carnivores in Madagascar and the Risk of Disease Transmission. *EcoHealth*, 14(4), 691–703. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1280-7>
- Reis, A. C., Ramos, B., Pereira, A. C., & Cunha, M. V. (2021). The hard numbers of tuberculosis epidemiology in wildlife: A meta-regression and systematic review. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 3257–3276. <https://doi.org/10.1111/tbed.13948>
- Reis, A. C., Tenreiro, R., Albuquerque, T., Botelho, A., & Cunha, M. V. (2020). Long-term molecular surveillance provides clues on a cattle origin for *Mycobacterium bovis* in Portugal. *Scientific Reports*, 10(1), 20856. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77713-8>
- Renwick, A. R., White, P. C. L., & Bengis, R. G. (2007). Bovine tuberculosis in southern African wildlife: a multi-species host–pathogen system. *Epidemiology and Infection*, 135(4), 529–540. <https://doi.org/10.1017/S0950268806007205>
- Rhyan, J. C., & Spraker, T. R. (2010). Emergence of Diseases From Wildlife Reservoirs. *Veterinary Pathology*, 47(1), 34–39. <https://doi.org/10.1177/0300985809354466>
- Richomme, C., Réveillaud, E., Moyen, J.-L., Sabatier, P., De Cruz, K., Michelet, L., & Boschioli, M. L. (2020). *Mycobacterium bovis* Infection in Red Foxes in Four Animal Tuberculosis Endemic Areas in France. *Microorganisms*, 8(7), 1070. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071070>

- Ridout, M. S., & Linkie, M. (2009). Estimating overlap of daily activity patterns from camera trap data. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 14(3), 322–337. <https://doi.org/10.1198/jabes.2009.08038>
- Rivero, M. J., Grau-Campanario, P., Mullan, S., Held, S. D. E., Stokes, J. E., Lee, M. R. F., & Cardenas, L. M. (2021). Factors Affecting Site Use Preference of Grazing Cattle Studied from 2000 to 2020 through GPS Tracking: A Review. *Sensors*, 21(8), 2696. <https://doi.org/10.3390/s21082696>
- Roberts, M. G., & Heesterbeek, J. A. P. (2020). Characterizing reservoirs of infection and the maintenance of pathogens in ecosystems. *Journal of The Royal Society Interface*, 17(162), 20190540. <https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0540>
- Rodriguez-Campos, S., Smith, N. H., Boniotti, M. B., & Aranaz, A. (2014). Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. *Research in Veterinary Science*, 97, S5–S19. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.02.009>
- Rodríguez-Hernández, E., Pizano-Martínez, O. E., Canto-Alarcón, G., Flores-Villalva, S., Quintas-Granados, L. I., & Milián-Suazo, F. (2016). Persistence of *Mycobacterium bovis* under environmental conditions. *Reviews in Medical Microbiology*, 27(1), 20–24. <https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000059>
- Roemer, G. W., Gompper, M. E., & Van Valkenburgh, B. (2009). The Ecological Role of the Mammalian Mesocarnivore. *BioScience*, 59(2), 165–173. <https://doi.org/10.1525/bio.2009.59.2.9>
- Rosalino, L. M., Loureiro, F., MacDonald, D. W., & Santos-Reis, M. (2005a). Dietary shifts of the badger (*Meles meles*) in Mediterranean woodlands: an opportunistic forager with seasonal pedalisms. *Mammalian Biology*, 70, 12–23.
- Rosalino, L. M., Macdonald, D. W., & Santos-Reis, M. (2004). Spatial structure and land-cover use in a low-density Mediterranean population of Eurasian badgers. *Canadian Journal of Zoology*, 82(9), 1493–1502. <https://doi.org/10.1139/z04-130>
- Rosalino, L. M., Macdonald, D. W., & Santos-Reis, M. (2005b). Activity rhythms, movements and patterns of sett use by badgers, *Meles meles*, in a Mediterranean woodland. *Mammalia*, 69(3–4), 395–408. <https://doi.org/10.1515/mamm.2005.031>
- Rosalino, L. M., Santos, M. J., Domingos, S., Rodrigues, M., & Santos-Reis, M. (2005c). Population structure and body size of sympatric carnivores in a Mediterranean landscape of SW Portugal. *Revista Biol.*, 23, 135–146.
- Rosalino, L. M., Teixeira, D., Camarinha, C., Pereira, G., Magalhães, A., Castro, G., Lima, C., & Fonseca, C. (2022). Even generalist and resilient species are affected by anthropic disturbance: evidence from wild boar activity patterns in a Mediterranean landscape. *Mammal Research*, 67(3), 317–325. <https://doi.org/10.1007/s13364-022-00632-8>
- Rosenzweig, M. L. (1987). Habitat selection as a source of biological diversity. *Evolutionary Ecology*, 1(4), 315–330. <https://doi.org/10.1007/BF02071556>
- Rossa, M., Lovari, S., & Ferretti, F. (2021). Spatiotemporal patterns of wolf, mesocarnivores and prey in a Mediterranean area. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 75(2), 32. <https://doi.org/10.1007/s00265-020-02956-4>

- Rowcliffe, J. M., Kays, R., Kranstauber, B., Carbone, C., & Jansen, P. A. (2014). Quantifying levels of animal activity using camera trap data. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(11), 1170–1179. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12278>
- Sainsbury, A. W., Bennett, P. M., & Kirkwood, J. K. (1995). The Welfare of Free-Living Wild Animals in Europe: Harm Caused by Human Activities. *Animal Welfare*, 4(3), 183–206. <https://doi.org/10.1017/S0962728600017796>
- Santos, N., Colino, E. F., Arnal, M. C., de Luco, D. F., Sevilla, I., Garrido, J. M., Fonseca, E., Valente, A. M., Balseiro, A., Queirós, J., Almeida, V., Vicente, J., Gortázar, C., & Alves, P. C. (2022). Complementary roles of wild boar and red deer to animal tuberculosis maintenance in multi-host communities. *Epidemics*, 41, 100633. <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2022.100633>
- Santos, N., Correia-Neves, M., Almeida, V., & Gortzar, C. (2012). Wildlife Tuberculosis: A Systematic Review of the Epidemiology in Iberian Peninsula. In *Epidemiology Insights*. InTech. <https://doi.org/10.5772/33781>
- Santos, N., Correia-Neves, M., Ghebremichael, S., Källenius, G., Svenson, S. B., & Almeida, V. (2009). Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in wild boar (*Sus scrofa*) from Portugal. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(4), 1048–1061. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.4.1048>
- Santos, N., Nunes, T., Fonseca, C., Vieira-Pinto, M., Almeida, V., Gortázar, C., & Correia-Neves, M. (2018). Spatial Analysis of Wildlife Tuberculosis Based on a Serologic Survey Using Dried Blood Spots, Portugal. *Emerging Infectious Diseases*, 24(12), 2169–2175. <https://doi.org/10.3201/eid2412.171357>
- Santos, N., Richomme, C., Nunes, T., Vicente, J., Alves, P., de la Fuente, J., Correia-Neves, M., Boschioli, M.-L., Delahay, R., & Gortázar, C. (2020). Quantification of the Animal Tuberculosis Multi-Host Community Offers Insights for Control. *Pathogens*, 9(6), 421. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060421>
- Santos, N., Santos, C., Valente, T., Gortázar, C., Almeida, V., & Correia-Neves, M. (2015). Widespread Environmental Contamination with *Mycobacterium tuberculosis* Complex Revealed by a Molecular Detection Protocol. *PLOS ONE*, 10(11), e0142079. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142079>
- Santos-Reis, M., & Correia, A. I. (1999). *Caracterização da Flora e Fauna do Montado da Herdade da Ribeira Abaixo (Grândola-Baixo Alentejo)*. Centro de Biologia Ambiental.
- Santos-Reis, M., Rosalino, L. M., & Rodrigues, M. (1999). Lagomorfos, carnívoros e artiodáctilos. In M. Santos-Reis & A. I. Correia (Eds.), *Caracterização da flora e da fauna do montado da Herdade da Ribeira Abaixo (Grândola- Baixo Alentejo)* (pp. 249–262). Centro de Biologia Ambiental.
- Sarkar, D. (2008). *Lattice: Multivariate Data Visualization with R*. Springer.
- Schoenbaum, I., Kigel, J., Ungar, E. D., Dolev, A., & Henkin, Z. (2017). Spatial and temporal activity of cattle grazing in Mediterranean oak woodland. *Applied Animal Behaviour Science*, 187, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2016.11.015>
- Scott, M. E. (1988). The Impact of Infection and Disease on Animal Populations: Implications for Conservation Biology. *Conservation Biology*, 2(1), 40–56. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1988.tb00334.x>

- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. (2020). *Global Biodiversity Outlook 5*.
- Silva, M., Rosalino, L. M., Alcobia, S., & Santos-Reis, M. (2021). Sett Use, Density and Breeding Phenology of Badgers in Mediterranean Agro-Sylvo-Pastoral Systems. *Animals*, 11(9), 2663. <https://doi.org/10.3390/ani11092663>
- Sobrino, R., Martín-Hernando, M. P., Vicente, J., Aurteneixe, O., Garrido, J. M., & Gortázar, C. (2008). Bovine tuberculosis in a badger (*Meles meles*) in Spain. *Veterinary Record*, 163(5), 159–160. <https://doi.org/10.1136/vr.163.5.159>
- Symonds, M. R. E., & Moussalli, A. (2011). A brief guide to model selection, multimodel inference and model averaging in behavioural ecology using Akaike's information criterion. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65(1), 13–21. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1037-6>
- Teixeira, D. F., Ares-Pereira, G., Camarinha, C., Lima, C., Magalhães, A., Castro, G., Fonseca, C., & Rosalino, L. M. (2023). Effect of anthropic disturbances on the activity pattern of two generalist mesocarnivores inhabiting Mediterranean forestry plantations. *Biodiversity and Conservation*, 32(4), 1251–1270. <https://doi.org/10.1007/s10531-023-02548-4>
- Tramblay, Y., Koutroulis, A., Samaniego, L., Vicente-Serrano, S. M., Volaire, F., Boone, A., Le Page, M., Llasat, M. C., Albergel, C., Burak, S., Cailleret, M., Kalin, K. C., Davi, H., Dupuy, J.-L., Greve, P., Grillakis, M., Hanich, L., Jarlan, L., Martin-StPaul, N., ... Polcher, J. (2020). Challenges for drought assessment in the Mediterranean region under future climate scenarios. *Earth-Science Reviews*, 210, 103348. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103348>
- Triguero-Ocaña, R., Barasona, J. A., Carro, F., Soriguer, R. C., Vicente, J., & Acevedo, P. (2019). Spatio-temporal trends in the frequency of interspecific interactions between domestic and wild ungulates from Mediterranean Spain. *PLOS ONE*, 14(1), e0211216. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211216>
- Triguero-Ocaña, R., Vicente, J., Palencia, P., Laguna, E., & Acevedo, P. (2020). Quantifying wildlife-livestock interactions and their spatio-temporal patterns: Is regular grid camera trapping a suitable approach? *Ecological Indicators*, 117. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106565>
- Turney, S. (2022). *Poisson Distributions | Definition, Formula & Examples*. Scribbr. <https://www.scribbr.com/statistics/poisson-distribution/>
- United Nations Environment Programme and International Livestock Research Institute. (2020). *Preventing the Next Pandemic: Zoonotic diseases and how to break the chain of transmission*.
- van Seventer, J. M., & Hochberg, N. S. (2017). Principles of Infectious Diseases: Transmission, Diagnosis, Prevention, and Control. In *International Encyclopedia of Public Health* (pp. 22–39). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803678-5.00516-6>
- Varela-Castro, L., Sevilla, I. A., Payne, A., Gilot-Fromont, E., & Barral, M. (2021). Interaction Patterns between Wildlife and Cattle Reveal Opportunities for Mycobacteria Transmission in Farms from North-Eastern Atlantic Iberian Peninsula. *Animals*, 11(8), 2364. <https://doi.org/10.3390/ani11082364>

- Vázquez, C. B., Barral, T. D., Romero, B., Queipo, M., Merediz, I., Quirós, P., Armenteros, J. Á., Juste, R., Domínguez, L., Domínguez, M., Casais, R., & Balseiro, A. (2021). Spatial and Temporal Distribution of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Infection in Eurasian Badger (*Meles meles*) and Cattle in Asturias, Spain. *Animals*, 11(5), 1294. <https://doi.org/10.3390/ani11051294>
- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2022). *Modern Applied Statistics with S*. Springer.
- Verdade, L., Rosalino, L., Gheler-Costa, C., Pedroso, N., & Lyra-Jorge, M. (2011). Adaptation of mesocarnivores (Mammalia: Carnivora) to agricultural landscapes in Mediterranean Europe and Southeastern Brazil: a trophic perspective. In *Middle-Sized Carnivores in Agricultural Landscapes* (pp. 1–38).
- Vicente, J., Höfle, U., Garrido, J. M., Fernández-de-mera, I. G., Acevedo, P., Juste, R., Barral, M., & Gortázar, C. (2007). Risk factors associated with the prevalence of tuberculosis-like lesions in fenced wild boar and red deer in south central Spain. *Veterinary Research*, 38(3), 451–464. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007002>
- Vieira-Pinto, M., Alberto, J., Aranha, J., Serejo, J., Canto, A., Cunha, M. V., & Botelho, A. (2011). Combined evaluation of bovine tuberculosis in wild boar (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus*) from Central-East Portugal. *European Journal of Wildlife Research*, 57(6), 1189–1201. <https://doi.org/10.1007/s10344-011-0532-z>
- Vingada, J., Fonseca, C., Cancela, J., Ferreira, J., & Eira, C. (2010). Ungulates and their management in Portugal. In M. Apollonio, R. Adersen, & R. Putman (Eds.), *European Ungulates and Their Management in the 21st Century* (pp. 392–418). Cambridge University Press.
- Virgós, E., Llorente, M., & Cortésá, Y. (1999). Geographical variation in genet (*Genetta genetta* L.) diet: a literature review. *Mammal Review*, 29(2), 117–126. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2907.1999.00041.x>
- White, L. A., Forester, J. D., & Craft, M. E. (2017). Using contact networks to explore mechanisms of parasite transmission in wildlife. *Biological Reviews*, 92(1), 389–409. <https://doi.org/10.1111/brv.12236>
- White, R. J., & Razgour, O. (2020). Emerging zoonotic diseases originating in mammals: a systematic review of effects of anthropogenic land-use change. *Mammal Review*, 50(4), 336–352. <https://doi.org/10.1111/mam.12201>
- WHO. (2020). *Zoonoses*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>
- WHO. (2023). *Infectious diseases*. <https://www.emro.who.int/health-topics/infectious-diseases/index.html>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Wickham, H., François, R., Henry, L., & Müller, K. (2022). *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*.
- Wiethoelter, A. K., Beltrán-Alcrudo, D., Kock, R., & Mor, S. M. (2015). Global trends in infectious diseases at the wildlife–livestock interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(31), 9662–9667. <https://doi.org/10.1073/pnas.1422741112>

- World Organisation for Animal Health [WOAH]. (2023). *Bovine tuberculosis*.
<https://www.woah.org/en/disease/bovine-tuberculosis/>
- Xue, L., & Scoglio, C. (2013). The network level reproduction number for infectious diseases with both vertical and horizontal transmission. *Mathematical Biosciences*, 243(1), 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2013.02.004>
- Zanni, M., Brivio, F., Grignolio, S., & Apollonio, M. (2021). Estimation of spatial and temporal overlap in three ungulate species in a Mediterranean environment. *Mammal Research*, 66(1), 149–162. <https://doi.org/10.1007/s13364-020-00548-1>
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., & Elphick, C. S. (2010). A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods in Ecology and Evolution*, 1(1), 3–14. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2009.00001.x>

Anexos

Anexo A – Apresentação das espécies de ungulados e carnívoros relevantes ou potencialmente relevantes no contexto da TB documentadas na área de estudo, segundo o Atlas de Mamíferos de Portugal (Bencatel et al., 2019). Indicação dos respetivos estatutos de conservação. Designação das espécies que apresentam casos reportados de TB e das espécies reconhecidas como hospedeiros reservatório (R), até ao momento do presente estudo, na Península Ibérica.

O “Estatuto de Conservação IUCN” corresponde ao estatuto de conservação a nível global, de acordo com a Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN, 2024) enquanto o “Estatuto de Conservação LVMP” corresponde ao estatuto de conservação a nível nacional, de acordo com o Livro Vermelho dos Mamíferos de Portugal Continental (Mathias et al., 2023).

Os estatutos de conservação seguem a nomenclatura internacional da IUCN: LC – Pouco Preocupante, NT – Quase Ameaçado, VU – Vulnerável, EN – Em Perigo, CT – Criticamente em Perigo, DD – Dados Insuficientes, NA – Não Aplicável.

Ordem	Nome comum	Nome científico	Estatuto de Conservação		Espécie reconhecida como suscetível à TB na Península Ibérica e referências de apoio	
			IUCN	LVMP		
Artiodactyla	Corço	<i>Capreolus capreolus</i>	LC	LC	Sim	(Gortázar & Boadella, 2014)
	Gamo	<i>Dama dama</i>	LC	NA	Sim	(Gortázar & Boadella, 2014)
	Veado	<i>Cervus elaphus</i>	LC	LC	Sim (R)	(Vieira-Pinto et al., 2011)
	Javali	<i>Sus scrofa</i>	LC	LC	Sim (R)	(Santos et al., 2009)
	Muflão	<i>Ovis aries</i>	NC	NA	Sim	(Gortázar & Boadella, 2014)
Carnivora	Fuinha	<i>Martes foina</i>	LC	LC	Sim	(Matos et al., 2014)
	Gato-bravo	<i>Felis silvestris</i>	LC	EN		Não
	Geneta	<i>Genetta genetta</i>	LC	LC	Sim	(Matos et al., 2014)
	Lince-ibérico	<i>Lynx pardinus</i>	EN	EN	Sim	(Gortázar & Boadella, 2014)
	Lontra	<i>Lutra lutra</i>	NT	LC	Sim	(Matos et al., 2014)
	Raposa	<i>Vulpes vulpes</i>	LC	LC	Sim	(Matos et al., 2014)
	Sacarrabos	<i>Herpestes ichneumon</i>	LC	LC	Sim	(Matos et al., 2013)
	Texugo	<i>Meles meles</i>	LC	LC	Sim	(Gortázar & Boadella, 2014)
	Toirão	<i>Mustela putorius</i>	LC	EN		Não

Anexo B – Número de VI's de cada espécie, assim como apresentação da riqueza específica das espécies selvagens (Riq. Esp. Sp. Selv.), por ponto de amostragem. Os pontos de amostragem designados por “A(...)”, “B(...)” e “C(...)” identificam os diferentes tipos de pontos de amostragem, correspondendo a “Ponto de água”, “Ponto de alimentação” e “Ponto de controlo”, respetivamente.

Espécies	Nº de Visitas Independentes por ponto de amostragem												
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	B1	C1	C2	C3	C4	C5	Total
Gado bovino	211	177	157	129	74	532	976	97	98	0	0	13	2464
Javali	49	25	44	35	39	29	0	5	58	11	6	30	331
Veado	25	40	71	65	77	126	0	0	117	30	0	10	561
Doninha	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Fuinha	0	0	8	6	18	4	3	25	9	5	1	0	79
Geneta	0	0	28	2	5	9	1	29	7	16	4	0	101
Lontra	0	0	1	0	6	2	0	0	0	0	0	0	9
Raposa	42	2	41	118	26	247	54	21	33	4	7	2	597
Sacarrabos	0	0	25	44	19	155	0	8	7	0	1	1	260
Texugo	45	0	15	139	40	13	6	2	7	3	1	0	271
Total	272	244	390	538	304	1117	1040	187	336	70	20	56	4674
Riq. Esp. Sp. Selv.	4	3	8	7	8	8	4	6	7	7	6	4	

Anexo C – Número de VI's de cada espécie por tipo de ponto de amostragem e tipo de habitat.

Espécies	Nº de Visitas Independentes						
	Tipo de ponto de amostragem			Tipo de habitat			Total
	Ponto de água	Ponto de alimentação	Ponto de controlo	MF	HM	MA	
Gado bovino	1280	976	208	157	288	2019	2464
Javali	221	0	110	61	113	157	331
Veado	404	0	157	101	167	293	561
Doninha	0	0	1	1	0	0	1
Fuinha	36	3	40	14	9	56	79
Geneta	44	1	56	48	7	46	101
Lontra	9	0	0	1	0	8	9
Raposa	476	54	67	52	37	508	597
Sacarrabos	243	0	17	26	8	226	260
Texugo	252	6	13	19	7	245	271
Total	2965	1040	669	480	636	3558	4674

Anexo D – Proporção de ausência de VI's de cada espécie selvagem, suscetível à TB, numa determinada semana e ponto de amostragem. Só foram modeladas as espécies em que se registou menos de 75% de ausência de VI's semanais por ponto de amostragem. A vermelho encontram-se destacadas as espécies que não respeitaram o critério definido.

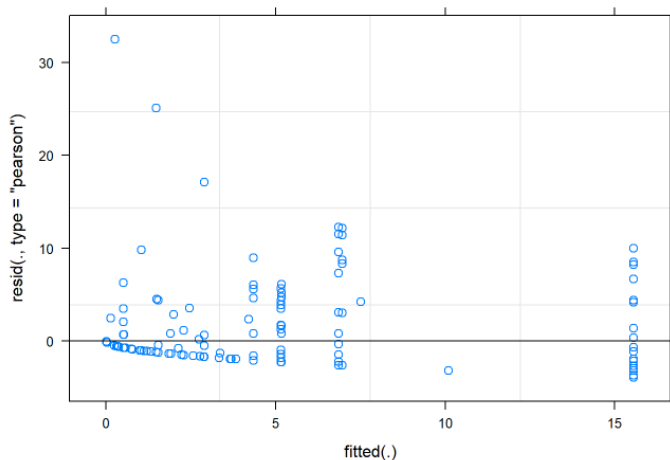
Espécies	% de ausência de VI's por ponto de amostragem por semana
Javali	52,53
Veado	54,21
Fuinha	82,49
Geneta	83,84
Lontra	97,31
Raposa	56,90
Sacarrabos	78,45
Texugo	73,40

Anexo E – Apresentação dos modelos integrantes com um $\Delta AIC < 2$ na construção do modelo médio para o gado bovino e para as espécies selvagens analisadas. Indicação dos AIC e pesos de cada modelo.

Espécies	Modelos integrantes do modelo médio	Respetivas variáveis independentes	AIC	ΔAIC	Peso dos modelos
<u>Gado bovino</u>	1	Tipo de ponto de amostragem + Tipo de habitat	3061,13	0	0,71
	2	Tipo de ponto de amostragem	3062,89	1,76	0,29
<u>Javali</u>	1	Tipo de ponto de amostragem + Tipo de habitat	768,33	0	0,43
	2	Tipo de ponto de amostragem	768,49	0,16	0,40
	3	1 (Modelo nulo)	770,14	1,81	0,17
<u>Veado</u>	1	Tipo de ponto de amostragem	1164,06	0	0,72
	2	Tipo de ponto de amostragem + Tipo de habitat	1165,9	1,84	0,28
<u>Raposa</u>	1	Tipo de habitat	919,47	0	0,47
	2	Tipo de ponto de amostragem + Tipo de habitat	920,43	0,96	0,29
	3	Tipo de ponto de amostragem	920,79	1,31	0,24
<u>Texugo</u>	1	Tipo de ponto de amostragem	688,78	0	0,41
	2	Tipo de ponto de amostragem + Tipo de habitat	689,14	0,35	0,34
	3	Tipo de habitat	689,79	1	0,25

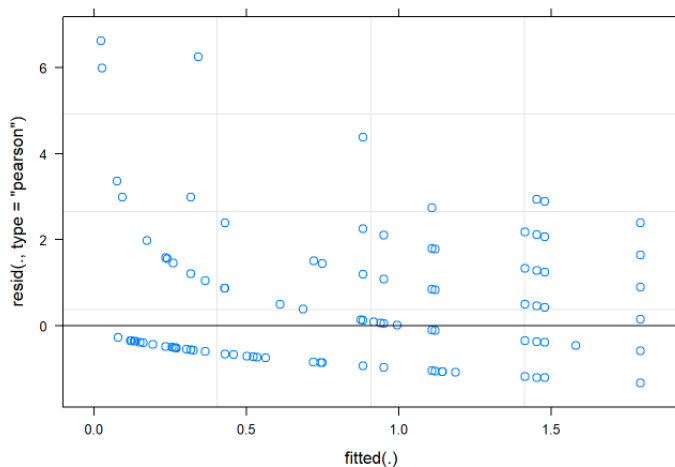
Anexo F – Representação gráfica da distribuição dos resíduos do modelo de aproximação do modelo médio para explicar a taxa de VI's do gado bovino:

glmer(taxa VI's ~ tipo de ponto de amostragem + tipo de habitat + (1|ponto de amostragem), data= gado bovino, family="poisson", offset=log(esforço amostragem semanal))



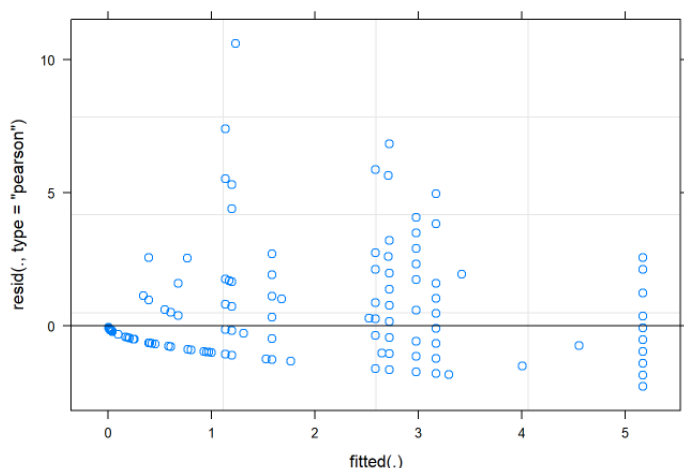
Anexo G – Representação gráfica da distribuição dos resíduos do modelo de aproximação do modelo médio para explicar a taxa de VI's do javali:

glmer(taxa VI's ~ tipo de ponto de amostragem + tipo de habitat + (1|ponto de amostragem), data= javali, family="poisson", offset=log(esforço amostragem semanal))



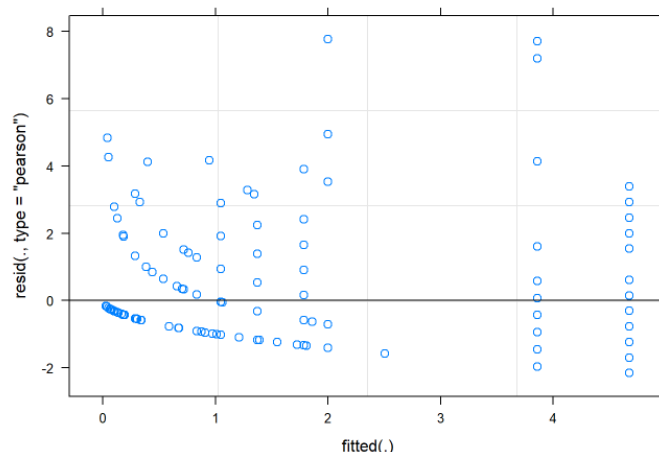
Anexo H – Representação gráfica da distribuição dos resíduos do modelo de aproximação do modelo médio para explicar a taxa de VI's do veado:

glmer(taxa VI's ~ tipo de ponto de amostragem + tipo de habitat + (1|ponto de amostragem), data= veado, family="poisson", offset=log(esforço amostragem semanal))



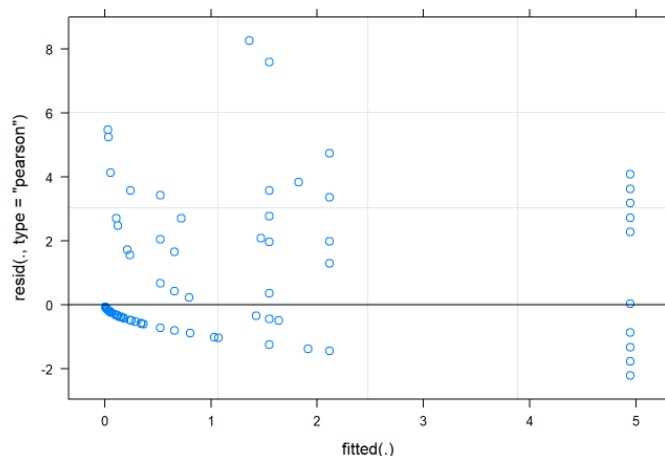
Anexo I – Representação gráfica da distribuição dos resíduos do modelo de aproximação do modelo médio para explicar a taxa de VI's da raposa:

glmer(taxa VI's ~ tipo de ponto de amostragem + tipo de habitat + (1|ponto de amostragem), data= raposa, family="poisson", offset=log(esforço amostragem semanal))



Anexo J – Representação gráfica da distribuição dos resíduos do modelo de aproximação do modelo médio para explicar a taxa de VI's do texugo:

glmer(taxa VI's ~ tipo de ponto de amostragem + tipo de habitat + (1|ponto de amostragem), data= texugo, family="poisson", offset=log(esforço amostragem semanal))



Anexo K – Número de interações indiretas de cada par de espécies analisado por ponto de amostragem.
Os pontos de amostragem designados por “A(...)”, “B(...)” e “C(...)” identificam os diferentes tipos de pontos de amostragem, correspondendo a “Ponto de água”, “Ponto de alimentação” e “Ponto de controlo”, respetivamente.

Par de espécies	Nº de interações indiretas por ponto de amostragem									
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	C1	C2	C3	Total
Gado bovino – Javali	3	12	16	21	3	29	2	33	1	120
Gado bovino – Veado	0	25	32	37	1	67	0	28	3	193
Gado bovino – Raposa	3	2	28	57	2	96	8	12	0	208
Gado bovino – Texugo	3	0	2	51	2	19	1	5	0	83
Gado bovino – Sacarrabos	0	0	0	25	2	27	5	3	0	62
Total	9	39	78	191	10	238	16	81	4	666

Anexo L – Apresentação dos modelos integrantes com um $\Delta AIC < 2$ na construção do modelo médio para o conjunto de dados referente aos cinco pares de espécies selecionados (gado bovino-javali, gado bovino-veado, gado bovino-raposa, gado bovino-texugo e gado bovino-sacarrabos), assim como os respetivos AIC e pesos.

Modelos integrantes do modelo médio	Respetivas variáveis independentes	AIC	ΔAIC	Peso dos modelos
1	Tipo de ponto de amostragem + Tipo de hospedeiro	1334,6	0	0,54
2	Tipo de ponto de amostragem + Tipo de habitat + Tipo de hospedeiro	1336,3	1,73	0,29

Anexo M – Representação gráfica da distribuição dos resíduos do modelo de aproximação do modelo médio para explicar a taxa de interações indiretas dos cinco pares de espécies selecionados: gado bovino-javali, gado bovino-veado, gado bovino-raposa, gado bovino-texugo e gado bovino- sacarrabos:

glmer(taxa interações indiretas ~ tipo de ponto de amostragem + tipo de habitat + tipo de hospedeiro + (1|ponto de amostragem), data= cinco pares de espécies selecionados, family="poisson", offset=log(esforço amostragem mensal))

