Agosto 2021

Herpetologia Brasileira



SBH
SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA

volume 10 número 2
ISSN: 2316-4670

Herpetologia Brasileira

Uma publicação da Sociedade Brasileira de Herpetologia

Sociedade Brasileira de Herpetologia
www.sbherpetologia.org.br

Presidente: Otavio Augusto Vuolo Marques
1° Secretário: Paula Hanna Valdujo
2° Secretário: Karina Rodrigues da Silva Banci
1° Tesoureiro:
2° Tesoureiro: Rafael dos Santos Henrique

Conselho: Christine Strussmann, Délio Baêta, Hélio R. da Silva, José P. Pombal Jr., Luciana B. Nascimento, Márcio Martins, Mariana L. Lyra, Taran Grant e Thais Condez.

Membros Honorários: Augusto S. Abe, Carlos Alberto G. Cruz, Ivan Sazima, Luiz D. Vizzoto, Thales de Lema.

Diagramação: Isadora Puntel de Almeida

Erythrolamprus dorsocorallinus
Manoel Urbano AC
@ Henrique Nogueira

ISSN: 2316-4670
volume 10 n.úmero 2
Agosto de 2021

SBH
SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA

Informações Gerais

A revista eletrônica Herpetologia Brasileira é quadrimestral (com números em abril, agosto e dezembro) e publica textos sobre assuntos de interesse para a comunidade herpetológica brasileira.

Ela é disponibilizada em formato PDF apenas *online*, na página da Sociedade Brasileira de Herpetologia (*http://www.sbherpetologia.org.br/publicacoes/herpetologia-brasileira*), ou seja, não há versão impressa em gráfica. Entretanto, qualquer Pessoa pode imprimir este arquivo.

Seções

Notícias da Sociedade Brasileira de Herpetologia:
Esta seção apresenta informações diversas sobre a SBH e é de responsabilidade da diretoria da SBH.

Notícias Herpetológicas Gerais:
Esta seção apresenta informações de interesse para nossa comunidade. A seção também inclui informações sobre grupos de pesquisa, instituições, programas de pós-graduação, etc.

Notícias de Conservação:
Esta seção apresenta informações sobre a conservação da herpetofauna brasileira.

História da Herpetologia Brasileira:
Esta seção apresenta entrevistas e curiosidades sobre a história da herpetologia Brasileira (e.g. congressos, histórias de campo, etc), buscando resgatar um pouco da nossa história para os dias atuais.

Trabalhos Recentes: Esta seção apresenta resumos breves de trabalhos publicados recentemente sobre espécies brasileiras, ou sobre outros assuntos de interesse para a nossa comunidade, preferencialmente em revistas de outras áreas.

Dissertações & Teses:
Esta seção é publicada anualmente no último volume do ano (dezembro) e apresenta as informações sobre as dissertações e teses em qualquer aspecto da herpetologia brasileira defendidas no ano anterior. Qualquer egresso ou orientador pode entrar em contato diretamente com o editor da seção informando os seguintes dados referentes a dissertação ou tese defendida: (1) universidade e departamento/instituto; (2) graduação; (3) data da defesa/aprovação; (4) programa de pós-graduação; (5) aluno; (6) título; (7) orientador.

Seções

Métodos em Herpetologia:
Esta seção trata dos métodos clássicos e de vanguarda referentes a herpetologia. São abrangidos revisões e descrições de novos métodos empíricos relacionados aos diversos métodos de coleta e análise de dados, representando a multidisciplinaridade da herpetologia moderna.

Ensaios & Opiniões:
Esta seção apresenta opiniões sobre assuntos de interesse geral em herpetologia.

Resenhas:
Esta seção apresenta textos que resumem e avaliam o conteúdo de livros, filmes, jogos ou aplicativos de interesse para nossa comunidade.

Notas de História Natural & Distribuição Geográfica:
Esta seção apresenta artigos que, preferencialmente, resultam de observações de campo, de natureza fortuita, realizadas no Brasil ou sobre espécies que ocorrem no país.

Obituários:
Esta seção apresenta artigos avisando sobre o falecimento recente de um membro da comunidade herpetológica brasileira ou internacional, contendo uma descrição de sua contribuição para a herpetologia.

Corpo Editorial

Editores Gerais:

Délio Baêta

José P. Pombal Jr.

Jessica Fratani

Editor de língua inglesa:

Ross D. MacCulloch

Notícias da SBH:

Paula H. Valdujo

Karina R. S. Banci

Notícias Herpetológicas Gerais:

Cinthia Aguirre Brasileiro

Mirco Solé

Paulo Sérgio Bernarde

Rachel Montesinos

Notícias de Conservação:

Cybele Lisboa

Débora Silvano

Ibere F. Machado

Luis Fernando Marin Fonte

Mariana R. Pontes

História da Herpetologia Brasileira

Bianca Berneck

Teresa Cristina Ávila-Pires

Trabalhos Recentes:

Adriano Oliveira Maciel

Ariadne Fares Sabbag

Daniel S. Fernandes

Daniela Pareja Mejia

Laura R. V. de Alencar

Dissertações & Teses:

Giovanna G. Montingelli

Divulgação:

Daniela Pareja Mejia

Diego G. Cavalheri

Larissa Mendes

Laura R. V. de Alencar

Mariana R. Pontes

Quezia Ramalho

Sarah Mângia

Corpo Editorial

Métodos em Herpetologia:

Alexandro Tozetti

Luís Felipe Toledo

Ensaios & Opiniões:

Julio Cesar de Moura-Leite

Luciana B. Nascimento

Teresa Cristina Ávila-Pires

Resenhas:

José P. Pombal Jr.

Quezia Ramalho

Notas de História Natural &

Distribuição Geográfica:

Henrique C. Costa - Répteis

Sarah Mângia - Anfíbios

Obituários:

Entrar em contato com os editores gerais

Sumário

Notícias da Sociedade Brasileira de Herpetologia 10

Notícias Herpetológicas Gerais 16

Notícias de Conservação 24

Trabalhos Recentes 36

Métodos em Herpetologia 45

Ensaios & Opiniões 96

Resenhas 109

Notas de História Natural & Distribuição Geográfica 116



Ilustração
Melanophryniscus admirabilis
@ Ingrid Ribeiro

Notícias da Sociedade Brasileira de Herpetologia

Notas dos Editores

Nova tag da HB nas redes: #ArteNaHB

Durante a seleção das fotos para a edição de Abril de 2021, nos deparamos com a arte lindíssima da Natália Azevedo (*Bothrops bilineatus*), a qual estampou uma das páginas da revista.

Daí pensamos: por que não levantar uma tag para incluir artes incríveis na revista Herpetologia Brasileira? Através dos perfis da HB, temos visto muitos desenhos, pinturas e até esculturas com temática herpetológica e que certamente fariam a revista ainda mais linda! Assim, apresentamos a tag #ArteNaHB.

Se postar uma arte herpetológica bacana, marque a tag e ela poderá fazer parte da revista. Mas preste atenção nas condições:

Serão válidos desenhos a mão livre, desenhos digitais, pinturas, esculturas, etc de espécies de anfíbios e répteis brasileiras. *Atenção* para que o animal represente uma espécie real (e.g. *Bothrops bilineatus*). Além disso, a imagem tem que estar com boa qualidade e, caso selecionada, ainda precisará ser aprovada pela diagramadora da revista.

Vem com a gente participar desta ideia e compartilhar sua arte com a Herpetologia Brasileira! Apoie esta ideia, divulgue!

Equipe HB nas redes

MUDANÇAS NO CORPO EDITORIAL

A Herpetologia Brasileira agradece a editora da seção de Trabalhos Recentes Jéssica Mudrek e dá boas-vindas a nova editora da seção Daniela Pareja Mejia.

NOTÍCIAS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA

GLOBAL TAXONOMY INITIATIVE

Entre os dias 12 e 16 de abril de 2021, a SBH, em parceria com outras sociedades no âmbito do Fórum das Sociedades Científicas da Área Zoologia, coordenou o Workshop para a construção do documento "Proposta de objetivos de médio e longo prazo, metas de ação para 2030 e Indicadores para o GLOBAL TAXONOMY INITIATIVE no âmbito da Estratégia Global de Biodiversidade Pós-2020". O objetivo do Workshop foi facilitar o diálogo e a elaboração colaborativa da Carta de Endosso ao documento proposto pelo "The Global Taxonomy Initiative Forum" em evento realizado de 02 a 04 de dezembro de 2020 (*https://www.cbd.int/article/the-global-taxonomy-initiative-forum-2020*); foi também produzido um documento com a Proposta de objetivos de médio e longo prazo, metas de ação para 2030 e Indicadores para o GLOBAL TAXONOMY INITIATIVE (GTI) no âmbito da Estratégia Global de Biodiversidade Pós-2020. A estrutura do encontro visou apoiar o trabalho em grupos para o desenvolvimento e validação de objetivos, metas e ações em relação à taxonomia, para que o Brasil seja capaz de atender aos compromissos assumidos junto à Convention Biological Diversity (CDB). Assim, a oficina foi organizada de modo remoto com emprego de plataformas e tecnologias digitais de trabalho, alternando momentos de trabalho em grupo e plenárias coletivas permitindo a discussão dos objetivos a serem propostos pelos membros participantes das diferentes sociedades científicas do Brasil.

Foram discutidos e detalhados temas, e estabelecidas metas para os seguintes objetivos: (A) formar, capacitar e fixar recursos humanos qualificados em taxonomia biológica; (B) modernizar e adequar a infraestrutura e organização, para a manutenção, gerenciamento e a cooperação entre as coleções biológicas brasileiras; (C) incrementar, organizar, qualificar e disseminar as informações taxonômicas, sistemáticas e biogeográficas; (D) promover a aproximação entre a sociedade e os taxonomistas para disseminar informações sobre a importância dos estudos taxonômicos; e (E) readequar e ampliar a divulgação da legislação brasileira em relação às coleções biológicas e aos estudos com sistemática, taxonomia e biogeografia (ESTB; Lei 13.123, Acesso à Biodiversidade, e Protocolo de Nagoya). O resultado das discussões foi organizado em um documento, que está em processo de revisão pelas sociedades.

SIMPÓSIO DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA: INTERFACES ENTRE CIÊNCIA E SOCIEDADE

No dia 31 de julho de 2021 foi realizado o primeiro simpósio de divulgação científica organizado pela SBH. Em função da impossibilidade de organizar um congresso na atual crise sanitária, optamos por um evento mais curto e acessível a todos, abordando um tema que é comum a todas as linhas de pesquisa e grupos taxonômicos: a divulgação científica. Este tema vem se popularizando, em função das novas ferramentas de comunicação que estão disponíveis hoje, e vem encarar o grande desafio de preencher uma lacuna histórica existente entre a ciência e a sociedade. A divulgação científica vem crescendo, e hoje está presente em meios tão distintos quanto livros didáticos, canais de YouTube, museus, Instagram, mídias tradicionais, Twitter, livros infantis, Spotify e TikTok.

A SBH reconhece o potencial transformador da divulgação científica e vem investindo nisso por meio do trabalho das duas comissões de divulgação: a Comissão de Redes Sociais da Sociedade Brasileira de Herpetologia e a equipe de divulgação da revista Herpetologia Brasileira, que estão ampliando cada vez mais seu público de seguidores, aproximando principalmente os jovens interessados em répteis e anfíbios dos cientistas. Este trabalho é especialmente importante em função da crise de biodiversidade, ambiental e climática que estamos atravessando, que torna ainda mais necessário mostrar para a sociedade como a ciência funciona e o que ela traz para o debate sobre a conservação da imensa biodiversidade do Brasil, sobre o potencial desta biodiversidade em gerar bem-estar e qualidade de vida, enriquecimento da alimentação, desenvolvimento de medicamentos, prevenção de desastres, dentre tantos outros benefícios.

Convidamos para este evento nomes de destaque na divulgação de ciência, demonstrando a diversidade de formas de atuação e experiências dos divulgadores de ciência no Brasil. A primeira mesa, intitulada “Perspectivas e Desafios da Divulgação Científica” trouxe Quezia Ramalho (revista Herpetologia Brasileira), Henrique C. Costa (Universidade Federal de Juiz de Fora e Revista Ciência Hoje das Crianças), Jacqueline Lafloufa (Agência Bori); Beatriz Vasconcelos (Herpetologia Segundo as Herpetólogas) e Paulo Nico Monteiro (Instituto Butantan), e foi mediada pelo Otavio Marques (SBH / Instituto Butantan e página Entenda Mais Ciência). A segunda mesa, intitulada “Novas Linguagens na Divulgação Científica” trouxe os divulgadores Flávia Pereira Lima (Universidade Federal de Goiás), Luiz Eduardo Anelli (Universidade de

São Paulo), Paulo Bernarde (Universidade Federal do Acre), Paulo Pirulla e Reinaldo Guedes (WikiAves), sendo mediada pelo Alexander Mônico (Comissão de Redes Socieis da SBH)

Esperamos que as apresentações e discussões promovidas por este simpósio tenham inspirado os participantes a investir mais na divulgação científica, como ferramenta para promover a conservação da biodiversidade, para atrair jovens talentos para carreiras científicas, para promover a diversidade e a inclusão de grupos historicamente menos representados na ciência.

ASSEMBLEIA ORDINÁRIA E ELEIÇÃO DA NOVA DIRETORIA

No dia 31 de julho de 2021, após o Simpósio de Divulgação Científica, foi realizada a Assembleia Geral da SBH, para prestar contas da gestão 2019/2020, eleger a nova diretoria e preencher as vagas do Conselho, em virtude da saída dos conselheiros Diego Santana (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul), Felipe Toledo (Universidade de Campinas) e Débora Silvano (Instituto Federal de Brasília). Para a diretoria, foi eleita a chapa única composta por Denise Cerqueira Rossa-Feres (Universidade Estadual Paulista) como Presidente, Paula Hanna Valdujo (WWF-Brasil) e Bianca Berneck (Universidade Estadual Paulista) como primeira e segunda secretárias, Karina Banci (Instituto Butantan) e Ariadne Fares Sabbag (Universidade Estadual Paulista) como primeira e segunda tesoureiras. Foram eleitos para o Conselho Christine Strussmann (Universidade Federal do Mato Grosso), Hélio Ricardo da Silva (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro) e Thais Helena Condez (Universidade do Estado de Minas Gerais). Esperamos que a próxima gestão possa continuar apoiando a herpetologia brasileira e agradecemos às importantes contribuições dos diretores e conselheiros que deixarão suas funções em 2021 e 2022.

APOIO À SBPC

No mês de julho a SBH foi cossignatária de três cartas em apoio à SBPC e à ciência brasileira, sendo elas: i) uma carta de repúdio ao corte de bolsas do CNPq, em função do bloqueio de 116 milhões de reais do orçamento pelo governo federal; ii) uma solicitação de prorrogação de prazo para implementação das alterações requeridas pela Resolução CNE/CP Nº 2, de 20 de dezembro de 2019, que define as Diretrizes Curriculares Nacionais e a Base Nacional Comum para Formação Inicial de Professores da Educação Básica e Resolução CNE/CP nº 1, de 27 de outubro de 2020, que institui as Diretrizes Curriculares Nacionais para a Formação Continuada de Professores da Educação Básica

e Base Nacional Comum para a Formação Continuada de Professores da Educação Básica (BNC-Formação Continuada); iii) uma manifestação em defesa da democracia e contra as ameaças recentes ao Estado de Direito no Brasil.



Teratohyla midas
Parque Nacional da Serra do Divisor, AC
@Raíssa do N. Rainha



Hydromedusa maximiliani
Zona Rural de Itabira, MG
@Paula C. Neves Barreto

Notícias Herpetológicas Gerais

ZooVert Lab: conciliando pesquisa, educação e preservação ambiental

Ana Carolina Calijorne Lourenço[1,*], Lorena R. Pereira[1], Beatriz Silva Moreira Nascimento[1], Maria Alicia Lemes de Oliveira[1], Bianca Montanha Costa[1], Alice de Cássia Jardim Morais [1], Rafael Carvalho de Souza[1], Jade Mota Cruz[1], Pedro Peron[1], Kíscyla Caetano Herculano[1], Lara Gomes Procópio[1], Brendon de Araújo Gerônimo Feijó[1], Sara dos Reis Santos[1], João Paulo Silva Martins[1], Ian Moreira Souza[2], Rosalvo Arantes Júnior[3], Jonas Ferrari Morais[4]

1 Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Minas Gerais, Campus Ubá, 36502-000 Ubá, MG, Brasil.
2 Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade, Universidade Federal do Rio de Janeiro, NUPEM/UFRJ, Campus Macaé, 27965-045 Macaé, RJ, Brasil.
3 Centro Universitário Governador Ozanam Coelho, Campus Ubá, 36506-022 Ubá, MG, Brasil
4 Associação Regional de Proteção Ambiental, ARPA-Ubá, 36500-001 Ubá, MG, Brasil
*Autor correspondente: E-mail: *ana.calijorne@uemg.br*
DOI: *10.5281/zenodo.5211352*

Estamos imensamente honrados e agradecidos pela oportunidade de apresentar, neste espaço, o trabalho do nosso grupo. Em primeiro lugar porque esta revista vem desempenhando valoroso papel na divulgação de pesquisas e cientistas envolvidos com a herpetologia brasileira. Segundo porque uma das causas que motiva nosso laboratório é a difusão dos saberes científicos com qualidade.

O nosso grupo de pesquisa foi fundado recentemente, no ano de 2018, quando a coordenadora do grupo, Dra. Ana Carolina Calijorne Lourenço, foi nomeada como professora da nossa instituição. Entretanto, já é possível perceber traços do perfil de nossas pesquisas, com motivações na taxonomia de vertebrados recentes e na educação ambiental. Ainda não contamos com espaço físico exclusivo, pois nossa unidade acadêmica, sendo muito recente, enfrenta empecilhos para subsidiar expansões estruturais. Por isso, o laboratório utilizado para realizar experimentos e processar material é dividido com outros professores e colegas envolvidos em projetos diversos da instituição. Nossos encontros mais frequentes ocorrem através de videoconferências (Fig. 1) e durante os trabalhos de campo propriamente ditos (seguindo as recomendações de proteção contra COVID-19).



Figura 1. Alguns integrantes do ZooVert Lab durante reunião virtual. As reuniões acontecem ao menos uma vez por mês para debatermos o andamento dos projetos e estreitarmos laços, principalmente neste momento de isolamento social. Da esquerda para a direita: Ana Carolina C. Lourenço, Jade M. Cruz, Kíscyla C. Herculano, Sara R. Santos, Alice C. J. Morais, Rafael C. de Souza, Bianca M. Costa, Lorena R. Pereira, Pedro Peron, Beatriz S. M. Pereira, Lara G. Procópio, Jonas F. Morais, Brendon A. Gerônimo Feijó e Maria Alicia L. de Oliveira.

O ZooVert Lab, atualmente, é composto por 13 alunos de iniciação científica do curso de Ciências Biológicas da Universidade do Estado de Minas Gerais, campus Ubá (UEMG/Ubá) e dois alunos egressos, além de contar com a colaboração de cinco pesquisadores externos (Fig. 2). Dentre eles se destaca o herpetólogo especialista em serpentes, MSc. Jonas Ferrari Morais, egresso da UEMG e diretor da Associação Regional de Proteção Ambiental (ARPA-Ubá). Seu papel no grupo é muito importante pois, além de co-orientar diversos alunos, ele atua estabelecendo diálogo entre o ZooVert Lab e a sociedade, auxiliando no angariamento de parceiros e recursos, o que permite a integração entre os nossos resultados e as ações de recuperação ambiental implementadas pela ARPA na região. Destacamos ainda a Dra. Caryne de Oliveira Braga (mastozoóloga, professora da UENF), o Dr. Leandro de Oliveira Drummond (herpetólogo, pesquisador da UENF), o Dr. Marcos Raposo (ornitólogo, professor do Museu Nacional/UFRJ) e o Dr. Pablo Rodrigues Gonçalves (mastozoólogo, professor do Nupem/UFRJ), que atuam co-orientando alunos e em colaborações solidárias, autorizando o uso do material e dos espaços dos laboratórios que chefiam.

O projeto central da nossa equipe tem como alvo a presença e distribuição da fauna de vertebrados terrestres na Zona da Mata Mineira, aplicando os resultados em ações de extensão, educação e preservação



Figura 2. Egressos e principais colaboradores externos do Zoo-Vert Lab. Da esquerda para a direita: Ian Moreira Souza (NUPEM/UFRJ), Rosalvo Arantes (UNIFAGOC), Caryne Aparecida Braga (UENF), Leandro de Oliveira Drummond (UENF), Marcos Raposo (MN/UFRJ), Pablo Rodrigues Gonçalvez (NUPEM/UFRJ).

ambiental. A região por sua vez recebe esse nome devido a sua cobertura vegetal original, a Floresta Tropical de Mata Atlântica, que hoje, infelizmente, está representada exclusivamente por fragmentos espaçados ao longo do mosaico montanhoso da região (Dean, 2002; Fundação SOS Mata Atlântica, 2019).

A partir do tema principal estão associados alguns subprojetos ligados principalmente à taxonomia e história natural da herpetofauna (Fig. 3). Esta característica reflete a trajetória acadêmica da coordenadora do grupo, que é zoóloga e herpetóloga de formação. Suas principais pesquisas estão relacionadas à sistemática de anuros, que resultaram em oito publicações nos últimos 3 anos, já como coordenadora do ZooVert Lab (Lourenço et al., 2019, 2020; Pezzuti et al., 2019; Dielle-Viegas et al., 2020; Lyra et al., 2020; Raposo et al., 2020; Lacerda et al., 2021; Segalla et al., 2021).

Após um ano da criação do nosso grupo, dois trabalhos de conclusão de curso foram finalizados. Em um deles analisamos os casos de acidentes ofídicos na microrregião de Ubá, Minas Gerais, e no outro

desenvolvemos um levantamento de pequenos mamíferos não voadores em uma unidade de conservação da região, obtendo resultados taxonômicos intrigantes. Por exemplo, registramos um roedor equimídeo arborícola do gênero *Phyllomys*, um dos gêneros mais diversos da família dos ratos-de-espinhos do Brasil, mas também de taxonomia muito complexa. Análises moleculares o posicionaram como sendo da espécie *Phyllomys pattoni* Emmons, Leite, Kock, e Costa, 2002, porém o cariótipo encontrado foi diferente do conhecido para a espécie. Além disso, algumas características morfológicas típicas para a espécie também diferem das anotações da literatura. Registramos também prováveis espécies novas de roedores da família Cricetidae (ratos e camundongos) dos gêneros *Oligoryzomys* e *Oecomys* que são sintópicas às espécies *Oligoryzomys nigripes* (Olfers, 1818) e *Oecomys catherinae* Thomas, 1909 na região estudada. Além disso, também observamos questões interessantes relativas à história natural, como o registro de um casal de marsupiais da espécie *Caluromys philander* (Linnaeus, 1758) utilizando fios de eletricidade em uma área aberta, possivelmente para buscar água no lago próximo ou por estarem em atividade reprodutiva.



Figura 3. Organograma ilustrando os principais temas estudados pelo ZooVet Lab na atualidade.

Por este motivo, em 2020, percebemos a necessidade da criação da nossa identidade visual (Fig. 4) e de fundarmos a nossa primeira mídia social (@zoovertuemguba). Com linguagem simples e voltada para a população em geral, divulgamos no espaço virtual os resultados de nossos projetos, relatos das ações periódicas da equipe e conteúdos autorais relacionados aos saberes científicos e populares. Os textos produzidos visam reforçar e popularizar o conhecimento sobre a fauna de vertebrados e favorecer a proteção dos recursos naturais, além de procurar desmistificar o imaginário popular em relação à fauna silvestre (Fig. 5).



Figura 4. Com o intuito de dar maior visibilidade para a herpetofauna, escolhemos um anuro e uma serpente para compor a nossa logomarca, pois trata-se de um grupo de vertebrados muito negligenciado e perseguido, presente em lendas e mitos que povoam o imaginário popular.



Figura 5. Linha do tempo do ZooVert Lab, sumarizando marcos históricos principais desde sua fundação.

Atualmente, podemos destacar cinco subprojetos principais em fase final de execução. Três deles referem-se ao estudo do comportamento, história natural e anatomia de espécies de anfíbios anuros e os outros dois tratam de inventários da herpetofauna em fragmentos florestados da microrregião de Ubá. Por outro lado, também estamos iniciando projetos sobre o levantamento de fauna de vertebrados terrestres em outras áreas mais preservadas da Zona da Mata Mineira, onde existem relatos, inclusive, do encontro com grandes mamíferos. Todos estes projetos subsidiarão dados que serão incorporados em cartilhas e palestras difundidas nas escolas e comunidades rurais da região, apresentando a riqueza da fauna e sua importância ecológica.

Deste modo, entendemos que a missão do ZooVert Lab pode ser sumarizada nas seguintes perspectivas chaves: geração de conhecimento sobre a fauna de vertebrados, formação de profissionais que atuarão na conservação ambiental, além da desconstrução de mitos e difusão de conhecimento científico com reflexos diretos e indiretos na preservação da Mata Atlântica. Com isso, convidamos a todos a acompanharem nossos projetos e publicações, indicando que estamos de portas abertas para receber colaboradores, parceiros e futuros alunos interessados nestes temas, especialmente porque pretendemos em 2022 nos integrar ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais da UEMG, ampliando ainda mais nossas possibilidades.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Mirco Solé pelo convite e pela oportunidade de divulgar o nosso laboratório. Pelo apoio financeiro e parceria em diversos projetos ambientais no município de Ubá e região, agradecemos à ARPA-Ubá. Pelas bolsas concedidas agradecemos ao Programa Institucional de Apoio à Pesquisa (PAPq/UEMG). E finalmente, somos muito gratos aos colaboradores e alunos da UEMG que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento do ZooVert Lab.

REFERÊNCIAS

Dean W. 2002. A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira. Companhia das Letras, Rio de Janeiro.

Dielle-Viegas L.M., Araujo O.G.S., Berneck B.V.M., Brasileiro C.A., Brito E.S., Bunes T.O., ... Lourenço A.C.C. 2020. When misinterpretation leads to sexism: perspectives on gender disparity in Brazilian Herpetology. *Herpetologia Brasileira* 9:86–99.

Fundação SOS Mata Atlântica; INPE. 2019. Atlas dos remanescentes florestais de Mata Atlântica. Fundação SOS Mata Atlântica e Inpe, São Paulo.

Lacerda J.V.A., Ferreira R.B., Araujo-Vieira K., Zocca C., Lourenço A.C.C. 2021. A new species of *Scinax* Wagler (Amphibia, Anura, Hylidade) from the Atlantic Forest, Southeastern Brazil. *Ichthyology & Herpetology* 109:522–536.

Lourenço A.C.C., Lingnau R., Haddad C.F.B., Faivovich J. 2019. A New Species of the *Scinax catharinae* Group (Anura: Hylidae) from the Highlands of Santa Catarina, Brazil. *South American Journal of Herpetology* 14:163–176.

Lourenço A.C.C., Lacerda J.V.A., Cruz C.A.G., Nascimento L.B., Pombal J.P. Jr. 2020. A new species of the *Scinax catharinae* species group (Anura: Hylidae) from the Atlantic rainforest of northeastern Minas Gerais, southeastern Brazil. *Zootaxa* 4878:305–321.

Lyra M.L., Lourenço A.C.C., Pinheiro P.D.P., Pezzuti T.L., Baeta D., Barlow A., ... Faivovich J. 2020. High-throughput DNA sequencing of museum specimens sheds light on the long-missing species of the *Bokermannohyla claresignata* group (Anura: Hylidae: Cophomantini). *Zoological Journal of the Linnean Society* 190:1235–1255.

Pezzuti T.L., Leite F.S.F., Silva D.H., Lourenço A.C.C., Baeta D. 2019. The tadpole of *Physalaemus orophilus* from the Atlantic rainforest of southeastern Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa* 4629:141–145.

Raposo M.A., Kirwan G. M., Lourenço A.C.C., Sobral G., Bockmann F.A., Stopiglia R. 2020. On the notions of 'taxonomic impediment', 'gap', 'inflation', and 'anarchy', and their effects on the field of conservation. *Systematics and Biodiversity* 1:1–16.

Segalla M.V., Berneck B.V.M., Canedo C., Caramaschi U., Cruz C.A.G, Garcia P.C.A., ... Langone J.A. 2021. List of Brazilian Amphibians. *Herpetologia Brasileira* 10:121–216.

Editor: Mirco Solé



Corallus hostulanus
Machadinho D Oeste, RO
@Diego José Santana

Notícias de Conservação

Conservação da Restinga: o projeto Calango do Abaeté

André K. Leite[1,2,3], Cecil P. Fazolato[3,4,] Jamille F. Marques[1,3,6], Mateus. S. Bonfim[1,3,7], Magno L. T. Oliveira[3,5], Moacir S. Tinôco[1,3,7,8*], Geraldo J. B. Moura[1,2,3,6,7,8*]

1 Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brasil.
2 Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brasil.
3 Centro de Ecologia e Conservação Animal, Universidade Católica do Salvador, 41740-090 Pituaçu, Salvador, BA, Brasil.
4 Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução, Universidade Federal da Bahia, 40170-115 Salvador, BA, Brasil.
5 Programa de Pós-Graduação em Ecologia: Teoria, Aplicação de Valores, Universidade Federal da Bahia, 40170-290 Salvador, BA, Brasil.
6 Programa de Pós-Graduação em Ecologia Humana e Gestão Socioambiental Universidade do Estado da Bahia, 48904-711 Juazeiro, BA, Brasil.
7 Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brasil.
8 Programa de Pós-Graduação em Território, Ambiente e Sociedade, Universidade Católica do Salvador, 41740-090 Salvador, BA, Brasil.
*Autor correspondente: E-mail: *geraldo.jbmoura@ufrpe.br e moacirtinoco@gmail.com*
DOI: *10.5281/zenodo.5211367*

A RESTINGA: UM ECOSSISTEMA RECENTE EM CONSTANTE TRANSFORMAÇÃO E RISCO DE EXTINÇÃO

A história geológica do planeta foi marcada por diferentes eventos que resultaram em profundas transformações nos continentes, mudanças no clima e consequentemente na heterogeneidade das paisagens, contribuindo para a diversificação de espécies e suas histórias biogeográficas (Sanmartín 2012). Nos últimos três milhões de anos, variações climáticas globais tiveram grande repercussão na história evolutiva e na distribuição de espécies em todo o globo (Hewitt 2000). Esse período geológico compreende o Quaternário, marcado por oscilações climáticas que influenciaram as variações no nível do mar, contribuindo com dife-

rentes eventos de sedimentação e modificação das paisagens costeiras em todo o planeta (Sant'Anna Neto et al. 2005; Hansen et al. 2013; Micallef et al. 2013). No Brasil, as mudanças do nível do mar tiveram influência na formação de depósitos arenosos na costa, caracterizados por regiões de formação recente, com formação de dunas e uma paisagem em constante modificação, localmente chamadas de Restingas (Fig. 1) (Dominguez 2006; Tinôco 2019).

A restinga, ao longo da costa brasileira, apresenta diferentes formações paisagísticas decorrente de efeitos climáticos no sentido latitudinal, características geológicas locais e dinâmicas da formação costeira (Fazolato et al. 2019). Este contexto de variabilidade paisagística dos depósitos arenosos na costa brasileira torna as restingas um importante atrativo para pesquisas de diferentes abordagens e principalmente de ações conservacionistas (Fazolato et al. 2019).

A restinga carrega no seu histórico, séculos de modificações naturais e principalmente antropogênicas (Fonseca & Tinôco 2019). Estima-se que os impactos ambientais nessas regiões tiveram início com a chegada dos colonizadores europeus no Brasil e consequentemente a ocupação desordenada do país, além



Figura 1. Formação típica de restinga no Quaternário do litoral norte da Bahia. A foto ilustra com clareza a formação típica de dunas de areia branca.
Foto: Barro de Chão.

da constante exploração dos recursos naturais (Fazolato et al. 2019). Desde a descoberta do potencial comercial e turístico das áreas costeiras as atividades econômicas se intensificaram e a restinga passou por modificações da paisagem de forma acelerada o que ocasionou efeitos diversos por toda sua extensão (Marques et al. 2019). Atualmente as principais ameaças para a restinga brasileira englobam a fragmentação do habitat, poluição, atropelamento, comércio e criações ilegais e introdução de espécies exóticas (Fonseca & Tinôco 2019).

CONSERVAÇÃO DE LAGARTOS AMEAÇADOS NA RESTINGA DO NORDESTE

Por ser um ambiente pouco conhecido, estudos recentes têm trazido à luz algumas discussões a respeito dos processos de diversificação de espécies relacionadas à restinga (Menezes et al. 2016; Fazolato et al. 2017; Rosário et al. 2019; Trevisan et al. 2020). Este efeito tem cada vez mais agregado relevância em entender os hiatos existentes na restinga brasileira. A cada ciclo de avaliação de espécies ameaçadas, mais espécies mostram seu estado de conservação agravado nesse ambiente, o que chama a atenção para a necessidade de políticas públicas que possam proteger mais eficientemente os ecossistemas costeiros (Fonseca & Tinôco 2019).

Neste contexto, diversas bandeiras para a conservação de ecossistemas ameaçados têm surgido em todo o litoral. Assim, o *Glaucomastix abaetensis* (Dias et al., 2002) "calango-do-Abaeté" (Fig. 2), atualmente considerada como ameaçada de extinção (categoria "Em Perigo") nas Listas Vermelhas de Espécies Ameaçadas Estadual (SEMA 2017) e Nacional (MMA 2018), surge como uma espécie guarda-chuva para a conservação da restinga justamente por ser uma das espé-



Figura 2. Calango-do-Abaeté (*Glaucomastix abaetensis*) exemplar típico das dunas de areia branca do litoral norte da Bahia.
Foto: Magno Travassos.

cies mais ameaçadas do ecossistema na região. Distribuído em subpopulações fragmentadas ao longo de aproximadamente 150 km, o calango-do-Abaeté restringe-se às faixas de dunas e areias brancas associadas às matas de restingas do litoral norte da Bahia, abrangendo apenas seis municípios baianos em uma distribuição disjunta e sujeita a forte pressão antrópica: Salvador, Lauro de Freitas (provavelmente extinta), Camaçari, Mata de São João, Esplanada e Entre Rios. Por este motivo está sob risco de desaparecer nos próximos 30 anos, tendo em vista o ritmo de perda do seu habitat preferencial, uma vez que, existe grande especulação imobiliária na região, considerada hoje como o principal polo turístico do Estado da Bahia (FIPE 2015).

Diante deste cenário, foi criado em 2007 o projeto Calango do Abaeté (Fig. 3), a partir de uma parceria com o IBAMA. O projeto tem o objetivo de compreender os padrões ecológicos das espécies de lagartos ameaçadas e identificar áreas prioritárias para conservação no litoral norte da Bahia. Devido ao seu nível de ameaça, o calango-do-Abaeté foi escolhido como espécie bandeira do projeto, porém o mesmo abrange outros lagartos ameaçados da região, como a lagartixa-da-restinga *Tropidurus hygomi* (Reinhardt & Luetken, 1861), e o calango *Glaucomastix itabaianesis* (Rosário et al., 2019) e, indiretamente, as demais espécies da herpetofauna local, incluindo outras com risco de extinção [*Allobates olfersioides* (Lutz, 1925); *Dryadosau-*



Figura 3. Projeto Calango do Abaeté, projeto de conservação da restinga que traz a espécie como um guarda chuva para sua preservação.
Foto: Acervo Calango do Abaeté.

ra nordestina (Rodrigues et al., 2005); *Leposoma annectans* Ruibal, 1952; *Leposternon octostegum* (Duméril, 1851); *Lachesis muta* (Linnaeus, 1766) e *Vitreorana eurygnatha* (Lutz, 1925)]. O projeto conta com inúmeras conquistas e ações de conservação em andamento, incluindo monitoramento da biodiversidade, ações socioambientais e divulgação científica. Considerado como um dos mais relevantes monitoramentos de longa duração dessas espécies na região, ao longo desses últimos 14 anos, colaborou com a elaboração da lista nacional e estadual (Bahia e Pernambuco) de espécies ameaçadas, além da elaboração dos mapas de áreas prioritárias do estado da Bahia e da Mata Atlântica, além disso colabora diretamente com cinco Postos Avançados da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica e faz parte do grupo de assessoramento técnico e da coordenação executiva do Plano de Ação Nacional para Conservação da Herpetofauna da Mata Atlântica Nordestina e do Plano de Ação Nacional para Conservação da Herpetofauna do Nordeste (Fig. 4). Somado a todo este esforço ainda faculta a formação de recursos humanos (quarenta monografias de graduação, dez dissertações, sete teses e dois pós-doutorados), capacitando mais de 50 pesquisadores associados a ao menos quatro IES nacionais e duas internacionais.

O projeto destaca-se também por uma produção científica expressiva com mais de 150 publicações como artigos publicados em periódicos indexados nacionais



Figura 4. PAN da Herpetofauna do Nordeste, onde o calango-do-Abaeté é espécie alvo e a conservação da restinga compõe as ações.
Foto: Acervo Calango do Abaeté.

e internacionais, livros, capítulos de livros e resumos apresentados em diversos eventos científicos nacionais e internacionais, considerando as espécies em questão e estudos com a herpetofauna da região. Uma das suas mais importantes produções científicas é o livro "Restinga – Herpetofauna do Litoral Norte da Bahia" um volume ricamente ilustrado, contemplando mais de 150 espécies e ampla informação ecogeográfica, produzido a partir de recursos da Lei de Incentivo à Cultura do Governo Federal (Tinoco et al. 2019). Toda esta produção precisa ser compartilhada e servir como ferramenta para a popularização da ciência (Fig. 5) e educação ambiental (Fig. 6). É por este motivo que o projeto já atingiu algumas milhares de pessoas em toda a região. Atualmente com inúmeras escolas, eventos, exposições e ações de conservação, estimamos um público médio anual de três mil pessoas diretamente impactadas (Fig. 7). Estas ações se mantiveram ativas até mesmo durante a pandemia, quando migramos para ações virtuais, mas que não deixaram de ocorrer.



Figura 5. Educação Ambiental e popularização da ciência em escolas públicas e privadas do nordeste do Brasil.
Foto: Acervo Calango do Abaeté.



Figura 6. Educação Ambiental em mais de uma dezena de UC na região.
Foto: Acervo Calango do Abaeté.



Figura 7. Exposição itinerante para popularização da ciência da expedição restinga. Foto: Acervo Calango do Abaeté.

Sabemos o quão difícil é a execução de um projeto conservacionista e entendemos que todo esse avanço só foi possível a partir do estabelecimento de parcerias importantes. Até o presente momento, podemos contabilizar aproximadamente sete mil horas de campo e mais de 200 pesquisadores envolvidos no projeto. Além disso, foi de extrema importância o apoio das instituições nacionais e internacionais, entre as quais podemos citar a Sociedade Brasileira de Herpetologia que apoiou nossa mais importante publicação, o Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios (RAN/ICMBio) importante por seu suporte às nossas pesquisas, o Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos (LEHP/UFRPE), o Grupo de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos do Nordeste – CNPq (GEHP) por seu apoio científico de ponta, o Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica (RBMA/UNESCO), a University of Kent (DICE/UKC), Universitat de Les Illes Balears (UIB/Espanha), as Unidades de Conservação do Parque das Dunas, o Parque Klaus Peters, a Fundação Garcia D'Ávila, a APA do Litoral Norte, APA Joanes-Ipitanga, a Fazenda Milagres, o Instituto da Mata, o Condomínio Busca Vida e a primeira UC proposta para a conservação do calango-do-Abaeté, a RPPN Fonte dos Padres em Camaçari, Bahia e, recentemente, o Plano de Ação Nacional para Conservação da Herpetofauna do Nordeste, todos estes parceiros nos acompanham em todos os eventos de divulgação científica que participamos como o Congresso Brasileiro de Herpetologia (Fig. 8) e o World Congress of Herpetology (Fig. 9), hoje temos convicção de que o calango-do-Abaeté está no imaginário ambiental de muitas pessoas por toda parte.



Figura 8. Divulgação científica em evento nacional, Congresso Brasileiro de Herpetologia da SBH em Campinas, 2019 .
Foto: Acervo Calango do Abaeté.



Figura 9. Divulgação científica em evento internacional, World Congress of Herpetology na Nova Zelândia, 2020.
Foto: Acervo Calango do Abaeté.

O PROJETO CALANGO DO ABAETÉ HOJE

Dando continuidade às ações de conservação, o projeto realiza hoje o monitoramento mensal contínuo dos lagartos em duas localidades, sendo elas no município de Salvador (Parque das Dunas) e Camaçari (RPPN Fonte dos Padres), ambas em Unidades de Conservação, sendo uma de proteção integral e a outra de uso sustentável, respectivamente. Mais duas áreas igualmente monitoradas, contudo contemplando uma biodiversidade mais ampla, em Mata de São João, no Parque Klaus Peters e em Conde na Fazenda Milagres, inserida em uma UC de uso sustentável, monitoramos direta ou indiretamente todas as subpopulações da espécie bandeira. Além disso, visando atender aos objetivos propostos do Plano de Ação Nacional para a Conservação da Herpetofauna do Nordeste, o projeto realiza diversas pesquisas científicas ao longo de todo o litoral norte da Bahia e toda costa do estado de Sergipe, contemplando a distribuição total do *G. abaetensis* e do *T. hygomi*, além de outros estudos contemplando também o estado de Pernambuco. Entre os estudos em andamento podemos citar os autoecológicos, os quais investigam os padrões reprodutivos, alimentares e parasitários das espécies; os de ecologia numérica, com a observação da dinâmica populacional desses lagartos entre outros grupos; os de conservação, com a análise da viabilidade populacional para ambas as espécies em um cenário de constante perda de habitats; os morfológicos, a partir da análise comparativa de caracteres morfológicos em diferentes populações; de cunho evolutivo e biogeográfico, buscando investigar os processos de diversificação espaço-temporal de *G. abaetensis*, *G. itabaianensis* e *T. hygomi* através de integração de abordagens genômica com descrição de espécies e DNA ambiental, ecológica, morfológica e geológicas. Além das pesquisas supracitadas, que investigam diretamente as espécies em seus habitats, o projeto também possui uma vertente etnoherpetológica que busca entender a percepção, convivência e relação das comunidades locais com essas espécies ameaçadas, ferramentas essenciais para elaboração de estratégias para a conservação, planos de manejo e ações de educação ambiental.

Com esses estudos em andamento, sabemos que nossa contribuição é relevante na elaboração de políticas públicas, como por exemplo nossa contribuição na Política Estadual de Educação Ambiental, dando mais ênfase aos programas que valorizem a biodiversidade ameaçada, e políticas estaduais e nacionais de monitoramento da biodiversidade, o que é a nossa expertise. O projeto e seus parceiros seguem contribuindo para a conservação dessas espécies, porém ainda há muito a contribuir com a herpetologia local e regional, elucidando questões acerca dessas e outras espécies de Anfíbios e “Répteis” na região e acima de tudo contribuindo com a preservação deste ecossistema.

PARA ONDE VAMOS DEPOIS DAQUI? A EXPEDIÇÃO RESTINGA DO BRASIL

A partir do projeto Calango do Abaeté e do livro Restinga – Herpetofauna do Litoral Norte da Bahia entendemos, infelizmente, que a restinga do Brasil pede socorro. Este é um ecossistema ameaçado e necessita de ações macroestruturais emergenciais para a sua preservação. Partindo desta premissa lançamos em 08 de junho de 2021, no dia do Oceano, e no mês de lançamento da Década da Restauração dos Ecossistemas da ONU/UNESCO, o projeto "*Restinga Expedition*" ou Expedição Restinga.

Este é um projeto que visa revelar de maneira definitiva as prioridades para a conservação da restinga no Brasil. Uma jornada nacional, assinada por todas as instituições parceiras do nosso projeto e pretende revelar a biodiversidade, história, cultura, e ameaças às quais este ecossistema encontra-se submetido ao longo da costa brasileira.

A restinga está situada na região que detém o maior PIB nacional (Brasil 2021) e justamente por este motivo encontra-se sob forte pressão antrópica. A jornada visitará quinze estados costeiros percorrendo milhares de quilômetros no litoral e revelando o que há de mais importante para a conservação e preservação da restinga do Brasil, pelo menos o que ainda resta desse ecossistema exuberante. A expedição terá início em julho de 2021 com um trecho inicial curto simbolizando a restinga mais antiga do Brasil em Pratigi, Bahia, e sua segunda etapa em 2022, percorrendo todos os estados do Nordeste e a terceira etapa em 2023 contemplando os estados do Sudeste e Sul do Brasil. Esperamos, a partir de 2024 poder mostrar ao mundo um diagnóstico completo desta importante porção do nosso país.

AGRADECIMENTOS

Além dos parceiros citados no texto acima, agradecemos às agências financiadoras do projeto, como a Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia – FAPESB, Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco - FACEPE, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, Herpetofauna Foundation, RepTech – Reptile Technologies, Lacerta Consultoria, Projetos e Assessoria Ambiental, Amphibian Ark e Editora Barro de Chão, bem como aos gestores e proprietários das áreas de estudo que contribuíram com a logística e viabilidade das pesquisas, sendo eles o Condomínio Busca Vida, Instituto da Mata, Fazenda Milagres, Projeto Floresta Sustentável, Parque Ecológico Universitário (PEU), Parque das Dunas, Parque Klaus Peters, Associação dos Moradores da Rua Aquarius e Via Parque (AVP) de Jauá, Associação de Moradores e Amigos de Massarandupió e APA do Litoral Norte da Bahia.

REFERÊNCIAS

Brasil. 2021. Produto Interno Bruto do Brasil por Estado. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Acessado em 04/07/2021 em *https://www.ibge.gov.br/explica/pib.php*.

Dias J.E.R., Rocha C.F.D., Vrcibradic, D. 2002. New *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae) from Bahia State, northeastern Brazil. *Copeia* 2002:928–937. doi:*10.1643/0045-8511(2002)002[1070:NCS-TFB]2.0.CO;2.*

Dominguez J.M.L. 2006. The coastal zone of Brazil: an overview. *Journal Coastal Research* 39:16–20. doi: *10.1007/978-3-540-44771-9_2*.

Duméril A.M.C., Duméril A.H.A. 1851. Catalogue méthodique de la collection des reptiles du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris. Gide et Baudry/Roret, Paris.

Fazolato C., Fernandes F., Batalha-Filho H. 2017. The effects of Quaternary sea-level fluctuations on the evolutionary history of an endemic ground lizard (*Tropidurus hygomi*). *ZoologischerAnzeiger-A Journal of Comparative Zoology* 270:1–8. doi: *10.1016/j.jcz.2017.08.007*.

Fazolato C., Tinôco M.S., Moura G.J.B. 2019. Restinga – História, ocupação e sociobiodiversidade ameaçadas. Pp. 24–37 in Tinôco M.S. (Ed.), Restinga: Herpetofauna do Litoral Norte da Bahia. Editora Barro de Chão, Salvador.

Fonseca E., Tinôco M.S. 2019. Conservação da Herpetofauna do litoral norte da Bahia. Pp. 504–523 in Tinôco M.S. (Ed.), Restinga: Herpetofauna do Litoral Norte da Bahia. Editora Barro de Chão, Salvador.

Fundação Instituto de Pesquisas Econômicas (FIPE). 2015. Pesquisa de caracterização do turismo receptivo no Estado da Bahia: Relatório final. São Paulo.

Hansen J., Sato M., Russell G., Kharecha P. 2013. Climate sensitivity, sea level and atmospheric carbon dioxide. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 371:1–31. doi: *10.1098/rsta.2012.0294*.

Hewitt G. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405: 907–913. doi: *10.1038/35016000*.

Linnaeus C. 1766. Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. Laurentii Salvii, Estolcomo.

Lutz A. 1925. Batraciens du Brésil. *Comptes Rendus et Mémoires Hebdomadaires des Séances de la Société de Biologie et des ses Filiales* 93:137–139.

Marques J., Porto C.R., Araújo C., Moura G.J.B., Tinôco M.S. 2019. Sociobiodiversidade, Etnoecologia e Etnoherpetologia. Pp. 524–531 in Tinôco M.S. (Ed.), Restinga: Herpetofauna do Litoral Norte da Bahia. Editora Barro de Chão, Salvador.

Menezes L., Canedo C., Batalha-Filho H., Garda A.A., Gehara M., Napoli M.F. 2016. Multilocus Phylogeography of the Treefrog *Scinax eurydice* (Anura, Hylidae) Reveals a Plio-Pleistocene Diversification in the Atlantic Forest. *Plos One* 11:1–20. doi: 10.1371/journal.pone.0154626.

Micallef A., Foglini F., Le Bas T., Angeletti L., Maselli V., Pasuto A., Taviani M. 2013. The submerged paleolandscape of the Maltese Islands: Morphology, evolution and relation to Quaternary environmental change. *Marine Geology* 335:129–147. doi: 10.1016/j.margeo.2012.10.017.

Ministério do Meio Ambiente (MMA). 2018. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume I. ICMBio/MMA, Brasília.

Rodrigues M.T., Freire E.M.X., Pellegrino K.C.M., Sites Jr. J.W. 2005. Phylogenetic relationships of a new genus and species of microteiid lizard from the Atlantic forest of north-eastern Brazil (Squamata, Gymnophthalmidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 144:543–557. doi: *10.1111/j.1096-3642.2005.00177.x*.

Rosario I.R., Santos R.M.L., Arias F., Rocha C.F.D., Dias E J.D.R., Carvalho C.M., Rodrigues M.T. 2019. Phylogeography of the endangered sand dune whiptail lizard *Glaucomastix abaetensis* (Dias, Rocha & Vrcibradic, 2002) with the description of a new species. *Zootaxa* 4624:451–477. doi: *10.11646/zootaxa.4624.4.1*.

Ruibal R. 1952. Revisionary notes of some South American Teiidae. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College* 106:475–529.

Sanmartín I. 2012. Historical biogeography: evolution in time and space. *Evolution: Education and Outreach* 5:555–568. doi: *10.1007/s12052-012-0421-2*.

Sant'Anna Neto J.L., Nery J.T. Souza C.R.G., Suguio K., Oliveira A.M.S.P., Oliveira P.E. 2005. Variabilidade e mudanças climáticas no Brasil e seus impactos regionais. Pp. 28–51 in Oliveira P.E., Suguio K., Gouveia C. (Eds.), Quaternário do Brasil. Editora Holos, Ribeirão Preto.

Secretaria do Meio Ambiente (SEMA). 2017. Lista Oficial das Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção do Estado da Bahia. Portaria Nº 37. Governo da Bahia, Bahia.

Tinôco M.S. 2019. Restinga: Herpetofauna do Litoral Norte da Bahia. Editora Barro de Chão, Salvador.

Trevisan C.C., Batalha-Filho H., Garda A.A., Menezes L., Dias I.R., Solé M., ... Napoli, M.F. 2020 Cryptic diversity and ancient diversification in the northern Atlantic Forest *Pristimantis* (Amphibia, Anura, Craugastoridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 148:106811. doi: *10.1016/j.ympev.2020.106811*.

Editor: Iberê F. Machado

Trabalhos recentes

Da Fonte L.F.M., Latombe G., Gordo M., Menin M., De Almeida A.P., Hui C., Lötters S. 2021. Amphibian diversity in the Amazonian floating meadows: a Hanski core-satellite species system. *Ecography* 44:1–16. doi: https://doi.org/10.1111/ecog.05610

Florestas tropicais e suas bacias hidrográficas associadas estão entre os maiores repositórios de biodiversidade do planeta. A bacia amazônica é a maior bacia hidrográfica, tendo até 30% de suas águas fluindo através de planícies inundáveis. Diversos estudos têm tentado explicar a origem da biodiversidade amazônica, que geralmente é relacionada à limitação da dispersão e vicariância gerados por eventos históricos (climáticos e geológicos). Apesar de avanços neste tema, muito ainda falta para compreender a estrutura da biodiversidade em diferentes partes na Amazônia. Neste trabalho, os autores estudaram os padrões e os fatores responsáveis pela estruturação da diversidade em bancos de macrófitas flutuantes na região amazônica, utilizando anfíbios anuros como modelo de estudo.

Os bancos de macrófitas, abundantes em lagos de várzea, têm importantes funções, como a ciclagem de nutrientes, além de fornecer abrigo, alimento e hábitat para a reprodução de diversos grupos de organismos. Durante o período das cheias, com a conexão entre os rios e os lagos, as macrófitas flutuantes são transportadas para os rios, onde se tornam um meio de dispersão de longa distância a sua fauna associada. Apenas algumas espécies são adaptadas para a vida nesse habitat, estando elas localmente abundantes e comuns em toda a distribuição dos bancos de macrófitas. Por outro lado, a maioria das espécies habita esses bancos ocasionalmente, no período das cheias, e são geralmente típicos de ecossistemas adjacentes, a exemplo das várzeas. Para estas espécies, espera-se que sejam localmente raras e pouco frequentes ao longo da distribuição das macrófitas flutuantes.

A dicotomia entre as espécies localmente abundantes e comuns no gradiente geográfico (espécies “core”) e as espécies raras localmente e incomuns no gradiente geográfico (espécies satélites), é conhecida como o modelo de “core-satellite” de Hanski, que presume que esses dois grupos funcionais de espécies operam sob regras ecológicas diferentes. Os autores testaram os aspectos funcionais da hipótese de

Hanski, utilizando uma metodologia que correlaciona a diversidade zeta (uma métrica recém proposta) com o turnover composicional para gradientes ambientais e geográficos. A diversidade zeta considera a contribuição de espécies raras, intermediárias e comuns para a mudança composicional da diversidade, permitindo testar hipóteses sobre a importância relativa de processos determinísticos versus estocásticos na geração de padrões de estruturação da diversidade. Além disso, os autores integraram a diversidade zeta a uma modelagem de dissimilaridade generalizada "multi-site" (GDM-MS), visando investigar o quanto os gradientes ambientais e a distância espacial explicam o "turnover" de espécies.

Os autores compilaram listas de espécies de anfíbios em bancos de macrófitas provenientes de 57 sítios na Amazônia, cobrindo aproximadamente 7000 km ao longo dos cursos de vários rios da região. Considerando apenas anuros, 49 espécies foram identificadas, tendo sido classificadas quanto a características de história de vida e estratégia reprodutiva. Os sítios com maior riqueza de espécies foram identificados na confluência dos maiores rios da bacia, no alto Amazonas e na região central. A maior parte das espécies foi classificada como incomum ao longo dos sítios de amostragem, seguida por espécies de frequência intermediária e em minoria, as espécies frequentes (todas pererecas da família Hylidae, arbóreas ou semiaquáticas). Treze espécies foram consideradas tipicamente associadas aos bancos de macrófitas, 31 às várzeas e cinco associadas a florestas de terra firme. Os resultados das análises demonstraram que em larga escala, a diversidade de anfíbios em bancos de macrófitas é determinada por fatores estocásticos, enquanto em escalas regionais a diversidade do grupo é determinada por fatores climáticos e determinísticos. Além disso, o turnover das espécies do tipo "satélite" aumenta muito mais rápido em função da distância e é controlado por uma gama mais ampla de variáveis ambientais. Com esses resultados, o trabalho demonstra a importância dos rios amazônicos na dispersão, principalmente das espécies de anfíbios tipicamente associadas aos bancos de macrófitas flutuantes.

Editor: Adriano O. Maciel

Gendler J.L.P.L., Souza L.N., Marques O.A.V., Miyaji K.T., Medeiros C.R. 2021. Bites by *Xenodon merremii* (Wagler, 1824) and *Xenodon neuwiedii* (Günther, 1863) in São Paulo, Brazil: a retrospective observational study of 163 cases. *Toxicon* 198:24–31. doi: *10.1016/j.toxicon.2021.04.021*

Acidentes ofídicos são um problema de saúde pública negligenciado, afetando no mundo todos os anos cerca de cinco milhões e meio de pessoas e ocasionando a morte de 81-138 mil, além de um número três vezes maior de amputações e outras sequelas. No Brasil há por ano cerca de 30 mil acidentes, 8% por serpentes "não peçonhentas" (animais que não possuem dentes inoculadores na porção anterior da boca). Embora os acidentes causados por algumas destas serpentes sejam graves, estudos demonstrando o significado clínico do envenenamento pela maioria delas ainda são raros.

O presente estudo investigou duas serpentes do gênero *Xenodon* que estão entre as espécies "não peçonhentas" que causam mais acidentes no país e são relativamente comuns em áreas urbanas. Dados detalhados sobre o envenenamento por estas serpentes são escassos, entretanto é sabido que pelo menos uma delas (*X. merremii*) possui glândulas que produzem várias proteínas presentes também no veneno de viperídeos (serpentes peçonhentas). Apesar de apresentarem dentição áglifa, estas espécies possuem dentes posteriores grandes capazes de inocular esta saliva tóxica mesmo sem dentes sulcados. Foram levantados os registros e dados clínicos de pacientes internados no Hospital Vital Brazil, Instituto Butantan, São Paulo, que sofreram acidentes confirmados por *X. merremii* ou *X. neuwiedii* (os animais foram levados junto com o paciente) entre os anos de 1945 e 2019.

Considerando o total de casos registrados, 123 foram causados por *X. merremii* e 40 por *X. neuwiedii*. Dados epidemiológicos revelam características importantes da história natural dessas espécies. Para ambas a maioria dos acidentes ocorreu na primavera ou verão e durante o período mais quente do dia (entre 10 e 16 horas), embora o pico para *X. merremii* foi ao meio dia, enquanto para *X. neuwiedii* variou entre 8 da manhã e 1 hora da tarde. A maioria dos acidentes foi causada por espécimes adultos em *X. neuwiedii*, e por jovens em *X. merremii*. A razão entre adultos e jovens variou durante os meses, sendo os acidentes causados principalmente por adultos de *X. neuwiedii* no verão e por jovens de *X. merremii* no outono. Os sintomas clínicos mais comuns foram dor, sangramento transitório, eritema e edema local, o último mais frequente em *X. neuwiedii*. Não foram registradas alterações na coagulação sanguínea ou envenenamento sistêmico, porém 16 pacientes (cerca de 10% dos casos) foram tratados com soro antibotrópico. Como essas serpentes podem ser confundidas com jararacas devido a semelhanças no padrão de coloração e/ou por alguns sintomas locais do envenenamento, os médicos devem estar atentos a um diagnóstico correto para evitar o uso indevido de soro antibotrópico, o que eventualmente pode causar efeitos colaterais graves.

Editor: Daniel Silva Fernandes

La Laina D.Z., Nekaris K.A.I., Nijman V., Morcatty T.Q. 2021. Illegal on-line pet trade in venomous snakes and the occurrence of snakebites in Brazil. *Toxicon* 193:48–54. doi: *10.1016/j.toxicon.2021.01.010*

O comércio de animais selvagens e particularmente aquele envolvendo animais de estimação, movimenta bilhões de dólares pelo mundo e vem crescendo substancialmente nos últimos 15 anos. A ampliação do acesso à internet potencializou esse mercado, sendo as redes sociais um veículo que proporciona um contato direto e rápido entre vendedores e compradores, diminui os custos com propaganda e garante certo anonimato, importante principalmente para o comércio de espécimes ilegais, incluindo serpentes peçonhentas. No Brasil, apesar do comércio e a posse de serpentes peçonhentas em cativeiro ser ilegal, há inúmeras evidências de que estas leis não são cumpridas.

No presente estudo os autores avaliaram o comércio *online* de serpentes peçonhentas no Brasil e seus potenciais riscos para a saúde humana. Foram levantados dados de serpentes peçonhentas exóticas e nativas apreendidas ou comercializadas *online* e a composição de espécies encontradas neste mercado foi comparada àquelas responsáveis por acidentes ofídicos no país. Os dados destes acidentes foram obtidos do Ministério da Saúde, através do SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) entre os anos de 2015 e 2019. Já informações sobre comércio *online*, apreensões oficiais ou abandono destes animais foram compiladas de 2015 a 2020 através das plataformas Google™, Youtube™ e Facebook™. Os resultados apontaram cerca de 115 mil acidentes ofídicos no período, resultando em 614 mortes. Os gêneros *Bothrops* e *Crotalus* foram responsáveis por 86 e 10% dos acidentes, respectivamente e houve registro de comércio ou manutenção em cativeiro de 241 espécimes pertencentes a 16 espécies de serpentes peçonhentas - nove delas exóticas - com preço médio em torno de US$ 70. Os gêneros mais comuns mantidos em cativeiro - sendo *C. durissus* a espécie mais registrada - são os mesmos responsáveis pela imensa maioria dos acidentes ofídicos. Além disso, foram registradas 60 apreensões oficiais de serpentes peçonhentas no país, incluindo quatro espécies exóticas, dentre elas representantes dos gêneros *Naja* e *Ophiophagus* que possuem veneno altamente tóxico.

Os dados levantados alertam para os perigos deste tipo de comércio ilegal, dentre eles o risco de acidentes (inclusive por espécies exóticas), o fato de várias destas espécies exóticas mantidas em cativeiro serem reconhecidas como espécies invasoras em outros países, além da falta de informações adequadas (tanto por parte dos vendedores quanto compradores), a respeito da biologia dos animais, o que pode ocasionar a fuga, abandono/soltura em áreas inadequadas ou mesmo a morte dos animais. Por fim, os autores recomendam penas mais rígidas para os envolvidos, além de campanhas esclarecendo as consequências de um acidente ofídico, sobretudo com espécies exóticas.

Editor: Daniel Silva Fernandes

Pinto-Coelho D., Martins M., Guimarães Jr. P.R. 2021. Network analyses reveal the role of large snakes in connecting feeding guilds in a species-rich Amazonian snake community. *Ecology and Evolution* 11:6558–6568. Doi: *10.1002/ece3.7508*

Interações entre consumidores e recursos geram redes de interações tróficas. Mas o que será que molda a estrutura dessas redes? Quais características das espécies estariam atreladas aos padrões que emergem a partir dessas redes? Para responder a estas perguntas, Daniela Pinto-Coelho e colaboradores analisaram uma comunidade de serpentes amazônicas, cuidadosamente descrita no clássico trabalho de M. Martins e E. Oliveira em 1998. Especificamente, os pesquisadores estavam interessados em saber se a presença de serpentes grandes estaria associada a um padrão de aninhamento da rede. O aninhamento nas redes nada mais é do que especialistas utilizando recursos que os generalistas também utilizam. Dado que grandes predadores consomem uma gama de recursos mais ampla do que os predadores menores, a presença de serpentes grandes favoreceria o aninhamento na rede da comunidade de serpentes amazônicas. Por outro lado, se a especialização na dieta estivesse dirigindo a estrutura dessa rede, os pesquisadores esperavam observar um padrão de modularidade. Modularidade é uma medida de densidade de interações que, neste caso, é caracterizada pela formação de grupos (módulos) de espécies que compartilham recursos alimentares. Os módulos alimentares são compostos por espécies que sobrepõem parcial ou totalmente em suas dietas. Espécies em um módulo podem até compartilhar recursos com espécies de outros módulos, porém as interações são mais intensas dentro de um mesmo módulo do que entre eles.

Como esperado, os pesquisadores encontraram que espécies de serpentes grandes contribuem para um padrão de aninhamento da rede. Indo além, os boídeos seriam os grandes responsáveis por esse aninhamento pois *Boa constrictor*, *Epicrates cenchria*, *Corallus hortulanus* e *Eunectes murinus* consomem uma ampla gama de recursos. No entanto, os pesquisadores também encontraram sinal para a presença de modularidade caracterizando a rede. Neste caso, no entanto, as responsáveis foram espécies com hábitos de vida mais particulares, como por exemplo algumas espécies arborícolas de *Dipsas*, que consomem exclusivamente moluscos, e espécies fossoriais, como as espécies de *Atractus*, especialistas em minhocas.

Trabalhos como este trazem implicações que vão bem além das serpentes e seus recursos. Detectar padrões não-aleatórios como os descritos significa detectar sinais deixados por processos ecológicos e evolutivos que moldam os sistemas ecológicos. Além disso, descrever os padrões caracterizando as redes de interação permite também inferir quão robustos a perturbações são esses sistemas ecológicos. Trabalhos como o de Pinto-Coelho et al. são também valiosas fontes para auxiliar em um planejamento mais efetivo da conservação da biodiversidade.

Editora: Laura Alencar

Prates I., D'Angiolella A.B., Rodrigues M.T., Melo-Sampaio P.R., de Queiroz K., Bell R.C. 2021. Evolutionary drivers of sexual signal variation in Amazon Slender Anoles. *Evolution* 75:1361-1376. DOI: https://doi.org/10.1111/evo.14230

Nesse artigo, pesquisadores do Brasil e dos EUA investigaram possíveis explicações para a variedade de cores que a espécie *Anolis fuscoauratus* apresenta nas suas barbelas (em inglês singular, "dewlap": "flap" de pele na região gular dos lagartos anoles). Testaram se essa variedade se deve às divergências evolutivas, aos fatores abióticos e/ou bióticos do habitat dos animais, ou se ela existe em função de competição de nicho reprodutivo com outros anoles das comunidades em que vivem.

Para isso, fizeram a pesquisa em quatro passos principais. Primeiro amostraram a diversidade da cor de barbelas de *A. fuscoauratus* e sua distribuição geográfica em 32 localidades da Amazônia e Mata Atlântica, utilizando inventários de campo acumulados por duas décadas. Em seguida testaram se as populações com barbelas de cores semelhantes são geneticamente relacionadas, sequenciando marcadores do tipo ddRAD ("double-digested RAD") para inferir árvores filogenéticas e estrutura populacional.

Em um terceiro passo, investigaram a correlação entre 17 variáveis ambientais e a distribuição das cores das barbelas, para entender se fatores climáticos, topográficos e vegetacionais poderiam explicar a variação geográfica. Por último, testaram se as cores das barbelas estão correlacionadas com a presença de outras espécies de anoles co-ocorrendo com *A. fuscoauratus*.

Encontraram grande variedade de cores entre as localidades, mas pouca ou nenhuma variação de cores dentro de uma única localidade. Uma mesma cor de barbela ocorre na Amazônia e na Mata Atlântica, por exemplo. Apesar disso, não encontraram correlação entre a diversidade genética e a distribuição desses fenótipos, o que, segundo os autores, indica possível perda ou ganho da característica diversas vezes na história evolutiva da espécie. Igualmente, as estimativas de ocupação espacial das variedades de barbelas também não se correlacionaram com as características bióticas e abióticas das localidades de ocorrência.

Entretanto, parece que a variação das cores das barbelas está relacionada com a presença de outras espécies de *Anolis*, de modo que barbelas claras (amarelas) de *A. fuscoauratus* ocorrem menos frequentemente se outras espécies simpátricas apresentam barbelas claras. E, da mesma forma, barbelas escuras (cinzas) ocorrem menos frequentemente se outras espécies simpátricas apresentam barbelas escuras. Esses resultados, portanto, sugerem que esse fenótipo analisado de *A. fuscoauratus* apresenta possivelmente um desacoplamento de caráter reprodutivo, o que merece ser melhor investigado.

Editora: A. Sabbag

Straube N., Lyra M.L., Paijmans J.L.A., Preick M., Basler N., Penner J., Rödel M.O., Westbury M.V., Haddad C.F.B., Barlow, A., Hofreiter M. 2021. Successful application of ancient DNA extraction and library construction protocols to museum wet collection specimens. *Molecular Ecology Resources: In Press*. DOI: https://doi.org/10.1111/1755-0998.13433.

Há vários anos que um dos maiores desafios das coleções zoológicas e da "herpetologia molecular" era como sequenciar DNA de exemplares que passaram pelo formol em seu processo de fixação. O formol, assim como a água e o próprio tempo de fixação, degradam facilmente o DNA de espécimes de coleções zoológicas mantidas em meio líquido. Por isso, esse tipo de coleção é uma das mais desafiadoras para extração e sequenciamento de DNA.

Esse estudo, feito por pesquisadores brasileiros da herpetologia e pesquisadores europeus, utilizou organismos de quatro grupos de vertebrados (Lissamphibia, Squamata, Euteleostei e Chondrichthyes) com o objetivo de testar combinações de protocolos para obter boas sequências de DNA a partir de amostras antigas e degradadas. Segundo os autores, duas coisas são importantes ao se tratar de problemas como esses: o cuidado com as primeiras etapas da extração, e os protocolos de bioinformática para tratamento dos dados obtidos.

Os estudos foram feitos a partir de 57 amostras de tecidos, de 33 espécimes de museu, incluindo três espécies de répteis e 12 espécies de anfíbios anuros. Inicialmente, tentaram melhorar os protocolos de digestão inicial de DNA, para maximizar as obtenções de DNA total, testando cinco métodos diferentes de digestão. Com o resultado desses testes, puderam inclusive testar estatisticamente, entre outras coisas, se havia correlação entre DNA total extraído e a quantidade de tecido ou a idade do espécime.

O DNA extraído foi incorporado em bibliotecas de simples fita. Esta é uma técnica que separa as fitas de DNA antes de serem ligadas a adaptadores, maximizando dessa forma a obtenção da informação. Em seguida, o DNA foi sequenciado em sequenciadores Illumina®. Os autores analisaram a fragmentação do DNA e a capacidade de recuperação dos dados através de bioinformática; e analisaram a composição do DNA (se possui muito DNA contaminante, por exemplo). Adicionalmente, avaliaram a performance das técnicas quantificando o DNA obtido de amostras da cobra-real (*Ophiophagus hannah*) com seu genoma referência já publicado. Essas etapas de bioinformática são importantes porque as sequências de DNA degradados obtidas são sempre muito curtas (nesse caso, por exemplo, tiveram em média 31 pb), e associá-las ao espécime utilizado torna-se difícil. Isso resulta em ambiguidades em mapeamentos, chance de sequenciar sequências contaminantes, etc.

No trabalho, os autores obtiveram, com sucesso, sequências de todos os espécimes analisados. Entre diversos outros resultados importantes, eles encontraram que não são necessárias altas concentrações de DNA para recuperar sequências de genoma endógeno (genoma do indivíduo alvo). Os autores ainda fornecem um extenso material suplementar para auxiliar pesquisadores a obterem amostras de DNA de espécimes mantidos em coleções úmidas. E mostram como esse trabalho pode ajudar na obtenção de informações genéticas de espécimes raros ou extintos da natureza.

Editora: A. Sabbag



Xenodon merremi
Villa de las rosas, Cordoba - Argentina
@Francisco Brito



Ranitomeya amazonica
Floresta Nacional de Caxiuanã - PA
@Ana Paula V. Costa-Rodrigues

Métodos em Herpetologia

A Morfometria Geométrica e suas aplicações nos estudos de Serpentes

Natália Malaquias Souto[1,2,4*], Roberta Azeredo Murta-Fonseca[2,3], Daniel Silva Fernandes[1,2]

1 Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-902 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
2 Departamento de Vertebrados, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista, 20940-040 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
3 Laboratório de Zoologia, Campus do Pantanal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79304-902 Corumbá, MS, Brasil.
*Corresponding author. E-mail: souto.nm@gmail.com
DOI: 10.5281/zenodo.5211377

RESUMO

Na biologia a descrição da forma dos organismos serve como base para diversos estudos. Durante muitos anos pesquisadores buscaram técnicas que permitissem quantificar estatisticamente a variação de forma de organismos e/ou estruturas até que na década de 1980 houve o surgimento da Morfometria Geométrica (MG), técnica que permite analisar a forma dos organismos ou de determinada estrutura considerando o espaço de forma geométrica e usando métodos estatísticos multivariados. As análises de MG são baseadas em conjuntos de marcos anatômicos que carregam informações de coordenadas cartesianas indicando seu posicionamento exato na estrutura analisada. O conceito de tamanho em MG é dado pelo tamanho do centroide, definido como a quantidade de dispersão dos marcos anatômicos em torno do centro de gravidade da configuração (centroide). Já a forma é definida como a propriedade geométrica de um objeto que permanece após a retirada dos efeitos de localização, escala e orientação, que pode ser realizada através da Análise Generalizada de Procrustes. Para

avaliar o uso da MG em estudos de serpentes foi realizada uma pesquisa bibliográfica na qual foram levantados 55 artigos que utilizam essa técnica no estudo do grupo. O tema mais abordado é a variação morfológica associada ao habitat (20% dos artigos), seguido por delimitação de espécies e variação morfológica associada à dieta (17% cada). A maior parte desses trabalhos utiliza a morfologia externa da cabeça como fonte de informação (51%), seguida pela osteologia craniana (30%). Existe uma variedade de análises estatísticas multivariadas utilizadas nos trabalhos dependendo do objetivo. Contudo, cada vez mais estudos que relacionam a morfologia a fatores bióticos e/ou abióticos buscam avaliar a relação desses caracteres em um contexto evolutivo através de métodos filogenéticos comparativos, o que configura uma técnica poderosa para identificar associações e inferir pressões seletivas que geraram a diversidade biológica. Com essa pesquisa foi possível observar um número crescente de estudos de serpentes utilizando MG e a partir dos resultados dos mesmos há a amplificação das possibilidades de novas abordagens, o que permitirá uma melhor compreensão da evolução, ecologia e morfologia das serpentes.

INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da biologia a descrição da morfologia dos organismos serve como base para estudos de classificação taxonômica e diversidade de espécies, elevando a importância da análise da forma em diversos estudos biológicos (Adams et al. 2013). No século XVI o pintor e geômetra Albrecht Dürer, em seu livro "*Vier Bücher von menschlicher Proportion*" (Quatro livros de proporções humanas, tradução livre) de 1528, apresentou as primeiras tentativas de caracterizar as diferentes formas das estruturas do corpo humano por meio de deformações dos desenhos sobre uma grade sobreposta na qual modificações do tamanho das linhas e quadrículas causavam transformações nas proporções das estruturas (Monteiro & Reis 1999; Mitteroecker & Gunz 2009; Reyment 2010). No final do século XIX o zoólogo D'Arcy W. Thompson em seus estudos que culminaram na publicação da obra "*On Growth and Form*" (Sobre o crescimento e a forma) (Thompson 1917), retornou aos conceitos de linhas e quadrículas de Albrecht Dürer, sendo esse estudo considerado um marco para a exploração da temática da morfometria (Bookstein 1991; Marcus et al. 1996; Cohen 2004; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012). O método de coordenadas proposto por Thompson baseava-se em mapear a localização de pontos homólogos entre as diferentes formas biológicas através da constru-

ção de grades de deformação, ilustrando como uma parte de um organismo pode ser descrita através da distorção desta mesma parte em outro organismo. Apesar da abordagem visualmente atraente, ainda não existia um arcabouço estatístico que permitisse estudar a variação da forma quantitativamente (Thompson 1917; Marcus et al. 1996; Monteiro & Reis 1999; Mitteroecker & Gunz 2009; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012).

Paralelamente, no final do século XIX, com base nos trabalhos de Francis Galton, Walter Weldon e Karl Pearson, deu-se início à formação de uma escola morfométrica (nomeada de Biométrica), com o intuito de estudar as variações da forma biológica através de correlações das distâncias medidas entre pontos localizados em estruturas biológicas (Reyment 1996, 2010). Essas correlações e os conceitos estatísticos utilizados por esses autores tornaram-se a base da análise multivariada desenvolvida no século seguinte (Reyment 1996; Monteiro & Reis 1999). No início do século XX houve uma transição de estudos puramente descritivos para abordagens com uma mudança de enfoque, que utilizavam a morfometria como uma ferramenta para o "estudo quantitativo da variação das formas biológicas" (Bookstein 1996; Monteiro & Reis 1999; Adams et al. 2013). Durante a década de 1930 desenvolveram-se análises estatísticas multivariadas que viriam a ser de suma importância para os avanços da morfometria (Fisher 1936; Teissier 1938), enquanto nas décadas de 1960 e 1970 a escola biométrica passou a utilizar tais ferramentas para descrever padrões de variação de forma dentro e entre grupos (Adams et al. 2004; Mitteroecker & Gunz 2009). Esse tipo de abordagem recebeu o nome de morfometria multivariada ou morfometria tradicional (MT) e consistia em aplicar análises estatísticas multivariadas a conjuntos de variáveis morfológicas (Jolicoeur 1959; Jolicoeur & Mosimann 1960; Blackith & Reyment 1971; Marcus 1990; Reyment 1991; Adams et al. 2004; Mitteroecker & Gunz 2009).

Na MT são utilizadas principalmente variáveis lineares - como medidas de distâncias - e, em alguns casos, informações de ângulos e proporções (Rohlf 1990; Adams et al. 2004; Galán 2015). Considerando que medições lineares de distância geralmente estão relacionadas ao tamanho do elemento em estudo (Bookstein et al. 1985; Adams et al. 2004), houve um esforço dos pesquisadores para desenvolver métodos capazes de extrair variáveis de forma sem a influência deste fator (Jolicoeur 1959, 1963; Jolicoeur & Mosimann 1960; Mosimann 1970; Oxnard 1978; Humphries et al. 1981; Rohlf & Bookstein 1987; Bookstein 1989; Sundberg 1989; Jungers et al. 1995). Muitos métodos foram propostos com este obje-

tivo, porém com pouca concordância sobre qual seria o mais adequado, fato este relevante porque métodos distintos geralmente produzem resultados ligeiramente diferentes (Sundberg 1989; Adams et al. 2004). Outra característica da morfometria tradicional é que o mesmo conjunto de medidas de distância pode ser obtido em objetos com formas diferentes, como por exemplo, as medidas do comprimento e largura máximos de uma forma oval e de uma lágrima, onde ambos os objetos podem ter os mesmos valores de altura e largura máxima, ainda que possuam formas visivelmente diferentes (Adams et al. 2004). Além disso, em alguns casos a medida pode não representar características comparáveis nos diferentes organismos (Fig. 1) (Zelditch et al. 2004; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012).

Paralelamente ao incremento da escola biométrica houve o desenvolvimento de uma escola geométrica. De maneira contrária ao que ocorria na morfometria tradicional, na escola geométrica foram desenvolvidos métodos capazes de extrair informações relacionadas à geometria dos organismos, ainda que estes não permitissem o estudo estatístico da variação de forma (Monteiro & Reis 1999). Durante a década de 1980 essa limitação foi superada simultaneamente em diversos centros de pesquisa. Goodall (1983), Kendall (1984) e Bookstein (1984, 1989) propuseram um arcabouço estatístico para a análise de forma em um espaço multivariado e descreveram as propriedades de um espaço de forma que tornou possível combinar métodos estatísticos multivariados e métodos para visualização direta da forma biológica (Monteiro & Reis 1999; Adams et al. 2004; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012). Bookstein (1984) propôs um método geométrico para estudar diferenças de forma através da descrição de um espaço multivariado para análises morfométricas com configurações de marcos anatômicos representadas por valores de coordenadas cartesianas (Marcus et al. 1996; Monteiro & Reis 1999; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012). Bookstein (1986) sintetizou as técnicas desenvolvidas por Goodall (1983) e Kendall (1984) junto a suas próprias contribuições mostrando a convergência das ideias sobre o espaço de forma (Monteiro & Reis 1999; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012). Bookstein (1989) propôs o método "*thin plate spline*" para análises de deformações por meio da criação de um espaço de transformações geométricas baseado nas diferenças nas posições dos marcos anatômicos em um organismo em relação a uma configuração de marcos anatômicos de referência, o que permitiu a construção de grades de transformações semelhantes àquelas de Dürer e Thompson. Todas essas contribuições geraram a chamada "revolução na morfometria", que corresponde ao surgimento da Morfometria Geométrica (MG), definida como "Fusão empírica da geometria com a biologia" e que

analisa a forma dos organismos ou de determinada estrutura considerando o espaço geométrico e usando métodos estatísticos multivariados (Bookstein 1982; Rohlf & Marcus 1993; Monteiro & Reis 1999; Adams et al. 2004; Mitteroecker & Gunz 2009; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012; Adams et al. 2013; Galán 2015).

Apesar da revolução que ocorreu no final da década de 1980, a MG ainda não era um método acessível para a maior parte dos pesquisadores (Monteiro & Reis 1999). No final da década de 1980 e início da década de 1990 houve a realização de *workshops* que resultaram na publicação dos volumes conhecidos como "livro azul" (*Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop*), "livro preto" (*Contributions to Morphometrics*) e "livro branco" (*Advances in Morphometrics*) (Rohlf & Bookstein 1990; Marcus et al. 1993, 1996). A década de 1990 representou um grande avanço para o conhecimento e utilização prática das técnicas da MG (Marcus et al. 1996; Monteiro & Reis 1999; Adams et al. 2004; Galán 2015; Mcnulty & Vinyard 2015), sendo que atualmente existem programas gratuitos, como o TPSRelw (Rohlf 2003), MorphoJ (Klingemberg 2011), GeoMorph (pacote para o programa R desenvolvido por Adams et al. 2014), entre outros que auxiliam nas análises de MG.

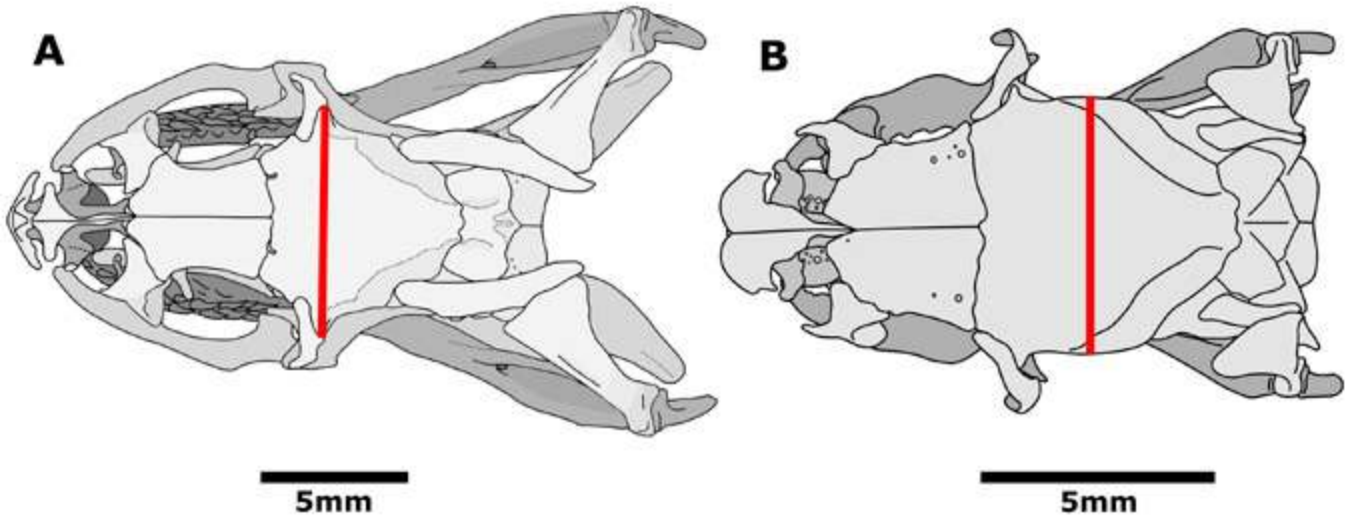


Figura 1. Exemplo de distintas medidas de largura da caixa craniana em Serpentes. A: Largura do crânio obtida através das extremidades do processo pós-orbital de *Thamnodynastes chaquensis* (MNRJ 21003). B: Largura do crânio tomada no local de maior largura de *Sibon nebulatus* (MNRJ 18031).

METODOLOGIA DA MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

Marcos Anatômicos

Como discutido anteriormente, o conjunto de medidas lineares da morfometria tradicional pode não representar características comparáveis nos diferentes organismos (Fig. 1A, B) (Zelditch et al. 2004). Uma proposta de solução para essa questão foi a definição de pontos cuja localização anatômica fosse correspondente em todos os organismos da análise e, desta forma, as medidas lineares pudessem ser tomadas entre tais pontos, agora chamados de marcos anatômicos (*landmarks* em inglês) (Strauss & Bookstein 1982; Bookstein et al. 1985; Zelditch et al. 2004).

A MG incorporou este conceito de marcos anatômicos, que passaram a carregar informações de coordenadas cartesianas indicando seu posicionamento em determinada estrutura (Bookstein 1984). Os critérios para a escolha dos marcos anatômicos representam um passo delicado e muito importante nos estudos de MG, portanto essa etapa requer a experiência de um especialista na morfologia da estrutura e/ou dos táxons analisados (Bookstein 1991; Monteiro & Reis 1999). Os marcos anatômicos devem: (1) ser anatomicamente homólogos segundo um critério operacional, ou seja, devem apresentar correspondência biológica de suas posições entre os diferentes objetos; (2) ser precisamente localizados e fornecer informações comparáveis e replicáveis em todos os espécimes; (3) representar a forma da estrutura de maneira adequada; e (4) estar situados em um mesmo plano anatômico, quando se trata de análises em duas dimensões (2D) (Bookstein 1991; Monteiro & Reis 1999; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012).

Bookstein (1991) classificou os marcos anatômicos em três tipos (Fig. 2): Tipo I – justaposição de tecidos (e.g. pontos onde três estruturas se encontram); Tipo II – pontos de máxima curvatura ou outros processos morfogenéticos locais (e.g. extremidades de processos e vales de invaginações); Tipo III – pontos extremos (e.g. relacionados à maior distância que pode ser medida em uma estrutura). Em alguns casos as estruturas biológicas podem ser superfícies planas ou lisas, sendo difícil estabelecer marcos anatômicos dos tipos supracitados, ou esses marcos não são capazes de capturar a forma a ser analisada. Nesses casos, podem ser utilizados pontos cuja localização é escolhida baseada em outros critérios, como por exemplo distribuídos uniformemente ao longo do contorno e/ou superfície, que são conhecidos como pseudo-marcos anatômicos ou *semilandmarks* (Bookstein 1991; Galán 2015; Dryden & Mardia 2016) (Fig. 3). Estes pontos podem ser fixos ou móveis ao longo de linhas tangentes à curva de contorno da estrutura (Green 1996; Bookstein 1997).

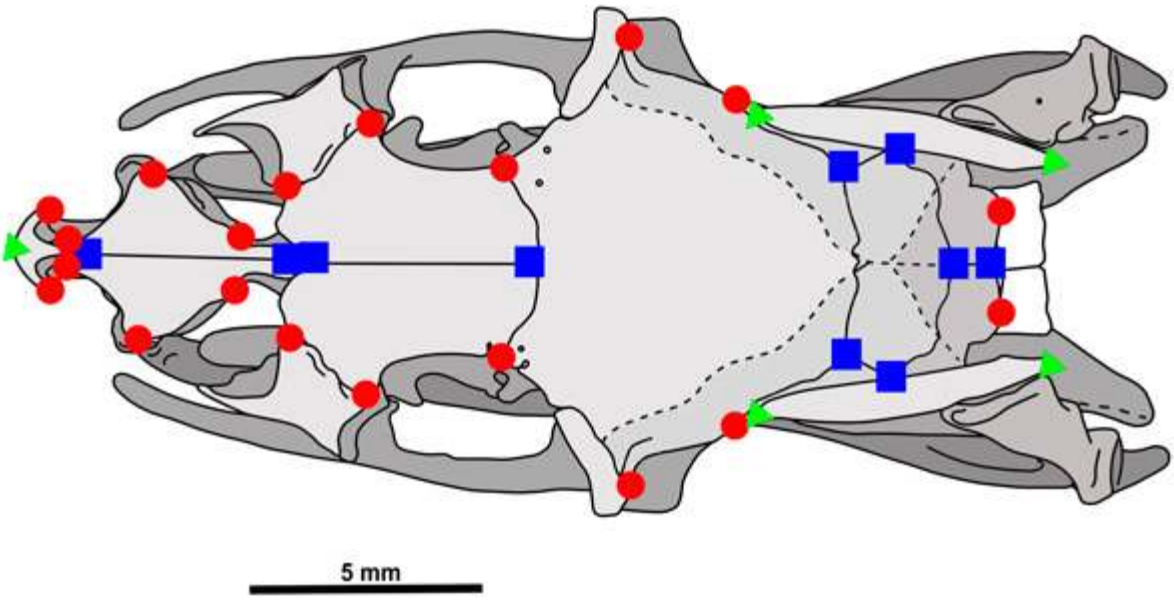


Figura 2. Classificação dos marcos anatômicos. Quadrados Azuis: Tipo I – Justaposição de tecidos; Círculos Vermelhos: Tipo II – pontos de máxima curvatura ou outros processos morfogenéticos locais; Triângulos Verdes: Tipo III – pontos extremos (sensu Bookstein, 1991).

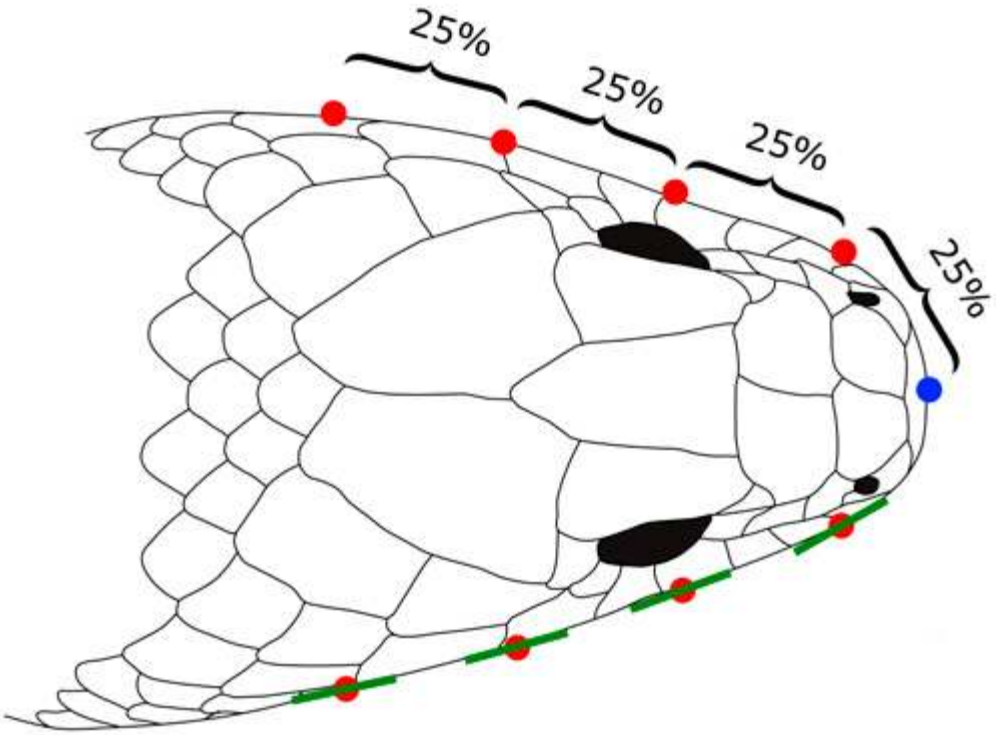


Figura 3. Exemplo de marcação de *semilandmarks* ou pseudo-marcos anatômicos. No caso de *semilandmarks* móveis, no processo de superposição estes pontos podem se mover ao longo de linhas tangentes à curva de contorno da estrutura (linhas verdes).

Forma e tamanho em MG

Não são apenas os métodos para separar variação de tamanho e de forma que apresentam limitações, mas o conceito de tamanho e forma tem sido um dos assuntos mais controversos da MT (Zelditch et al. 2004), até porque há uma variedade de definições de tamanho encontradas na literatura (Bookstein 1989). No entanto, para o desenvolvimento da MG é importante que se explore a relação entre forma e tamanho, pois não é possível haver uma abordagem matemática coerente oriunda de um conceito indefinido (Zelditch et al. 2004; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012).

Cabe ressaltar que forma (*shape* em inglês) e formato (*form*) possuem significados diferentes no contexto da MG, sendo formato definido como a soma da forma e do tamanho (Monteiro & Reis 1999; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012; Galán 2015).

Tamanho em MG

Em MG o tamanho de um objeto é dado pelo tamanho do centroide. O centroide é definido como a coordenada do centro gravitacional da forma, que corresponde à média das coordenadas de todos os marcos anatômicos de um objeto (Klingenberg 2016). Seu valor é calculado a partir da distância entre cada marco anatômico e o centroide (Zelditch et al. 2004) e, em seguida, calcula-se a raiz quadrada da soma dos quadrados dessas distâncias (Bookstein 1991; Zelditch et al. 2004; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012; Kingenberg 2016). O tamanho do centroide possui propriedades estatísticas desejáveis para a MG, como a independência conceitual ou teórica em relação às variáveis de forma (Zelditch et al. 2004). Empiricamente, entretanto, o tamanho do centroide pode estar correlacionado à forma porque os organismos maiores geralmente têm formas diferentes dos organismos menores, como quando há presença de alometria (Zelditch et al. 2004; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012) – lembrando que correlação e dependência entre variáveis são conceitos distintos. O fato de existir a independência entre essas duas variáveis não significa a perda de informação sobre a relação entre elas, o que é facilmente avaliado através de análises de Regressões multivariadas que buscam verificar a existência de relação entre variáveis dependentes (e.g. coordenadas de Procrustes – veja abaixo) e uma ou mais variáveis independentes (e.g. tamanho do centroide) (Zelditch et al. 2004).

Forma em MG e Superposição de Procrustes

Em estudos de MG a forma pode ser definida como a propriedade geométrica de um objeto que permanece após a retirada dos efeitos de localização, escala e orientação (através dos proces-

sos de translação, escalonamento e rotação, respectivamente) (Kendall 1977; Bookstein 1996; Zelditch et al. 2004; Galán 2015). Isso significa que para que seja possível comparar as formas de organismos ou estruturas utilizando a MG, é necessário que estes efeitos sejam retirados dos objetos através de um processo chamado "superposição".

Existem vários métodos de superposição, sendo o mais difundido atualmente o método de superposição parcial de Procrustes (Rohlf & Slice 1990; Slice 2001). Para exemplificar uma análise comum deste método com duas configurações de marcos anatômicos usaremos o crânio da serpente *Liophis miliaris* (Linnaeus, 1758) (Fig. 4). Primeiro as duas configurações em estudo possuem localização, tamanho e orientação diferentes (Fig. 4A). A variação na localização é removida através da translação, ou seja, o deslocamento das configurações de marcos com a sobreposição dos seus centros de gravidade. Isso é obtido através da centralização das coordenadas cartesianas dos centroides das duas configurações na origem dos eixos de variação (0,0) (Fig. 4B). Entretanto, as configurações centralizadas ainda diferem em escala (diferenças de tamanho), sendo este efeito retirado através da divisão de cada coordenada das configurações pelo tamanho do respectivo centroide, o que leva à homogeneização do tamanho do centroide das configurações centralizadas para o valor igual a 1,0 (escalonamento) (Fig. 4C). Por fim, os objetos ainda diferem na orientação e são rotacionados (processo de rotação) através do método dos quadrados mínimos para se alinharem de maneira que a soma dos quadrados das distâncias entre os marcos correspondentes seja a menor possível (Fig. 4D). Após a execução destas três etapas, as diferenças restantes entre os marcos anatômicos das duas configurações correspondem a diferenças de forma. Ao final desse processo são obtidas as coordenadas dos marcos anatômicos (agora chamadas coordenadas de Procrustes), que serão utilizadas para o cálculo das distâncias de Procrustes. A distância de Procrustes é a principal medida de diferença de forma entre configurações de marcos anatômicos, correspondendo à raiz quadrada da soma dos quadrados das distâncias entre marcos correspondentes após a superposição de Procrustes (Klingenberg 2020).

Em estudos biológicos normalmente são utilizadas mais de duas configurações de marcos anatômicos, sendo necessário realizar o ajuste simultâneo de todas as configurações através da Análise Generalizada de Procrustes (Rohlf & Slice 1990). Assim como na análise comum de superposição, também é utilizado o ajuste por quadrados mínimos, porém de forma iterativa. Em um primeiro momento todas as configurações são ajustadas a uma configuração alvo escolhida aleatoriamente (normal-

mente a configuração do primeiro organismo da amostra). Posteriormente, é gerada uma configuração média e, na próxima iteração, todas as configurações serão ajustadas a essa configuração média. Em seguida, uma nova configuração média é calculada e o procedimento é repetido até que a configuração média gerada não mude mais (Rohlf & Slice 1990; Bookstein 1991; Rohlf 1990; Galán 2015; Klingenberg 2020).

Existem duas maneiras equivalentes de apresentar as informações de forma: as já citadas coordenadas de Procrustes e os resíduos de Procrustes, estes correspondendo aos desvios das coordenadas de Procrustes em relação às coordenadas dos marcos anatômicos correspondentes da configuração média (Klingenberg & McIntyre 1998; Zelditch et al. 2004). Algumas maneiras de facilitar a visualização das variações de forma entre configurações são através dos vetores de deslocamento relativo dos marcos anatômicos (Fig. 5C) (Fornel & Cordeiro-Estrela 2012); das grades de deformação (Zelditch et al. 2004) (Fig. 5D); das linhas de contorno (wireframes e outlines, Fig. 5E e F, respectivamente) (Klingenberg 2013); e, para superfícies em três dimensões, as próprias superfícies escaneadas de-

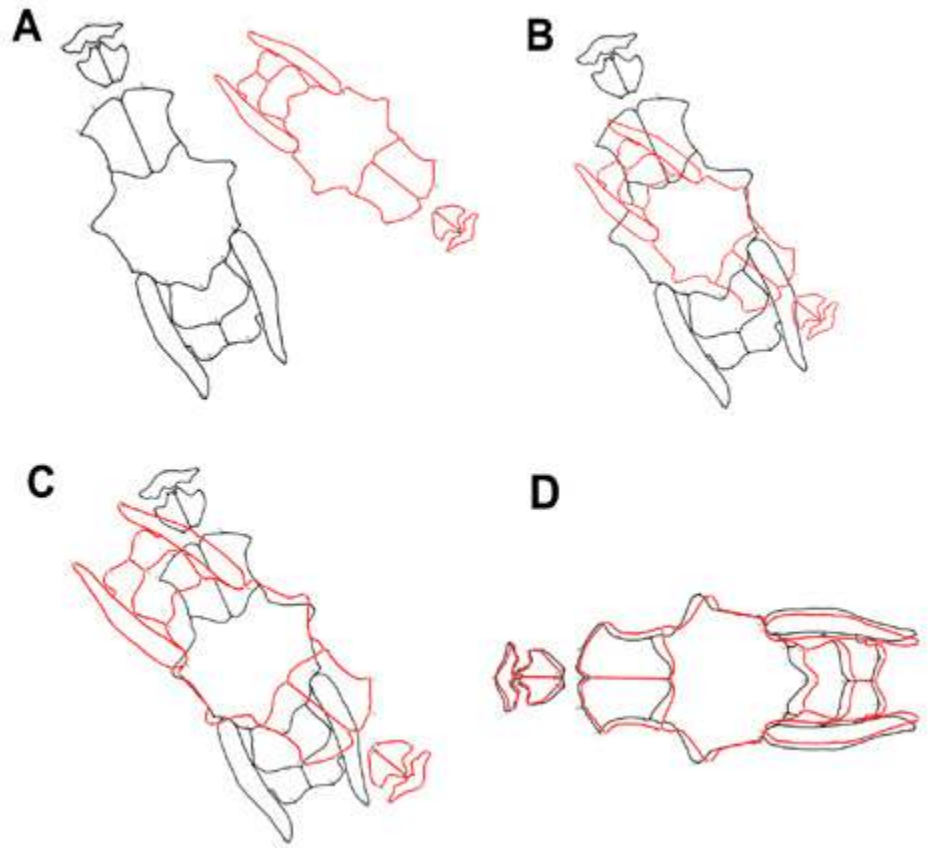


Figura 4. Removendo os efeitos de diferenças na localização, escala e orientação em análises de MG. A: Configurações originais. B: Após o processo de translação. C: Após o processo de escalonamento. D: Após o processo de rotação, permanecem apenas as diferenças de forma.

formadas (Drake & Klingenberg 2010). Linhas de contorno (*outlines*) e superfícies deformadas são criadas baseadas nas grades de deformação da estrutura (Klingenberg 2013). A partir da superposição de Procrustes uma série de análises estatísticas multivariadas podem ser empregadas dependendo da natureza do estudo.

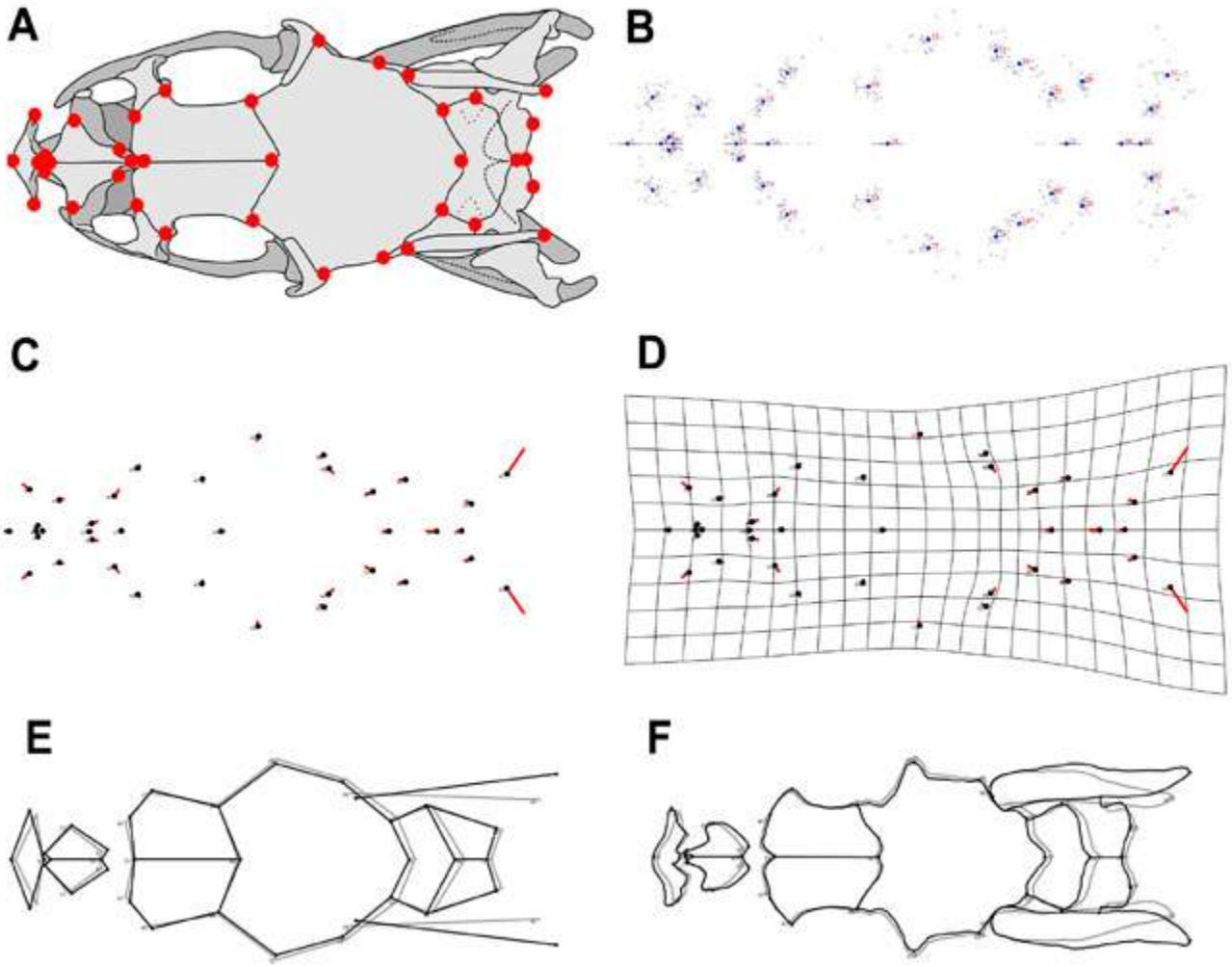


Figura 5. Diferentes formas de visualização da variação da forma em crânios de serpentes. A: Posição dos marcos anatômicos; B: Posição dos marcos anatômicos em todos os espécimes da análise após superposição de Procrustes – pontos azuis maiores representam localização média de cada marco anatômico e pontos pretos menores representam localização dos marcos anatômicos em cada espécime; C: Vetores de deslocamento relativo dos marcos anatômicos após a Análise de Componentes Principais (PCA) – pontos pretos representam a posição média de cada marco anatômico e vetores vermelhos representam o deslocamento daquele marco anatômico em relação à média em determinada escala do PC representado; D: Os mesmos vetores sobre grade de deformação; E: Linhas de contorno – *Wireframe* – Linhas cinzas representam a média de todos os indivíduos e linha preta a forma em determinada escala do PC representado; F: Linhas de contorno – *Outline* – Linhas cinzas representam média e pretas forma em determinada escala do PC.

MORFOMETRIA GEOMÉTRICA E SERPENTES

As serpentes atuais possuem um corpo peculiar, em forma de tubo com uma cabeça, cauda e ausência de membros locomotores (Lillywhite 2014). Os estudos envolvendo a morfologia desse grupo tradicionalmente são baseados em descrições de caracteres externos, como folidose (contagem e formato de escamas), caracteres morfométricos e de padrão de coloração, além de caracteres internos referentes à osteologia (crânio e vértebras), morfologia de hemipênis, musculatura e glândulas (Thorpe 1975; Zaher 1999; Passos & Fernandes 2008; Fernandes et al. 2010; Murta-Fonseca & Fernandes 2016; Souto et al. 2017). Nos últimos anos é possível observar um número crescente de estudos de serpentes utilizando MG como ferramenta. O método da MG vem sendo usado em diferentes abordagens: relacionando morfologia e hábitos (Fabre et al. 2016; Klaczko et al. 2016), dimorfismo sexual (Meik et al. 2012; Loebens et al. 2019; Murta-Fonseca et al. 2019), ontogenia (Murta-Fonseca & Fernandes 2016), delimitação de espécies (Andjelkovic et al. 2016), entre outros.

Através de pesquisa bibliográfica foram levantados 55 artigos na literatura que utilizam as técnicas da MG no estudo de Serpentes. O levantamento foi realizado utilizando palavras-chave (e.g. "*Geometric Morphometrics;*" "Snakes Geometric Morphometrics") pelo buscador *Google Scholar*, além das referências contidas nos próprios artigos levantados, e compreende o período entre a década de 1980 até o momento atual. Foi constatado que o início das publicações se deu nos primeiros anos de 2000, sendo que há um aumento no número de estudos na segunda década (Fig. 6).

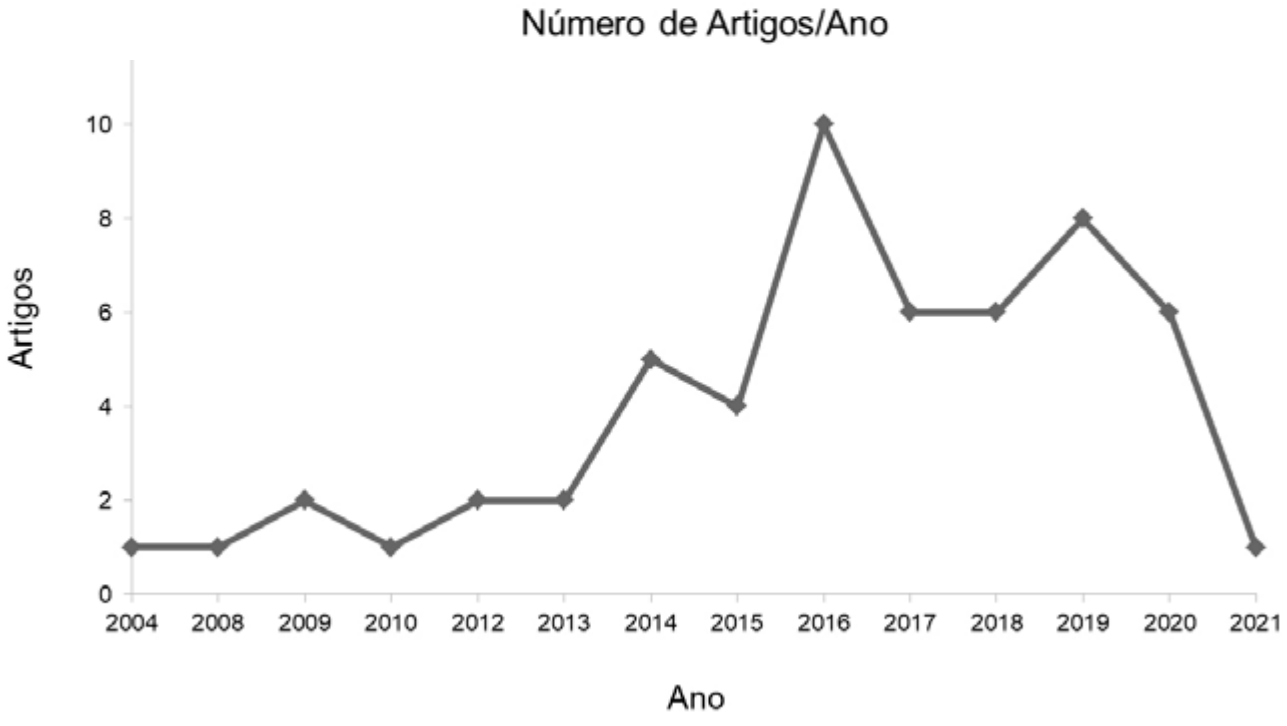


Figura 6. Número de artigos publicados utilizando MG em estudos de Serpentes por ano.

Existe uma diversidade de temas que podem ser abordados utilizando a MG como ferramenta de estudo (Fig. 7A). O Apêndice I contém uma tabela com os principais temas abordados por cada artigo. A área mais abordada usando a MG e serpentes é a variação morfológica associada ao habitat (presente em 20% dos artigos) (Manier 2004; Head et al. 2009; Yi & Norell 2015; Esquerré & Keogh 2016; Fabre et al. 2016; Segall et al. 2016; Allemand et al. 2017; Palci et al. 2017, 2018; Moshtaghie et al. 2018; Da Silva et al. 2018; Silva et al. 2017; Segall et al. 2019, Esquerré et al. 2020; Segall et al. 2020); seguida por delimitação de espécies e variação morfológica associada à dieta (17% cada) (*Delimitação de espécies* - Manier 2004; Gentilli et al. 2009; Moreno-Barajas et al. 2013; Magiacotti et al. 2014; Showalter et al. 2014; Mezzasalma et al. 2015; Ruane 2015; Barbo et al. 2016; Davis et al. 2016; Pokrant et al. 2016; Akman & Goçomem 2019; Belgheiszadeh et al. 2019; Keates et al. 2019. *Dieta* - Meik et al. 2012; Smith 2014; Andjelkovic et al. 2016, 2017; Fabre et al. 2016; Klaczko et al. 2016; Santos et al. 2017; Silva et al. 2018; Sherratt et al. 2019; Rajabizadeh et al. 2020; Rhoda et al. 2020; Segall et al. 2020; Cleuren et al. 2021); dimorfismo sexual (15%) (Manier 2004; Smith & Collyer 2008; Meik et al. 2012; Henao-Duque & Ceballos 2013; Andjelkovic et al. 2016; Silva et al. 2017; Tamaginini et al. 2018; Loebens et al. 2019; Murta-Fonseca et al. 2019; Abegg et al. 2020; Lucchini et al. 2020); ontogenia (8%) (Murta-Fonseca & Fernandes 2016; Palci et al. 2016; Silva et al. 2017; Esquerré et al. 2017; Abegg et al. 2020; Lucchini et al. 2020); variação morfológica intraespecífica, estudos metodológicos com Serpentes como modelo e alometria estática (5% cada) (*Variação Intraespecífica* - Smith & Collyer 2008; Sarris et al. 2012; Showalter et al. 2014; Lucchini et al. 2020. *Metodologia* – Lawing & Polly 2010; Baum et al. 2014; Palci & Lee 2018; Souto et al. 2019. *Alometria estática* - Sarris et al. 2012; Andjelkovic et al. 2016; Tamagnini et al. 2018; Abegg et al. 2020); estudos sobre a origem ecológica (4%) (Yi & Norell 2015; Palci et al. 2017; Da Silva et al. 2018); evolução da forma do corpo (3%) (Head et al. 2009; Head & Polly 2015); e estudo com espécies que mimetizam serpentes (1%) (Hossie & Sherratt 2014).

A maior parte desses estudos utiliza a morfologia externa da cabeça como fonte de informação (51%), seguida pela osteologia craniana (30%); vértebras (9%); orelha interna (5%); forma do dente (3%) e um dos estudos utilizou a forma da genitália feminina (2%) (Fig. 7B e Apêndice I). O grande número de estudos utilizando a morfologia externa da cabeça pode estar associado a uma maior facilidade de obtenção de material nas coleções, visto que as técnicas mais utilizadas para acessar a morfologia interna realizam procedimentos mais destrutivos. Por esses motivos, os curadores de coleções zoológicas podem ser restritivos quanto ao uso de tais técnicas, especialmente no caso de material-tipo ou táxons raros (Bell & Mead 2014; Souto et al. 2019). Nesses casos, o uso do micro-CT scan pode

ser a melhor alternativa, pois é uma técnica não destrutiva e relativamente rápida (Machado et al. 2015), além de permitir a visualização de estruturas internas. No entanto, o micro-CT ainda é caro na maioria dos países e, ocasionalmente, a visualização de suturas e a delimitação dos ossos podem ser afetadas devido à resolução inadequada do scanner ou ao tamanho da estrutura (Souto et al. 2019).

Muitos dos estudos que utilizaram a morfologia externa da cabeça como fonte de informação consideraram, além do contorno, as regiões entre as escamas como referência para a digitalização dos marcos anatômicos (Manier 2004; Smith & Collyer 2008; Henao-Duque & Ceballos 2012; Meik et al. 2012; Moreno-Barajas 2013; Magiacotti et al. 2014; Mezzasalma et al. 2015; Ruane 2015; Barbo et al. 2016; Davis et al. 2016; Silva et al. 2017; Moshtaghie et al. 2018; Tamagnini et al. 2018; Akman & Göçmen 2019; Keates et al. 2019; Loebens et al. 2019; Abegg et al. 2020). Isso pode estar associado a uma maior facilidade para a identificação de pontos correspondentes, principalmente dos tipos I e II (Bookstein 1991). A osteologia do crânio aparece em segundo lugar nas estruturas mais estudadas, provavelmente devido à menor disponibilidade de material discutida anteriormente. Entretanto, essa é uma rica fonte de caracteres para estudos de MG, permitindo a digitalização de marcos anatômicos dos tipos I, II e III (Fig. 2) e consequentemente aumentando o grau de precisão das análises, já que esses tipos de pontos são capazes de capturar uma maior quantidade de informação de forma da estrutura de estudo (Bookstein 1991; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012).

Dentre as análises exploratórias mais utilizadas nestes estudos estão a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise de Variáveis Canônicas (CVA) (e.g. Manier 2004; Gentilli et al. 2009; Lawing & Polly 2009; Sarris et al. 2012; Moreno-Barajas et al. 2013; Hossie & Sherratt 2014; Mezzasalma et al. 2015; Ruane 2015; Yi & Norell 2015; Andjelkovic et al. 2016; Barbo et al. 2016; Fabre et al. 2016; Klaczko et al. 2016; Silva et al. 2017; Esquerré et al. 2017; Palci et al. 2017; Da Silva et al. 2018; Silva et al. 2018; Tamagnini et al. 2018; Akman & Göçmen 2019; Belgheiszadeh et al. 2019; Keates et al. 2019; Murta-Fonseca et al. 2019; Abegg et al. 2020; Lucchini et al. 2020; Rajabizadeh et al. 2020; Cleuren et al. 2021). A PCA na MG é utilizada para sumarizar as descrições de variação entre indivíduos a partir de uma série de variáveis representadas pelas coordenadas ou resíduos de Procrustes, enquanto a CVA é usada para sumarizar descrições de diferenças entre grupos pré-estabelecidos. Além disso, a PCA e a CVA geram gráficos onde cada configuração de marcos anatômicos da amostra será representada por um ponto, o que facilita a determinação de possíveis padrões de ordenação nos dados (Montei-

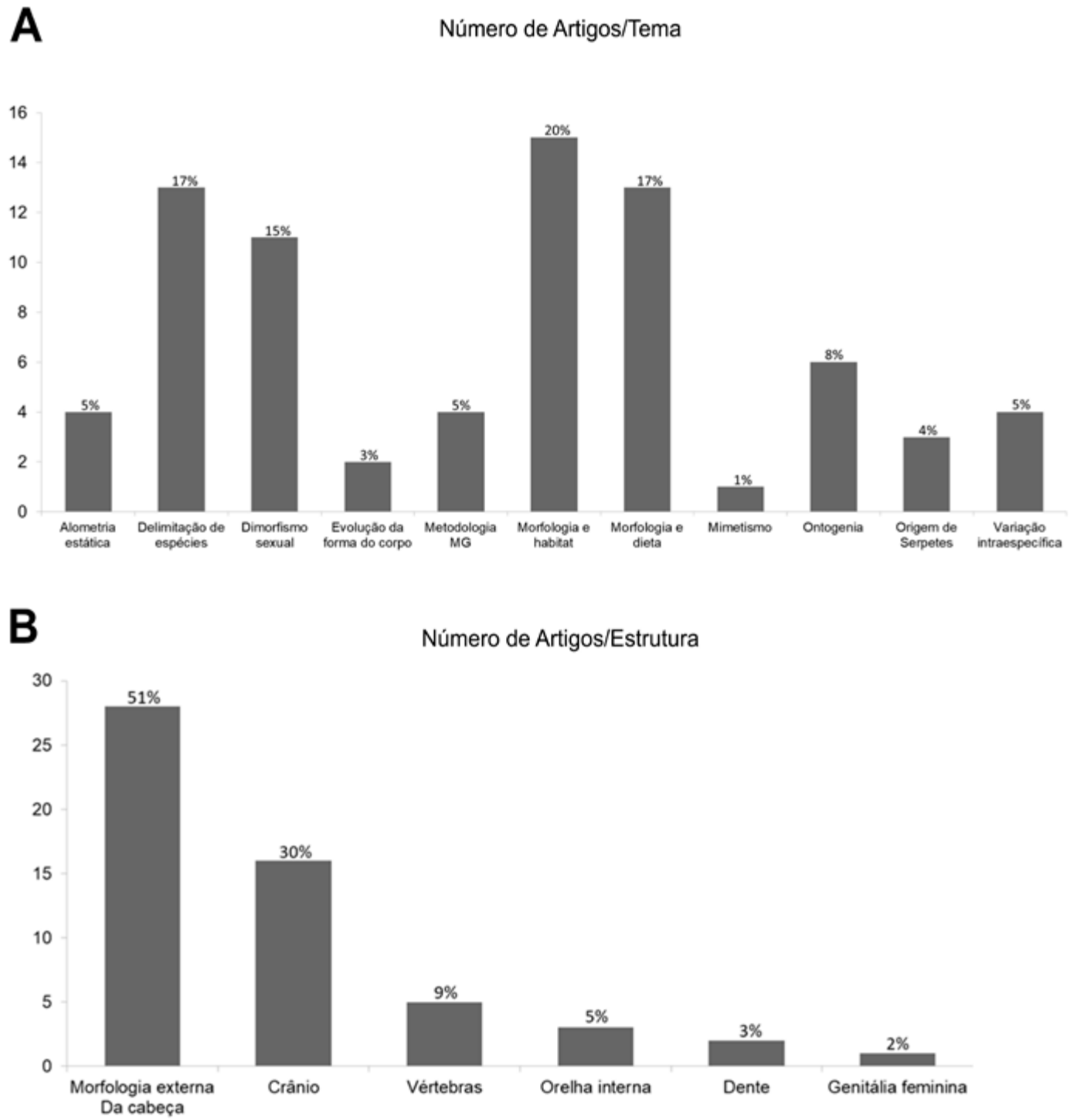


Figura 7. Temas e estruturas abordados em estudos de Serpentes utilizando MG. A: Temas abordados. B: Estruturas utilizadas.

ro & Reis 1999; Zelditch et al. 2004; Fornel & Cordeiro-Estrela 2012). A robustez da CVA, assim como das análises discriminantes, pode ser verificada através de testes de permutação e validação cruzada, respectivamente (Monteiro & Reis, 1999; Zelditch et al. 2004). Muitos trabalhos testaram as diferenças entre grupos através de Análises de Variância de Procrustes (ANOVA de Procrustes) ou Análise de Variância Multivariada (MANOVA) (e.g. Mangiacotti et al. 2014; Showalter et al. 2014; Yi & Norell 2015; Andjelkovic et al. 2016; Davis et al. 2016; Segall et al. 2016; Tamagnini et al. 2018, Cleuren et al. 2021). Outra possível abordagem utilizando análises de variância hierárquica nos trabalhos de MG é a avaliação de erros na tomada de fotografias e na digitalização dos marcos anatômicos (Klingenberg & McIntyre 1998; Klingenberg et al. 2002; Klingenberg 2015; Murta-Fonseca & Fernandes 2016; Andjelkovic et al. 2017; Moshtaghie et al. 2018; Murta-Fonseca et al. 2019; Souto et al. 2019). Para isso podem ser comparadas duas fotografias diferentes do mesmo indivíduo e duas digitalizações distintas de marcos anatômicos da mesma fotografia. Para que os resultados obtidos em análises posteriores não sejam enviesados, as diferenças entre as fotografias do mesmo indivíduo e os marcos anatômicos da mesma fotografia devem ser menores do que as diferenças entre os indivíduos (Souto et al. 2019).

Outro tipo de análise muito utilizada, principalmente em trabalhos de ontogenia e alometria, são as análises de Regressão multivariada (Sarris et al. 2012; Andjelkovic et al. 2016; Murta-Fonseca & Fernandes 2016; Silva et al. 2017; Esquerré et al. 2017; Abegg et al. 2020; Lucchini et al. 2020; Cleuren et al. 2021). Essas análises buscam verificar se existe relação entre variáveis dependentes e uma variável independente. Neste caso as variáveis dependentes representam a forma e são relativas aos escores da regressão, refletindo uma direção ou vetor das coordenadas de Procrustes que está relacionado ao tamanho do centróide (ou log do tamanho do centróide). A variável independente é o tamanho, representado justamente pelo tamanho do centróide ou log do tamanho do centróide (Klingenberg 2016; Murta-Fonseca & Fernandes 2016).

Finalmente, os resultados de estudos de MG também servem para avaliar a correlação de caracteres em um contexto evolutivo. Esse tipo de abordagem pode ser usado, por exemplo, em estudos que relacionam a morfologia a hábitos (e.g. uso do habitat) e/ou dieta (Klaczko et al. 2016; Esquerré et al. 2017; Da Silva et al. 2018; Sherrat et al. 2019; Segall et al. 2020; Cleuren et al. 2021). Em biologia, estudos que comparam características morfológicas e ambientais, aliados a hipóteses de relacionamento filogenético avaliados através de métodos filogenéticos comparativos, configuram uma técnica poderosa para identificar associações e inferir pressões seletivas que geraram a diversidade biológica (Pizzato et al. 2007). Desta forma, estudar complexos morfológicos em grupos monofiléticos de serpentes permite que as relações entre

morfologia e hábitos sejam avaliadas sob um contexto evolutivo (Martins et al. 2001; Pizzatto et al. 2007).

PERSPECTIVAS FUTURAS

Como pode ser notado, o número de estudos de serpentes utilizando MG vem aumentando ao longo dos últimos anos e a partir dos resultados oferecidos pelos mesmos é possível observar uma amplificação das possibilidades de novas abordagens. Os avanços tecnológicos e de conhecimento estão viabilizando o desenvolvimento de novos programas computacionais e a elaboração de análises que nos permitem fazer perguntas cada vez mais complexas e levar em conta um número cada vez maior de variáveis. Com tantas perspectivas, podemos dizer que há espaço para diversos pesquisadores explorarem as diferentes vertentes proporcionadas pela MG de maneira colaborativa e a soma de todos esses estudos permitirá uma melhor compreensão da evolução, ecologia e morfologia das serpentes. Como primeiro passo para delimitação de um estudo de MG com serpentes, pode-se considerar grupos e complexos morfológicos ainda pouco explorados. Em relação aos grupos, algumas famílias de serpentes foram muito mais estudadas que outras e quando pensamos em táxons menos inclusivos - como tribos, gêneros e espécies – a carência de estudos e as possibilidades de abordagens utilizando MG aumentam consideravelmente. Em relação aos complexos morfológicos, podemos observar que ainda há uma grande carência de estudos que abordem a morfologia pós-craniana e a morfologia interna de maneira geral. Em suma, cada estudo nos traz uma peça de um quebra-cabeça que ainda está longe de ser totalmente montado e, mesmo que um trabalho tenha um escopo bastante específico, na visão geral ele pode trazer justamente a peça que faltava para nos permitir avançar cada vez mais na compreensão deste grande e complexo grupo de animais.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a P. Passos e P. C. Paiva pelo apoio nas primeiras revisões. Ao Fábio A. Machado e mais um revisor anônimo pelos valiosos comentários sobre o artigo. NMS recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. RAMF foi apoiada pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código Financeiro 001. DSF agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processo 308567/2019-6), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (processo 88887.159161/2017-00); e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) (processo E-26/211.154/2019).

REFERÊNCIAS

Abegg A.D., Passos P., Mario-da-Rosa C., Azevedo W.S., Malta-Borges L., Bubadué J.M. 2020. Sexual dimorphism, ontogeny and static allometry of a semi-fossorial snake (genus *Atractus*). *Zoologischer Anzeiger* 287:95–104.

Adams D.C., Rohlf F.J., Slice D.E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology* 71:5–16.

Adams D.C., Rohlf J.F., Slice D.E. 2013. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 24:7–14.

Adams D.C., Otárola-Castillo E., Sherratt E. 2014. Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 2.0. Disponível em: URL http://CRAN.Rproject.org/package=geomorph.

Akman G. 2019. Comparison of the Blind Snake Populations, *Xerotyphlops vermicularis* (Merrem, 1820) (Squamata: Typhlopidae) in Turkey and Cyprus: Morphology, Serology, Ecology, and Geometric Morphometrics *Commagene Journal of Biology* 3:6–18. doi: 10.31594/commagene.522170

Allemand R., Boistel R., Daghfous G., Blanchet Z., Cornette R., Bardet N., Houssaye A. 2017. Comparative morphology of snake (Squamata) endocasts: Evidence of phylogenetic and ecological signals. *Journal of Anatomy* 231:849–868. doi:10.1111/joa.12692

Andjelkovic M., Tomovic L., Ivanovic A. 2016. Variation in skull size and shape of two snake species (*Natrix natrix* and *Natrix tessellata*). *Zoomorphology* 135:243–253

Andjelkovic M., Tomovic L., Ivanovic A. 2017. Morphological integration of the kinetic skull in *Natrix* snakes. *Journal of Zoology* 303:188–198.

Barbo F.E., Gasparini J.L., Almeida A.P., Zaher H., Grazziotin F., Gusmão R.B., ... Sawaya R.J. 2016. Another new and threatened species of lancehead genus *Bothrops* (Serpentes, Viperidae) from Ilha dos Franceses, Southeastern Brazil. *Zootaxa* 4097:511–529.

Baum D., Mahlow K., Lamecker H., Zachow S., Müller J., Hege H-C. 2014. The Potential of Surface-based Geometric Morphometrics for Evolutionary Studies: An Example using Dwarf Snakes (*Eirenis*). Pp. 1–2 in Mallison H., Vogel J., Belvedere M. (Eds.) Digital Specimen Abstracts of Presentations. Museum für Naturkunde Berlin.

Belgheiszadeh H., Salemi A., Heydari N., Tahouri A., Tafreshi S. 2019. Geometric morphometrics of the head shape of *Pseudocerastes persicus* (Duméril, Bibrón & Duméril, 1854) (Ophidia: Viperidae) from central Iran. *Journal of Biological Studies* 2:56–63.

Bell C.J., Mead J.I. 2014. Not Enough Skeletons in the Closet: Collections-Based Anatomical Research in an Age of Conservation Conscience. *The Anatomical Record* 297:344–348.

Blackith R., Reyment R.A. 1971. Multivariate morphometrics. Academic Press, New York.

Bookstein F.L. 1982. Foundations of Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13:451–470.

Bookstein F.L. 1984. A Statistical Method for Biological Shape Comparisons. *Journal of Theoretical Biology* 107:475–520.

Bookstein F.L. 1986. Size and Shape spaces for landmark data in two dimensions. *Statistical Science* 1:181–242.

Bookstein, F.L. 1989. "Size and shape". A comment on semantics. *Systematic Zoology* 38:173–190.

Bookstein F.L. 1991. Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. Cambridge University Press. Cambridge.

Bookstein F.L. 1996. Biometrics, biomathematics and the morphometric synthesis. *Bulletin of Mathematical Biology* 58:313–365.

Bookstein F.L. 1997. Landmark methods for forms without landmarks: Morphometrics of group differences in outline shape. *Medical Image Analysis* 1:225–243.

Bookstein F.L., Chernoff B., Elder R.L., Humphries J. M., Smith G.R., Strauss R.E. 1985. Morphometrics in evolutionary biology. Special publication. *Academy of Natural Sciences Press*, Philadelphia.

Cleuren S.G.C., Hocking D., Evans A.R. 2021. Fang evolution in venomous snakes: Adaptation of 3D tooth shape to the biomechanical properties of their prey. *Evolution* 75: 1377–1394. doi: doi.org/10.1111/evo.14239

Cohen C. 2004. Gould at D'arcy Thompson. *Comptes Rendus Palevol* 3:421–431.

Da Silva F.O., Fabre A.-C., Savriama Y., Ollonen J., Mahlow K., Herrel A., ... Di-Poi N. 2018. The ecological origins of snakes as revealed by skull evolution. *Nature Communications* 9:376.

Davis M.A., Douglas M.R., Collyer M.L., Douglas M.E. 2016. Deconstructing a Species- Complex: Geometric Morphometric and Molecular Analyses Define Species in the Western Rattlesnake (*Crotalus viridis*). *PLoS ONE* 11:e0146166. doi:10.1371/journal.pone.0146166.

Drake A.G., Klingenberg C.P. 2010. Large-scale diversification of skull shape in domestic dogs: disparity and modularity. *American Naturalist* 175:289–301.

Dryden I.L., Mardia K.V. 2016. Statistical Shape Analysis with Application in R. Wiley, New York.

Esquerré D., Keogh J.S. 2016. Parallel selective pressures drive convergent diversification of phenotypes in pythons and boas. *Ecology Letters* 19:800–809.

Esquerré D., Sherratt E., Keogh J.S. 2017. Evolution of extreme ontogenetic allometric diversity and heterochrony in pythons, a clade of giant and dwarf snakes. *Evolution* 71:2829–2844.

Esquerré D., Donnellan S., Brennan I.G., Lemmon A.R., Lemmon E.M., Zaher H., Grazziotin F., Keogh J.S. 2020. Phylogenomics, biogeography, and morphometrics reveal rapid phenotypic evolution in pythons after crossing Wallace's line. *Systematic Biology* 69:1039–1051.

Fabre A-C, Bickford D., Segall M., Herrel A. 2016. The impact of diet, habitat use, and behaviour on head shape evolution in homalopsid snakes. *Biological Journal of the Linnean Society* 118:634–647.

Fernandes D.S., Marques O.A.V., Argôlo A.J.S. 2010. A new species of *Dipsas Laurenti* from the Atlantic Forest of Brazil (Serpentes: Dipsadidae). *Zootaxa* 2691:57–66.

Fisher R.A. 1936. The use of multiple measurements in taxonomic problems. *Annals of Eugenics* 7:179–184.

Fornel R., Cordeiro-Estrela P. 2012. Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos. Pp 101–120 in Marinho J.R., Hepp L.U., Fornel R. (Orgs.). Temas Em Biologia: Edição Comemorativa aos 20 anos do Curso de Ciências Biológicas e aos 5 anos Do PPG-Ecologia a URI Campus de Erechim. EDIFAPES, Erechim.

Galán A.L. 2015. Morfometría geométrica: el estudio de la forma y su aplicación en biologia. *Temas de Ciencia y Tecnología* 19:53–59

Galton F. 1888. Co-relations and their measurement, chiefly from anthropometric data. *Proceeding of the Royal Society of London* 45:219–247

Gentilli A., Cardini A., Fontaneto D., Zuffi M.A.L. 2009. The phylogenetic signal in cranial morphology of *Vipera aspis*: a contribution from geometric morphometrics. *Herpetological Journal* 19:69–77

Goodall C.R. 1983. The statistical analysis of growth in two dimensions. PhD dissertation, Department of Statistics, Harvard University, USA.

Green W.D.K. 1996. The thin-plate spline and images with curving features. Pp. 79–87 in Mardia K.V., Gill C.A., Dryden I.L. (Eds), Proceedings in Image Fusion and Shape Variability Techniques. Leeds University Press, Leeds.

Head J.J., Bloch J.I., Hastings A.K., Bourque J.R., Cadena E.A., Herrera F.A., ... Jaramillo C.A. 2009. Giant boid snake from the Palaeocene neotropics reveals hotter past equatorial temperatures. *Nature* 457:715–717. doi:10.1038/nature07671

Head J.J., Polly P.D. 2015. Evolution of the snake body form reveals homoplasy in amniote Hox gene function. *Nature* 520:86–89. doi:*10.1038/ nature14042*

Henao-Duque A.M., Ceballos C.P. 2013. Sex-related head size and shape dimorphism in Mapaná snakes (*Bothrops asper*) kept in captivity. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 26:201–210.

Hossie T.J., Sherratt T.N. 2014. Does defensive posture increase mimetic fidelity of caterpillars with eyespots to their putative snake models? *Current Zoology* 60:76–89.

Humphries J.M., Bookstein F.L., Chernoff B., Smith G.R., Elder R.L., Poss S.G. 1981. Multivariate discrimination by shape in relation to size. *Systematic Zoology* 30:291–308.

Jolicoeur P. 1959. Multivariate Geographical Variation in the Wolf *Canis lupus* L. *Evolution* 13:283–299.

Jolicoeur P. 1963. The Multivariate Generalization of the Allometry Equation. *Biometrics* 19:497–499.

Jolicoeur P., Mosimann J. 1960. Size and shape variation in the painted turtle. A principal component analysis. *Growth* 24:339–354.

Jungers W.L., Falsetti A.B., Wall C.E. 1995. Shape, relative size, and size-adjustments in morphometrics. *The Yearbook of Physical Anthropology* 38:137–161.

Kendall D.G. 1977. The diffusion of shape. *Advances in Applied Probability* 9:428–430.

Kendall D.G. 1984. Shape manifolds, procrustean metrics, and complex pro-

jective spaces. *Bulletin of the London Mathematical Society* 16: 81–121

Keates C., Conradie W., Greenbaum E., Edwards S. 2019. A snake in the grass: Genetic structuring of the widespread African grass snake (*Psammophylax* Fitzinger 1843), with the description of a new genus and a new species. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary* Research 57:1039–1066

Klaczko J., Sherratt E., Setz E.Z.F. 2016. Are Diet Preferences Associated to Skulls Shape Diversification in Xenodontine Snakes? *PLoS ONE* 11: e0148375. doi:*10.1371/journal.pone.0148375*

Klingenberg C.P. 1998. Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biological Reviews* 73:79–123.

Klingenberg C.P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11:353–357.

Klingenberg C.P. 2013. Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. *Hystrix* 24:15–24.

Klingenberg C.P. 2015. Analyzing fluctuate asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry* 2015:847-934.

Klingenberg C.P. 2016. Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution* 226:113–137.

Klingenberg C.P. 2020. Walking on Kendall's shape space: Understanding shape spaces and their coordinate systems. *Evolutionary Biology* 47:334–352. doi:*10.1007/s11692-11020-09513-x*

Klingenberg C.P., Mcintyre, G.S. 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* 52:1363–1375.

Klingenberg C.P., Barluenga M., Meyer A. 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56:1909–1920.

Klingenberg C.P., Marugán-Lobón J. 2013. Evolutionary covaration in geometric morphometric data: analyzing integration, modularity, and allometry in phylogenetic context. *Systematic Biology* 62:591–610.

Lawing A.M., Polly P.D. 2010. Geometric morphometrics: recent applications to the study of evolution and development. *Journal of Zoology* 280:1–7.

Lillywhite H.B. 2014. How snakes work: structure, function, and behavior: of world's snakes. *Oxford University Press*, New York.

Linnaeus C. 1758. Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. Editio decima, reformata. Laurentii Salvii, Holmiæ, Stockholm.

Loebens L., Hendges C.D., Almeida-Santos S.M., Cechin S.Z. 2019. Morphological variation and sexual dimorphism in two sympatric dipsadine snakes from Southern Brazil. *Zoologischer Anzeiger* 280:42–51. doi:*10.1016/j.jcz.2019.03.004*.

Lucchini N., Kaliontzopoulou A., Val G.A., Martínez-Freiría F. 2020. Sources of intraspecific morphological variation in *Vipera seoanei*: allometry, sex, and colour phenotype. *Amphibia-Reptilia* 2020:1–16

Machado A.C., Silva M.A., Filho R.D.T., Pfeil M.S., Lima I., Lopes R.T. 2015. 3D investigation of steel fiber distribution in reinforced concrete by X-ray microtomography. *Revista IBRACON de Estruturas Materiais* 8:707–720.

Mangiacotti M., Limongi L., Sannolo M., Sacchi R., Zuffi M.A.L., Scali S. 2014. Head shape variation in eastern and western Montpellier snakes. *Acta Herpetologica* 9: 167–177

Manier M.K. 2004. Geographic variation in the long-nosed snake *Rhinocheilus lecontei* (Colubridae): Beyond the subspecies debate. *Biological Journal of the Linnean Society* 83:65–85.

Marcus L.F. 1990. Traditional morphometrics. Pp 77–122 in Rohlf F.J., Bookstein F.L. (Eds), Proceedings of the Michigan morphometrics workshop. University of Michigan Museum of Zoology. Ann Arbor, Michigan.

Marcus L.F., Bello E., Garcia-Valdecasas A. 1993. Contributions to Morphometrics. Monografias, Museo Nacional de Ciencias Naturales, Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Madrid.

Marcus L.F., Corti M., Loy A., Naylor G. J.P., Slice D.E. 1996. Advances in Morphometrics. *NATO ASI series A: Life Sciences*, Plenum Press, New York.

Martins M., Araújo M.S., Sawaya R.J., Nunes R. 2001. Diversity and evolution of macrohabitat use, body size and morphology in a monophyletic group on Neotropical pitvipers (*Bothrops*). *Journal of Zoology* 254:529–538.

Mcnulty K.P., Vinyard C.J. 2015. Morphometry, Geometry, Function, and the Future. *The Anatomical Record* 298:328–333.

Meik J.M., Setser K., Mociño-Deloya E., Lawing A.M. 2012. Sexual differences in head form and diet in a population of Mexican lance-headed rattlesnakes *Crotalus polystictus*. *Biological Journal of the Linnean Society* 106:633–640.

Mezzasalma M., Dallasta A., Loy A., Cheylan M., Lymberakis P., Zuffi M.A., ... Guarino F.M. 2015. A sisters' story: comparative phylogeography and taxonomy of *Hierophis viridiflavus* and *H. gemonensis* (Serpentes, Colubridae). *Zoologica Scripta* 44:495–508.

Mitteroecker P., Gunz P. 2009. Advances in Geometric Morphometrics. *Evolutionary Biology* 36:235–247.

Monteiro L.R., Reis S.F. 1999. Princípios de morfometria geométrica. Holos Editora, Ribeirão Preto, São Paulo.

Moreno-Barajas R., Rodríguez-Romero F., Valázquez-Rodríguez A., Aragón-Martínez A. 2013. Variación geográfica en *Phrynosoma orbiculare* (Sauria: Phrynosomatidae): análisis de las subespecies. *Acta Zoológica Mexicana* 29:129–143.

Moshtaghie M., Kaboli M., Salehi M. 2018. Geometric morphometric analysis of head shape in a spotted whip snake (*Hemorrhois ravergieri*) in different habitats of iran. *Acta Medica Mediterranea* 34:583–589.

Mosimann J.E. 1970. Size allometry: size and shape variables with characterizations of the lognormal and generalized gamma distributions. *Journal of the American Statistical Association* 65:930–945.

Murta-Fonseca R.A., Fernandes D.S. 2016. The skull of *Hydrodynastes gigas* (Duméril, Bibron & Duméril, 1854) (Serpentes: Dipsadidae) as a model of snake ontogenetic allometry inferred by geometric morphometrics. *Zoomorphology* 132:33–241. doi: 10.1002/ar.22852.

Murta-Fonseca R.A., Machado A, Lopes R.T., Fernandes D.S. 2019. Sexual dimorphism in *Xenodon neuwiedii* skull revealed by geometric morphometrics (Serpentes, Dipsadidae). *Amphibia-Reptilia* 40: 461-474. doi:10.1163/15685381-20191147.

Oxnard, C.E. 1978. One biologist's view of morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 9:219–241.

Palci A., Lee, M.S., Hutchinson M.N. 2016. Patterns of postnatal ontogeny of the skull and lower jaw of snakes as revealed by micro-CT scan data and three-dimensional geometric morphometrics. *Journal of Anatomy* 229:723–754.

Palci A., Hutchinson M.N., Caldwell M.W., Lee M.S.Y. 2017. The morpholo-

gy of the inner ear of squamate reptiles and its bearing on the origin of snakes. *Royal Society Open Science* 4:170685.

Palci A., Hutchinson M.N., Caldwell M.W., Scanlon J.D., Lee M.S.Y. 2018. Palaeoecological inferences for the fossil Australian snakes. *Yurlunggur* and *Wonambi* (Serpentes, Madtsoiidae). *Royal Society Open Science* 5:172012.

Palci A., Lee M.S.Y. 2018. Geometric morphometrics, homology and cladistics: Review and recommendations. *Cladistics* 35:230–242. doi: *10.1111/cla.12340*.

Passos P., Fernandes R. 2008. Revision of the *Epicrates cenchria* complex (Serpentes: Boidae). *Herpetological Monographs* 22:1–30.

Pearson K. 1901. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philosophical Magazine* 2:559-572.

Pizzatto L., Almeida-Santos S.M., Shine R. 2007. Life history adaptations to arboreality in snakes. *Ecology* 88:359–366.

Pokrant F., Kindler C., Ivanov M., Cheylan M., Geniez P., Böme W., Fritz U. 2016. Integrative taxonomy provides evidence for the species status of the Ibero-Maghrebian grass snake *Natrix astreptophora*. *Biological Journal of the Linnean Society* 118:873–888.

Rajabizadeh M., Wassenbergh S., Mallet C., Rücklin M., Herrel A. 2020. Tooth Shape Adaptations in *Aglyphous* Colubrid Snakes Inferred from 3D Geometric Morphometrics and Finite Element Analysis. *Biological Journal of the Linnean Society* 191:454–467.

Reyment R.A. 1991. Multidimensional paleobiology. Pergamon Press, New York.

Reyment R.A. 1996. An idiosyncratic history of early morphometrics. Pp 15–22 in Marcus L.F., Corti M., Loy A., Naylor G.J.P., Slice D.E. Advances in Morphometrics. *NATO ASI series A: Life Sciences*. 284. Plenum Press, New York.

Reyment R.A. 2010. Morphometrics: an historical essay. Pp 9–24 in Elewa A.M.T. (Ed.). Morphometrics for non-morphometricians. Springer-Verlag, New York.

Rhoda R., Polly D., Raxworthy C., Segall M. 2020. Morphological Integration and Modularity in the Hyperkinetic Feeding System of Aquatic-foraging Snakes. *Evolution* 75: 56–72.

Rohlf F.J. 1990. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:299–316.

Rohlf F.J. 2003. tpsRelw, Versão 1.37. Disponível em: http://life.bio.sunysb.edu/morph

Rohlf F. J., Bookstein F. L. 1987. A comment on shearing as a method for "size correction." *Systematic Zoology* 36:356–367.

Rohlf F.J., Bookstein F.L. 1990. Proceedings of the Michigan morphometrics workshop. *Ann Arbor: The University of Michigan Museum of Zoology Special Publication* 2:147–166.

Rohlf F.J., Slice D. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology* 39:40–59.

Rohlf F.J., Marcus L.F. 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution* 8:129–132.

Ruane S. 2015. Using geometric morphometrics for integrative taxonomy: an examination of head shapes of milksnakes (genus *Lampropeltis*). *Zoological Journal of the Linnean Society* 174:394–413.

Santos M.M., Da Silva F.M., Hingst-Zaher E., Machado F.A., Zaher H.E.D., Prudente A.L.D.C. 2017. Cranial adaptations for feeding on snails in species of *Sibynomorphus* (Dipsadidae: dipsadinae). *Zoology* 120:24–30. doi: 10.1016/j.zool.2016.09.003.

Sarris I., Marugán-Lobón J., Chamero B., Buscalioni A.D. 2012. Shape variation and allometry in the precloacal vertebral series of the snake *Daboia russelli* (Viperidae). *International Journal of Morphology* 30:1363–1368.

Segall M., Cornette R., Fabre A-C., Godoy-Diana R., Herrel A. 2016. Does aquatic foraging impact head shape evolution in snakes? *Proceedings of the Royal Society* 283:20161645. doi:10.1098/rspb.2016.1645.

Segall M., Herrel A., Godoy-Diana R. 2019. Hydrodynamics of frontal striking in aquatic snakes: drag, added mass, and the possible consequences for prey capture success. *Bioinspiration & Biomimetics* 14:036005.

Segall M., Cornette R., Godoy-Diana R., Herrel A. 2020. Exploring the functional meaning of head shape disparity in aquatic snakes. *Ecology and Evolution* 10:6993–7005.

Sherratt E., Sanders K.L., Watson A., Hutchinson M.N, Lee M.S.Y., Palci A. 2019. Heterochronic Shifts Mediate Ecomorphological Convergence in Skull Shape of Microcephalic Sea Snakes. *Integrative and Comparative Biology* 59:616–624. doi: 10.1093/icb/icz033.

Showalter I., Todd B.D., Brennan P.L.R. 2014. Intraspecific and interspecific variation of female genitalia in two species of watersnake. *Biological Journal of Linnean Society* 111:183–191

Silva F.M., Oliveira L.S., Nascimento L.R., Machado F.A., Prudente A.L. 2017. Sexual dimorphism and ontogenetic changes of Amazonian pitvipers (*Bothrops atrox*). *Zoologischer Anzeiger* 271:15–24.

Silva F.M., Prudente A.L.C., Machado F.A., Santos M.M., Zaher H., Hingst-Zaher E. 2018. Aquatic adaptations in a Neotropical coral snake: a study of morphological convergence. *Journal of Systematic and Evolutionary Research* 56:382–394.

Slice D. 2001. Landmark Coordinates Aligned by Procrustes Analysis Do Not Lie in Kendall's Shape Space. *Systematic Biology* 50:141–149.

Smith M.T., Collyer M.L. 2008. Regional variation and sexual dimorphism in head form of the prairie rattlesnake (*Crotalus viridis viridis*): comparisons using new analytical techniques and collection methods. Pp 79–90 in Hayes W.K, Beaman K.R, Cardwell M.D, Bush S.P. (Eds). The biology of rattlesnakes. Loma Linda Press, California.

Smith M.T. 2014. Induction of phenotypic plasticity in rattlesnake trophic morphology by diet manipulation. *Journal of Morphology* 275:1339–1348.

Souto N.M., Pinna P.H., Machado A.S., Lopes R.T. 2017. New records, morphological variation, and description of the skull of *Liophis dorsocorallinus* Esqueda, Natera, La Marca and Ilija-Fistar, 2005 (Serpentes: Dipsadidae). *Herpetological Review* 48:532–537.

Souto N.M, Murta-Fonseca R.A., Machado A.S., Lopes R.T., Fernandes D.S. 2019. Snakes as a model for measuring skull preparation errors in geometric morphometrics. *Journal of Zoology* 309:12–21.

Sundberg P. 1989. Shape and size-constrained principal component analysis. *Systematic Zoology* 38: 166-168.

Strauss R.E., Bookstein F.L. 1982. The truss body form reconstructions in morphometrics. *Systematic Zoology* 31:113–135.

Tamagnini D., Stephenson J., Brown R.P., Meloro C. 2018. Geometric morphometric analyses of sexual dimorphism and allometry in two sympatric snakes: *Natrix helvetica* (Natricidae) and *Vipera berus* (Viperidae). *Zoology* 129:25–34.

Teissier G. 1938. Un essai d'analyse factorielle. Les variants sexuels de Maia squinada. *Biotypologie* 7:73–96.

Thompson D'A.W. 1917. On growth and form. University press, Cambridge.

Thorpe R.S. 1975. Quantitative handling characters useful in snake systematics with particular reference to intraspecific variation in the Ringed Snake *Natrix natrix*. *Biological Journal of Linnean Society* 7:27–43.

Yi H., Norell M.A. 2015. The burrowing origin of modern snakes. *Science Advances* 1:e1500743.

Zaher H. 1999. Hemipenial morphology of the South American xenodontines snakes, with a proposal for a monophyletic Xenodontinae and a reappraisal of colubroid hemipenes. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 240:1–168.

Zelditch M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D. 2004. Geometric morphometrics for biologists: A primer. Elsevier Academic Press, San Diego.

Editor: Alexandro Tozetti



Micrurus pyrrhocryptus
Villa de las rosas - Cordoba, Argentina
@Francisco Brito

Apêndice I: Tabela com trabalhos publicados que utilizaram as técnicas da MG no estudo de Serpentes, separados por ano de publicação, temas abordados e estrutura utilizada.

Autor	Ano	Tema	Estrutura
Manier	2004	• Delimitação de espécies; • Dimorfismo sexual; • Morfologia e habitat	Morfologia externa da cabeça
Smith & Collyer	2008	• Dimorfismo sexual; • Variação morfológica in-traespecifica	Morfologia externa da cabeça
Gentilli et al.	2009	• Delimitação de espécies	Crânio
Head et al.	2009	• Evolução da forma do corpo; • Morfologia e habitat	Vértebras
Lawing & Polly	2010	• Metodologia MG	Vértebras
Sarris et al.	2012	• Alometria estática; • Variação morfológica in traespecífica	Vértebras
Meik et al.	2012	• Dimorfismo sexual; • Morfologia e dieta	Morfologia externa da cabeça
Henao-Duque & Ceballos	2013	• Dimorfismos sexual	Morfologia externa da cabeça
Moreno-Barajas et al.	2013	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Baum et al.	2014	• Metodologia MG	Crânio
Hossie & Sherratt	2014	• Mimetismo	Morfologia externa da cabeça
Mangiacotti et al.	2014	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Showalter et al.	2014	• Delimitação de espécies; • Variação morfológica in traespecifica	Genitália feminina
Smith	2014	• Morfologia e dieta	Morfologia externa da cabeça
Head & Polly	2015	• Evolução da forma do corpo	Vértebras

Mezzasalma et al.	2015	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Ruane	2015	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Yi & Norell	2015	• Morfologia e habitat; • Origem de Serpentes	Ouvido interno
Andjelkovic et al.	2016	• Alometria estática; • Dimorfismo sexual; • Morfologia e dieta	Crânio
Barbo et al.	2016	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Davis et al.	2016	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Esquerré & Keogh	2016	• Morfologia e habitat	Morfologia externa da cabeça
Fabre et al.	2016	• Morfologia e dieta; • Morfologia e habitat	Morfologia externa da cabeça
Klaczko et al.	2016	• Morfologia e dieta	Crânio
Murta-Fonseca & Fernandes	2016	• Ontogenia	Crânio
Palci et al.	2016	• Ontogenia	Crânio
Pokrant et al.	2016	• Delimitação de espécies	Vértebras
Segall et al.	2016	• Morfologia e uso do habitat	Morfologia externa da cabeça
Santos et al.	2017	• Morfologia e dieta	Crânio
Allemand et al.	2017	• Morfologia e uso do habitat	Crânio
Andjelkovic et al.	2017	• Morfologia e dieta	Crânio
Silva et al.	2017	• Dimorfismo sexual; • Ontogenia	Morfologia externa da cabeça

Equerré et al.	2017	• Ontogenia	Morfologia externa da cabeça
Palci et al.	2017	• Morfologia e habitat; • Origem de Serpentes	Ouvido interno
Moshtaghie et al.	2018	• Morfologia e habitat	Morfologia externa da cabeça
Palci et al.	2018	• Morfologia e habitat	Ouvido interno
Da Silva et al.	2018	• Morfologia e dieta; • Origem de Serpentes	Crânio
Palci & Lee	2018	• Metodologia MG	Crânio
Silva et al	2018	• Morfologia e dieta; • Morfologia e habitat	Crânio
Tamagnini et al.	2018	• Alometria estática; • Dimorfismo sexual	Morfologia externa da cabeça
Akman & Goçomem	2019	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Belgheiszadeh et al.	2019	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Keates et al.	2019	• Delimitação de espécies	Morfologia externa da cabeça
Loebens et al.	2019	• Dimorfismo sexual	Morfologia externa da cabeça
Murta-Fonseca et al.	2019	• Dimorfismo sexual	Crânio
Segall et al.	2019	• Morfologia e habitat	Morfologia externa da cabeça
Sherratt et al.	2019	• Morfologia e dieta	Crânio
Souto et al.	2019	• Metodologia MG	Crânio
Rajabizadeh et al.	2020	• Morfologia e dieta	Dente
Abegg et al.	2020	• Alometria estática; • Dimorfismos sexual; • Ontogenia	Morfologia externa da cabeça

Esquerré et al.	2020	• Morfologia e habitat	Morfologia externa da cabeça
Lucchini et al.	2020	• Dimorfismo sexual; • Ontogenia; • Variação morfológica intraespecifica;	Morfologia externa da cabeça
Rhoda et al.	2020	• Morfologia e dieta	Crânio
Segall et al.	2020	• Morfologia e dieta; • Morfologia e habitat	Morfologia externa da cabeça
Cleuren et al.	2021	• Morfologia e dieta	Dente

Métodos para detecção de *Ranavirus* (Iridoviridae) em anfíbios

Joice Ruggeri[1*], Angélica de Almeida e Silva[1], Marcelo Candido[2], Ricardo L. M. Sousa[2], Luís Felipe Toledo[1]

1 Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros, Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 13083-862 Campinas, SP, Brasil.
2 Laboratório de Higiene Zootécnica, Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 13635-900 Pirassununga, SP, Brasil.
*Autor correspondente: E-mail: *joice.ruggeri@gmail.com*
DOI: *10.5281/zenodo.5211381*

RESUMO

Dentre os muitos fatores que impactam negativamente a biodiversidade mundial (como desmatamento, poluição e aquecimento global), as doenças infecciosas são consideradas um grande problema para a conservação da flora e fauna. Principalmente em relação aos anfíbios, que constituem o grupo de vertebrados mais ameaçado da atualidade, as doenças infecciosas já foram responsáveis por declínios e extinções de populações naturais em todos os continentes. Os principais patógenos conhecidos até o momento que apresentam maior impacto sobre esse grupo são os dois fungos causadores da quitridiomicose (*Batrachochytrium dendrobatidis* e *Batrachochytrium salamandrivorans*) e os vírus do gênero *Ranavirus*. Os vírus do gênero *Ranavirus* constituem uma ameaça não somente aos anfíbios, mas também aos peixes e répteis, e já foram relacionados a eventos de mortalidade em massa de indivíduos desses grupos em diversos países. A recente descoberta desse vírus em populações naturais de anfíbios no Brasil despertou o nosso interesse em apresentar uma revisão de protocolos para a detecção do *Ranavirus* a fim de incentivar pesquisadores a realizar diagnósticos de ranavirose em vertebrados ectotérmicos, em especial anfíbios.

INTRODUÇÃO

A ranavirose é uma doença infecciosa emergente com rápida disseminação e alta letalidade que acomete os vertebrados ectotérmicos (peixes, anfíbios e répteis), sendo cada vez relatada com mais frequência (Mazzoni et al. 2009; Duffus et al. 2015). Essa combinação entre gravidade e aumento no número de casos tornou obrigatória a sua notificação à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE; Schloegel et al. 2009). No Brasil, a notificação deve ser feita diretamente ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que através do Serviço Veterinário Oficial (SVO) investiga o caso e repassa os dados à OIE (MAPA 2020). A doença recebe esse nome por ser causada por agentes virais grandes de DNA (entre 120 e 200 nm) do gênero *Ranavirus* (Rv), da família Iridoviridae (Chinchar 2002), sendo atualmente divididos em dois grupos: i) os Rv associados aos anfíbios (AARVs – Amphibian-associated ranaviruses) que também podem infectar répteis, incluem as linhagens *Frog virus* 3 (FV3-like), *Ambystoma tigrinum virus* (ATV-like) e *Common midwife toad virus* (CMTV-like), e ii) os Rv associados aos peixes: Grouper iridovirus (GIV-like), European catfish virus (ECV-like) e *Epizootic haematopoietic necrosis virus* (EHNV-like) (Jancovich et al. 2015; Price et al. 2016; Candido et al. 2019; Fig. 1).

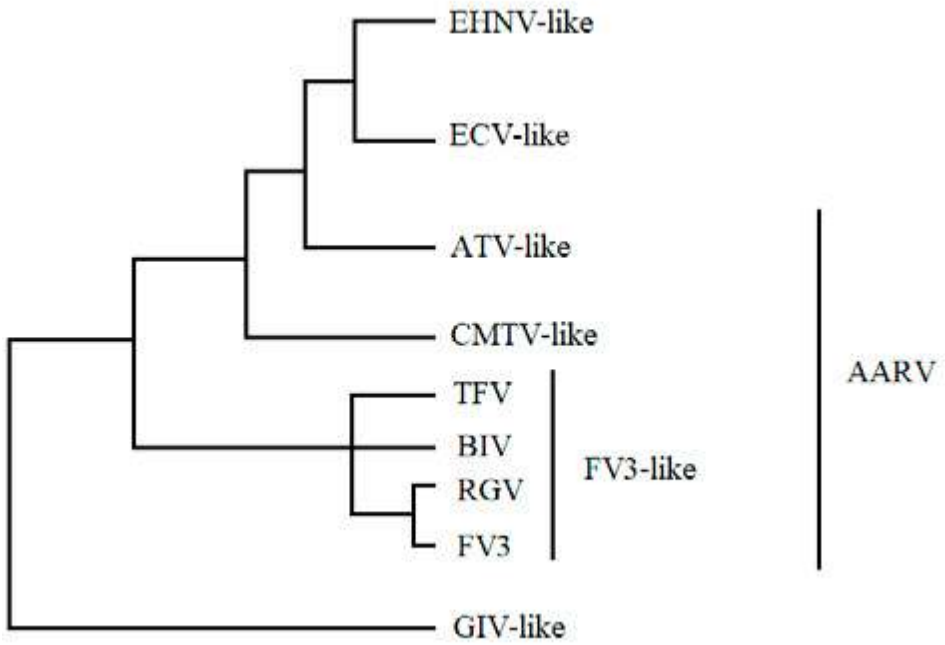


Figura 1. Relações filogenéticas dos grupos de espécies de *Ranavirus* (baseada em Candido et al. 2019). AARV (Amphibian-associated ranaviruses) se refere ao grupo dos *Ranavirus* associados aos anfíbios.

A linhagem FV3 e similares (FV3-like) apresentam distribuição global e já foram responsáveis por declínios de peixes, anfíbios e répteis, tanto em cativeiro quanto em ambientes naturais (Duffus et al. 2015). No Brasil, o Rv foi relacionado com eventos de mortalidade em massa de girinos de rã-touro, *Aquarana catesbeiana* (Shaw, 1802), em ranários (Galli et al. 2006; Mazzoni et al. 2009; Candido et al. 2019) e em populações selvagens no sul da Mata da Atlântica (Ruggeri et al. 2019).

Existem diferentes métodos utilizados para a detecção de Rv, incluindo detecções histológicas, e moleculares tanto por reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional como por PCR quantitativo em tempo real (qPCR). Com o objetivo de incentivar a investigação do Rv em espécies da herpetofauna brasileira, apresentamos aqui um resumo dos protocolos mais utilizados para a detecção de Rv em anfíbios (AARVs), bem como uma comparação entre os métodos (Tab. 1). Ainda, apresentamos reagentes alternativos para o protocolo de Candido & Sousa (2018; Tab. 2).

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Métodos não invasivos: diagnóstico visual

Os sinais clínicos da infecção por Rv em anfíbios consistem principalmente em lesões na pele, hemorragia interna, eritema (Fig. 2) e comportamento anormal do animal, como natação errática e perda de flutuabilidade (Miller et al. 2015). Alguns espécimes também podem apresentar distensão abdominal, cor pálida e enfraquecimento dos membros. Animais com sistema imune comprometido costumam desenvolver a doença rapidamente, principalmente durante o estágio larval e durante a metamorfose (Mazzoni et al. 2009). Como os sintomas não são exclusivos da doença causada por Rv, recomenda-se que o diagnóstico visual é um método que deve ser confirmado com um exame mais assertivo. Porém, é de extrema importância que qualquer animal que apresente esses sinais clínicos seja isolado do restante da população sempre que possível (Pessier & Mendelson 2010).



Figura 2. Indivíduo de *Pelophylax perezi* coletado na Serra das Estrelas, Portugal, apresentando sinais clínicos no focinho da doença causada pelos *Ranavirus*.
Foto: João Martins.

Métodos invasivos: não letais

Utilizam-se como formas não letais de diagnóstico do Rv, principalmente, a coleta da ponta de dedo ou artelho (articulação de falanges), cauda de girinos, amostras de sangue, e de secreção a partir do suabe da região da cloaca, cavidade oral ou lesões na pele (Pessier & Mendelson III 2010; Gray et al. 2012; Miller et al. 2015). A coleta dessas amostras, abaixo descritas, deve ser realizada com cautela para evitar contaminação cruzada entre as amostras, sendo imprescindível a troca de luvas entre o manuseio dos animais. Além disso, todos os instrumentos envolvidos nesses processos de manuseio devem ser esterilizados com imersão em álcool P.A., seguido de exposição à uma chama aberta (Forzán & Wood 2013), ou por imersão em desinfetante Virkon S a 1% por, no mínimo, 20 minutos (Bryan et al. 2009). Essas amostras podem ser testadas para a presença do Rv por sorologia (amostras de sangue) ou a partir de técnicas moleculares, como PCR ou qPCR. Porém, essas técnicas podem gerar falsos negativos e, portanto, é indicado que elas sejam utilizadas de forma complementar umas com as outras no mesmo indivíduo (Gray et al. 2012).

Amostras de falanges

A coleta é realizada amputando-se um dígito do animal com auxílio de pinça e tesoura esterilizados. Cada amostra deve ser armazenada em um microtubo estéril contendo etanol 70% (Miller et al. 2015).

Amostras de cauda de girinos

Com uma tesoura esterilizada, corta-se cerca de 0.5 a 1 cm da extremidade distal da cauda do girino, que deve ser armazenada em um microtubo estéril, preferencialmente em temperatura de -80 °C até a extração do DNA (Gray et al. 2012), ou em microtubo estéril contendo etanol 70% em temperatura ambiente.

Amostras de sangue

A coleta de amostra de sangue é feita por punção da veia abdominal ou cardíaca do animal utilizando agulha de calibre 25G (0.5 mm; Pessier & Mendelson 2010). A amostra sanguínea deve ser imediatamente inserida em um cartão FTA (qualquer marca), onde será transportado até o laboratório.

Amostras coletadas por suabes

O suabe deve ser passado nas regiões alvo, rodando suavemente o suabe na cavidade oral ou cloacal por 3 a 5 segundos, ou esfregada de forma cuidadosa na lesão. O mesmo suabe pode ser utilizado para a região bucal e cloacal do mesmo indivíduo (Goodman et al. 2013). Cada suabe deve ser mantido em um microtubo estéril com etanol absoluto (99.5%) em temperatura ambiente ou em um microtubo estéril a seco em temperatura de -20 °C, até extração do DNA em laboratório (Miller et al. 2015).

TÉCNICAS MOLECULARES

As técnicas moleculares para detecção do Rv em amostras provenientes do hospedeiro utilizam marcadores moleculares para a amplificação parcial do gene que codifica a proteína principal do capsídeo (Major Capsid Protein: MCP). Essa é uma região conservada entre as espécies do gênero *Ranavirus* e, portanto, permite a detecção do vírus independentemente da linhagem. Porém, a região alvo do gene MCP e os oligonucleotídeos (*primers*) utilizados na amplificação parcial desse gene variam entre os protocolos, que apresentam produtos de diferentes tamanhos e sequências de nucleotídeos (Mao et al. 1997; Allender et al. 2013).

Para a detecção quantitativa do vírus nas amostras, utiliza-se a técnica da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), na qual a maioria dos protocolos conhecidos envolve o uso de uma sonda TaqMan (Pallister et al. 2007; Allender et al. 2013; Kolby et al. 2014; Warne et al. 2016; Leung et al. 2017), embora também existam protocolos que utilizam o corante SYBR Green (Jaramillo et al. 2012). Ainda que nenhuma dessas técnicas moleculares permita identificar se o vírus está ativo dentro do hospedeiro, o uso do qPCR é vantajoso em relação ao PCR convencional, pois permite a quantificação de cópias virais (i.e., fornece dados de carga viral), enquanto o PCR convencional somente permite a detecção (i.e., somente dados de ocorrência da infecção) do DNA viral na amostra analisada. Por outro lado, quando o objetivo é o posterior sequenciamento da região alvo do vírus, a técnica comumente utilizada para a obtenção do produto é o PCR convencional.

PCR Convencional (PCR)

Existem diversos protocolos para a detecção de Rv por PCR convencional (e.g. Mao et al. 1997; Mazzoni et al. 2009) e deve-se ter em mente que a temperatura de anelamento (Ta) dos *primers* à sequência de DNA alvo pode variar de acordo com os oligonucleotídeos utilizados (Tab. 3). Destacamos o protocolo de Mazzoni et al. (2009), pois foi desenvolvido a partir da linhagem FV3-like isolada durante um evento de mortalidade em massa de girinos de rã-touro em ranário brasileiro. Esse protocolo utiliza *primers* desenhados para amplificar 1483 pares de base (pb) do gene MCP dessa linhagem FV3-like (Tab. 3), e 233 pb do gene DNA-dependente da RNA polimerase II (Pol-III *primer* senso: TCACCGCCGCAGACATCTTTAG; *primer* anti-senso: GTAACCGTTCTTTTCGCAGTGG).

Cada reação utiliza entre 1 e 5 µL do DNA da amostra, 12.5 µL do reagente GoTaq® DNA Polymerase (Promega, EUA), 1.0 µL de cada *primer* a 10 µM, e água ultrapura até completar o volume de 25 µL. As condições de termociclagem utilizadas neste protocolo são: uma etapa de pré-aquecimento em

Tabela 1. Comparação entre os métodos comumente utilizados para detecção de *Ranavirus* em amostras biológicas.

	Histologia	PCR convencional	qPCR	
Protocolo	HE	Taq polimerase	SYBR green	TaqMan
Tipo de amostra biológica	Tecido	Cultura do vírus / DNA ambiental / Sangue / Tecido	Cauda / Falange / Sangue / Secreção (cloaca, oral, lesão) / Tecido	Cauda / DNA ambiental / Falange / Sangue / Secreção (cloaca, oral, lesão) / Tecido
Extração de DNA	Não	Sim	Sim	Sim
Quantificação do DNA alvo	Não	Não	Sim	Sim
Número de amostras	~ 150 amostras por bloco de parafina/ resina	Até 94 amostras (simplicata) + NTC + controle positivo	Até 188 amostras (duplicata) + NTC + controle positivo	Até 188 amostras (duplicata) + NTC + controle positivo
Custo*	~ USD 12.00 por bloco (múltiplos cortes)	~USD 3.00 por amostra + valor extração DNA	~ USD 10.42 por amostra + valor extração DNA	~ USD 11.35 por amostra + valor extração DNA
Vantagens	Não necessita extrair o DNA	Permite sequenciamento do produto de PCR	Quantificação em tempo real	Alta confiabilidade devido ao uso da sonda; quantificação em tempo real
Desvantagens	Somente post-mortem; não possibilita quantificação do DNA alvo	Não permite quantificação viral na amostra; a visualização dos resultados é feita por eletroforese	Inespecífico (se liga a qualquer molécula de DNA); formação de dímeros de *primers*	Custo alto devido ao uso de sonda fluorescente; necessita extração de DNA

*O custo por reação para cada método foi calculado em dólares americanos (taxa de conversão BRL 5: USD 1) considerando o valor médio dos reagentes e material de consumo utilizados.

105 °C seguida de 2 minutos a 95 °C. Para os *primers* MCP devem-se utilizar 40 ciclos de: 60 segundos a 95 °C (desnaturação), seguido por 60 segundos a 60 °C (anelamento), e 90 segundos a 72 °C (extensão). Já para os *primers* Pol-II, deve-se utilizar 40 ciclos de: 60 segundos a 95 °C, seguido por 60 segundos a 60 °C, e 30 segundos a 72 °C. A extensão final deve ocorrer por 5 minutos a 72 °C.

PCR em Tempo Real (qPCR)

A qPCR além de permitir a análise quantitativa do DNA genômico alvo na amostra, é considerada uma técnica precisa e com alta sensibilidade de detecção (Pallister et al. 2007). Essas características tornam essa técnica preferencial em relação ao PCR convencional quando o objetivo vai além da simples detecção do vírus na amostra.

Existem dois principais ensaios de qPCR utilizados: o ensaio com SYBR Green, no qual este corante se intercala aos pares de base de qualquer molécula de DNA amplificada na reação; e o ensaio TaqMan, no qual se utiliza uma sonda fluorescente específica para o segmento do gene alvo. A principal diferença entre estas técnicas está na presença da sonda utilizada no ensaio TaqMan, que é constituída de oligonucleotídeos marcados com um corante *reporter* fluorescente na extremidade 5' e um corante *quencher* silenciador na extremidade 3'. Quando as sondas se ligam ao segmento alvo, elas emitem luz. Já o corante SYBR Green é detectado quando ocorre a amplificação do DNA reconhecido pelos *primers* utilizados na reação. Em ambos os casos, a luz emitida é acumulada ao longo dos ciclos da qPCR, permitindo assim a quantificação do DNA genômico alvo na amostra.

Para os dois tipos de ensaio, a quantificação do DNA genômico alvo nas amostras é baseado em uma curva padrão constituída por diluições seriadas (1:10) com quantidade de cópias virais conhecidas nas concentrações que podem variar entre 10^0 e 10^9, dependendo do protocolo a ser seguido. Essa curva padrão deve ser preparada com as diluições seriadas em duplicata (ou triplicata) e pode ou não ser incluída em cada placa da reação. Cada amostra biológica na reação deve ser testada no mínimo em duplicata e considerada positiva quando i) ocorre amplificação das duas duplicatas da amostra, ii) a amplificação está dentro do limiar de detecção (Ct) da curva padrão, iii) o ponto de fusão do produto se encontra na mesma faixa de temperatura das amostras padrão (Leung et al. 2017). No caso de uma mesma amostra testar positiva em uma replicata e negativa em outra, essa amostra pode ser testada novamente em outra reação (Brunner et al. 2019) ou ser considerada negativa (Leung et al. 2017). Além disso, quando se utiliza a técnica de qPCR para a quantificação

do DNA genômico nas amostras, a eficiência da reação deve estar entre 90 e 110 %, e pode ser calculada a partir da fórmula:

*Eficiência = (10 (- 1/slope)-1) * 100.*

Abaixo, apresentamos alguns dos protocolos mais comumente utilizados para cada um destes dois ensaios (SYBR Green e TaqMan).

ENSAIO SYBR GREEN

Essa técnica consiste na captação da fluorescência produzida pelo corante SYBR Green durante a reação de qPCR. Esse corante se liga de forma inespecífica às moléculas de DNA e à medida em que as fitas duplas são amplificadas, a fluorescência é emitida. A vantagem dessa técnica é o custo da reação, pois o corante SYBR Green é mais barato do que as sondas utilizadas em reações com TaqMan (descritas abaixo). Por outro lado, a desvantagem é que o corante SYBR Green se liga a qualquer molécula de DNA e, portanto, os *primers* utilizados para amplificar o DNA alvo devem ser desenhados com precisão para evitar falsos positivos.

A seguir, descrevemos um dos protocolos utilizados para a detecção de *Ranavirus* a partir do uso do SYBR Green (Jaramillo et al. 2012). Este protocolo utiliza o reagente QuantiTect SYBR Green Master Mix Kit da Qiagen® e *primers* com região alvo de 94 pb do gene viral MCP (Tab. 3). Porém, vale ressaltar que existem reagentes fabricados por outras empresas (e.g., Thermo Fisher Scientific) que podem ser utilizados na técnica com SYBR Green, assim como outros *primers* podem ser desenhados de acordo com a região alvo de interesse do pesquisador.

Para cada reação descrita neste protocolo utilizam-se 12.5 µL do reagente SYBR Green Master Mix, 12.5 pmol de cada *primer*, 2.5 µL da amostra de DNA e completa-se com água livre de nuclease até o volume final de 22.5 µL. As condições de termociclagem são: 95 °C por 15 minutos para ativar o reagente e iniciar a desnaturação do DNA, seguido por 40 ciclos de desnaturação a 95 °C por 30 segundos, anelamento a 58 °C por 30 segundos e extensão à 72 °C por 30 segundos. Uma curva padrão constituída por amostras em diluições seriadas de 1:10 com quantidade de cópias virais conhecidas nas concentrações entre 10^0 e 10^6 deve ser incluída em duplicata (ou triplicata) em cada ensaio.

ENSAIO TAQMAN

Aqui apresentamos três protocolos para detecção de *Ranavirus* em amostras a partir do ensaio com TaqMan. Cada protocolo descrito abaixo apresenta vantagens e desvantagens em relação aos outros, que serão consideradas em cada tópico (ver também Tab. 1).

Protocolo de Allender et al. (2013) com modificações (Candido & Sousa 2018)

Esse protocolo foi inicialmente desenvolvido por Allender et al. (2013) para detectar e quantificar o vírus em tartarugas (*Terrapene carolina carolina*) e, recentemente, adaptado por Candido & Sousa (2018) para a detecção do Rv em peixes. Esse protocolo foi também validado para a detecção de *Ranavirus* infectando anfíbios em ambientes naturais no Brasil (Ruggeri et al. 2019). Aqui, nós testamos o protocolo modificado (Candido & Sousa 2018) com dois reagentes, ambos sendo bem sucedidos no ensaio: Platinum® quantitative PCR SuperMix-UDG com adição do ROX Reference Dye (diluição 1:10) e TaqMan® Universal PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific), e apresentamos algumas considerações sobre o protocolo. Uma vez que existem diferentes linhagens de *Ranavirus* distribuídas globalmente, é importante destacar que o protocolo foi eficiente na amplificação de linhagens norte americanas (Allender et al. 2013) e brasileiras (Ruggeri et al. 2019) tanto em peixes quanto em girinos e com diferentes reagentes (esse trabalho; Tab. 2). Esse protocolo utiliza uma sonda fluorescente, que permite a quantificação do DNA alvo em cada amostra (Tab. 3).

Neste protocolo, o DNA extraído das amostras deve ser diluído na concentração de 7.5 ng/µL. Deverão ser incluídos uma amostra positiva na mesma concentração (7.5 ng/µL) e uma amostra controle, com adição de água no lugar do DNA (NTC – non-template control), ambos em duplicata. Pode-se adicionar BSA (albumina de soro bovino) à reação para reduzir a ação de inibidores de PCR e, portanto, diminuir a possibilidade de falsos negativos no ensaio (Garland et al. 2010). No caso de não se utilizar o BSA, substituir a mesma quantidade por água livre de nucleases. A quantidade de cada reagente por reação se encontra na Tab. 2. A ciclagem empregada no protocolo compreende um ciclo à 50 °C por 2 minutos (incubação da UDG/UNG) para evitar contaminação com produto de PCR de ensaios anteriores, seguido por uma incubação a 95 °C por 10 minutos para desnaturação inicial e ativação da DNA polimerase, e 40 ciclos a 95 °C por 15 segundos e 60 °C por um minuto.

Esse é um protocolo simples uma vez que não é necessário utilizar uma curva padrão para cada ensaio, desde que as amostras estejam na concentração de 7.5 ng/µL. Por outro lado, deve-se atentar que cada ensaio apresenta características próprias, como erro de pipetagem, possíveis variações na temperatura do termociclador de diferentes marcas, e o uso de reagentes mais ou menos novos, por exemplo.

Tabela 2. Volume de cada reagente por reação. O corante ROX (6-carboxy-X-rhodamine) deverá ser substituído por água ultrapura ou BSA (albumina de soro bovino) quando esse pigmento de referência passiva estiver presente no reagente escolhido. O mix de reação deve ser calculado com 10% de volume a mais para cada amostra para considerar possíveis erros de pipetagem. Protocolo baseado em Allender et al. (2013).

Reagente	**Volume**	**Reagente**	**Volume**
Platinum® quantitative PCR SuperMix-UDG	12.5 µL	TaqMan® Universal PCR Master Mix	12.5 µL
Água ultrapura	7.75 µL	Água MiliQ	7.75 µL
Primer senso a 10 µM	1.0 µL	*Primer* senso a 10 µM	1.0 µL
Primer anti-senso a 10 µM	1.0 µL	*Primer* anti-senso a 10 µM	1.0 µL
Sonda fluorescente a 10 µM	0.25 µL	Sonda fluorescente a 10µM	0.25 µL
ROX (diluído 1:10)	0.5 µL	BSA (400 ng/µL)	0.5 µL
DNA amostra (7.5 ng/µL)	2.0 µL	DNA amostra (7.5 ng/µL)	2.0 µL
Volume total por reação	**25 µL**	**Volume total por reação**	**25 µL**

Tabela 3. Lista de alguns *primers* e sondas fluorescentes conhecidos para amplificação de fragmentos da região MCP (proteína principal do capsídeo) dos vírus pertencentes ao gênero *Ranavirus*. Para cada *primer* e sonda é indicada a técnica molecular utilizada e o número de pares de bases (pb) amplificados.

***Primer* / sonda**	**Sequência de nucleotídeos (5' – 3')**	**MCP**	**Técnica**	**Referência**
Primer senso	ATGTCTTCTGTAACTGGTTCA	1483 pb	PCR convencional	Mazzoni et al. 2009
Primer anti-senso	AAAGACCCGTTTTGCAGCAAAC			
Primer senso	GACTGACCAACGCCAGCCTTAACG3	94 pb	qPCR: ensaio SYBR Green	Jaramillo et al. 2012
Primer anti--senso	GCGGTGGTGTACCCAGAGTTGTCG3			
Primer senso	AACGCCGACCGAAAACTG	54 pb	qPCR: ensaio TaqMan	Allender et al. 2013
Primer anti-senso	GCTGCCAAGATGTCGGGTAA			
Sonda	6FAM-CCGGCTTTCGGGC-MGB-NFQ			
Primer senso	ACACCACCGCCCAAAA GTAC	70 pb	qPCR: ensaio TaqMan	Warne et al. 2016
Primer anti--senso	CCGTTCATGATGCGGATAATG			
Sonda	FAM-CCTCATCGTTCTGGCCATCAACCAC -TAMRA			
Primer senso	GTCCTTTAACACGGCATACCT	97 pb	qPCR: ensaio TaqMan	Leung et al. 2017
Primer anti--senso	ATCGCTGGTGTTGCCTATC			
Sonda	VIC-TTATAGTAGCCTRTGCGCTTGGCC-MGB-NFQ			

Protocolo de Leung et al. (2017)

Esse protocolo utiliza reagentes TaqMan e envolve uma etapa de quantificação de cópias virais na amostra e uma etapa de quantificação de células do hospedeiro na mesma amostra. Para a elaboração desse protocolo, Leung et al. (2017) utilizaram sequências do MCP depositadas no GenBank das principais linhagens de Rv associado aos anfíbios (AARV) para desenhar os *primers* e a sonda que pudessem amplificar fragmentos de DNA de todas as linhagens de Rv desse grupo (Tab. 3). Os autores utilizaram uma sequência de nucleotídeos da região não codificante de proteína ultra conservada entre vertebrados denominada EBF3N (UCNE id: 8107; Dimitrieva & Bucher 2013), para desenhar os *primers* e a sonda para amplificação do DNA da célula hospedeira.

A primeira etapa do protocolo consiste em identificar e quantificar as amostras infectadas com *Ranavirus* a partir do qPCR. Para isso, utilizam-se *primers* para a amplificação da região MCP dos Rv e sonda fluorescente específica (Tab. 3). A segunda etapa deste protocolo consiste na reação de qPCR utilizando as amostras que testaram positivas para a presença do DNA genômico do vírus no primeiro ensaio de qPCR, utilizando marcadores para a amplificação da região não codificante do vertebrado hospedeiro (*primer* senso ATGCTGCAATTCAAACTGTCAG, *primer* anti-senso CAGTAAGCAAAATKGGGAAGAAGC, e sonda FAM-CACTGGTTTGCTCAGGGATA-MGB-NFQ). O protocolo de termociclagem aplicado nas duas etapas é idêntico e consiste em 2 minutos à 50 °C, seguido de 10 minutos à 95 °C, e 50 ciclos de 15 segundos à 95 °C e 30 segundos à 60 °C. Após os resultados dos dois qPCRs, é feita a normalização a partir da seguinte fórmula (para cada amostra), levando em consideração a quantidade de cromossomos do hospedeiro (ploidia):

$$\textit{Número de cópias virais} = \frac{(\textit{Número de cópias MCP} * \textit{Ploidia do hospedeiro})}{(\textit{Número de cópias EBF3N})}$$

Assim, a vantagem desse protocolo é a possibilidade de se fazer comparações entre a infecção por Rv em diversos hospedeiros devido à normalização dos dados baseado na quantidade de cópias virais encontradas por célula do hospedeiro. Por outro lado, o custo desse protocolo é alto, pois envolve o uso duas sondas fluorescentes diferentes, que é um dos reagentes mais caros das reações de qPCR (Tab. 1).

MÉTODOS *POST-MORTEM*: HISTOPATOLOGIA

Consiste em analisar amostras de tecido do animal com infecção suspeita ou comprovada a partir de técnicas histológicas padronizadas. Essas técnicas são utilizadas de forma complementar ao uso de técnicas moleculares de detecção do patógeno, e auxiliam na comprovação da doença nos animais infectados (Mazzoni et al. 2009; Miller et al. 2015).

Durante a coleta de animais com suspeita de infecção por Rv, sugere-se coletar amostras de tecidos, preferencialmente fígado, baço e rim, e congelar para futura detecção utilizando as técnicas moleculares descritas acima (PCR ou qPCR). Réplicas dos mesmos tecidos devem ser fixadas em formaldeído a 10% e processadas para histologia (i.e., inclusão em parafina ou resina, secção e coloração do material). A secção do material em parafina ou resina deve ser realizada serialmente e idealmente com espessura de 7 µm, para posterior preparação das lâminas, que podem ser coradas usando o método da Hematoxilina e Eosina (HE), e analisadas utilizando microscópio óptico (Greer et al. 2005; Miller et al. 2015). No entanto, identificar alterações celulares causadas pelo Rv é desafiador e requer treinamento, especialmente nos casos de infecções concomitantes com outros patógenos (Miller et al. 2015). Assim, esse método é idealmente utilizado para confirmar a morte por Rv, porém não é adequado para a detecção do patógeno.

DETECÇÃO DO RV NO AMBIENTE (EDNA)

A detecção de DNA livre no ambiente, conhecido como DNA ambiental (eDNA), tornou-se uma ferramenta eficiente para monitorar patógenos nos ambientes onde os hospedeiros vivem sem a necessidade da amostragem do animal (Julian et al. 2019; Miaud et al. 2019). A presença do *Ranavirus* em ambientes aquáticos pode ser investigada ao filtrar a água do ambiente aquático utilizando membranas de celulose de 0.45 µm para reter o vírus e, em seguida, extraindo-se o DNA retido nessa membrana para posterior análise molecular utilizando os protocolos de detecção descritos acima. Essa técnica já se mostrou importante na detecção da presença do Rv na água que transporta animais para exportação (Kolby et al. 2014), assim como em ambientes naturais (Miaud et al. 2019; Vilaça et al. 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Cada uma das técnicas apresentadas têm maior ou menor capacidade de detecção de Rv nas amostras (Forzán & Wood 2013; Miller et al. 2015), sen-

do aquelas provenientes do fígado com resultados superiores a outros tipos de amostras, principalmente no diagnóstico molecular (von Essen et al. 2020). Porém, quando o acesso só é possível em animais vivos, inviabilizando a amostragem de órgãos, indicamos a coleta de múltiplas amostras (como sangue, secreções, falanges e caudas) em conjunto, sempre que possível, para aumentar a confiabilidade dos resultados (Miller et al. 2015). Por outro lado, a detecção desse patógeno ainda não é comum em estudos com a herpetofauna brasileira. Portanto, sugerimos que estudos de detecção de Rv no Brasil sejam iniciados visando uma melhor compreensão da distribuição do vírus e das relações entre o patógeno e os hospedeiros. Além disso, vale ressaltar que o Rv é um patógeno de notificação obrigatória para o OIE e MAPA devido à sua rápida propagação e alta letalidade. Uma vez que a doença causada por esse vírus pode apresentar sinais clínicos evidentes (Miller et al. 2015), é importante separar o indivíduo que apresenta tais sinais da população (i.e., coleta do indivíduo) e investigar a população e os ambientes aquáticos daquela área (Miaud et al. 2019).

Assim, esta revisão de protocolos para a identificação de Rv em hospedeiros e no ambiente pode servir para incentivar estudos no Brasil. Uma vez que esse vírus pode representar mais um problema de conservação relevante e que ainda não foi amplamente abordado, destacamos a importância de incluir a triagem para o Rv nos próximos estudos realizados no Brasil, principalmente aqueles relacionados com a herpetofauna endêmica ou ameaçada.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Roseli Coelho e dois revisores anônimos pelas sugestões. O presente trabalho foi realizado com o apoio dos processos FAPESP #2012/08846-3, #2016/21357-2, #2016/25358-3, #2017/01718-3, #2017/01917-6 e #2019/06938-7, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), do processo CNPq #300896/2016-6, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Capes) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

Allender M.C., Bunick D., Mitchell M.A. 2013. Development and validation of TaqMan quantitative PCR for detection of frog virus 3-like virus in eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*). *Journal of virological methods* 188:121–125.

Brunner J.L., Olson A.D., Rice J.G., Meiners S.E., Le Sage M.J., Cundiff

J.A., ... Pessier A.P. 2019. *Ranavirus* infection dynamics and shedding in American bullfrogs: consequences for spread and detection in trade. *Diseases of Aquatic Organisms* 135:135–150.

Bryan L.K., Baldwin C.A., Gray M.J., Miller D.L. 2009. Efficacy of select disinfectants at inactivating *Ranavirus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 84:89–94.

Candido M., Sousa R.L.M. 2018. Aspectos celulares e moleculares da ranavirose experimental em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Ph.D. Dissertation, Universidade de São Paulo, Brasil.

Candido M., Tavares L.S., Alencar A.L.F., Ferreira C.M., Queiroz S.R.A., Fernandes A.M., Sousa R.L.M. 2019. Genome analysis of *Ranavirus frog virus 3* isolated from American Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in South America. *Scientific Reports* 9:17135.

Chinchar G.V. 2002. *Ranavirus*es (family Iridoviridae): emerging cold-blooded killers. *Archives of Virology* 147:447–470.

Dimitrieva S., Bucher P. 2013. UCNEbase - a database of ultraconserved non-coding elements and genomic regulatory blocks. *Nucleic Acids Research* 41(D1):D101-D109.

Duffus A.L.J., Waltzek T.B., Stöhr A.C., Allender M.C., Gotesman M., Whittington R.J., ... Marschang R.E. 2015. Distribution and host range of ranaviruses. Pp 9–57 in Gray M.J., Chinchar V.G. (Eds), *Ranavirus*es: lethal pathogens of ectothermic vertebrates. Springer. New York.

Forzán M.J., Wood J. 2013. Low detection of ranavirus DNA in wild postmetamorphic green frogs, *Rana (Lithobates) clamitans*, despite previous or concurrent tadpole mortality. *Journal of Wildlife Diseases* 49:879–86.

Galli L., Pereira A., Márquez A., Mazzoni R. 2006. *Ranavirus* detection by PCR in cultured tadpoles (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) from South America. *Aquaculture* 257:78–82.

Garland S., Backer A., Phillott A.D., Skerratt L.F. 2010. BSA reduces inhibition in a TaqMan® assay for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 92:113–116.

Goodman R.M., Miller D.L., Ararso Y.T. 2013. Prevalence of ranavirus in Virginia turtles as detected by tail-clip sampling versus oral-cloacal swabbing. *Northeastern Naturalist* 20:325–332.

Gray M.J., Miller D.L., Hoverman J.T. 2012. Reliability of non-lethal sur-

veillance methods for detecting ranavirus infection. *Diseases of Aquatic Organisms* 99:1–6.

Greer A.L., Berrill M., Wilson P.J. 2005. Five amphibian mortality events associated with ranavirus infection in south central Ontario, Canada. *Diseases of Aquatic Organisms* 67:9–14.

Jancovich J.K., Qin Q., Zhang V.G. 2015. *Ranavirus* replication: molecular, cellular, and immunological events. Pp 105–139, in Gray M.J., Chinchar V.G. (Eds), *Ranavirus*es: lethal pathogens of ectothermic vertebrates. Springer. New York.

Jaramillo D., Tweedie A., Becker J.A., Hyatt A., Crameri S., Whittington R.J. 2012. A validated quantitative polymerase chain reaction assay for the detection of ranaviruses (Family Iridoviridae) in fish tissue and cell cultures, using EHNV as a model. *Aquaculture* 356:186–192.

Julian J.T., Glenney G.W., Rees C. 2019. Evaluating observer bias and seasonal detection rates in amphibian pathogen eDNA collections by citizen scientists. *Diseases of Aquatic Organisms* 134:15–24.

Kolby J.E., Smith K.M., Berger L., Karesh W.B., Preston A., Pessier A.P., Skerrat L.F. 2014. First Evidence of Amphibian Chytrid Fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*) and Ranavirus in Hong Kong Amphibian Trade. *PLoS One* 9:e90750.

Leung W.T., Thomas-Walters L., Garner T.W., Balloux F., Durrant C., Price S.T. 2017. A quantitative-PCR based method to estimate *Ranavirus* viral load following normalization by reference to an ultraconserved vertebrate target. *Journal of Virological Methods* 249:147–155.

Mao J., Hedrick R.P., Chinchar V.G. 1997. Molecular characterization, sequence analysis, and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses. *Virology* 229:212–220.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2020. Eletronic Database acessível em *http://www.defesaagropecuaria.al.gov.br/sanidade-animal/FORM%20NOTIFICA%20e%20Instrutivo.pdf*.

Mazzoni R., Mesquita A.J., Fleury L. F.F., Brito W.M.E.D., Nunes I.A., Robert J., ... Catroxo M.H.B. 2009. Mass mortality associated with a virus 3-like *Ranavirus* infection in farmed tadpoles *Rana catesbeiana* from Brazil. *Diseases of Aquatic Organisms* 86:181–191.

Miaud C., Arnal V., Poulain M., Valentini A., Dejean T. 2019. eDNA increases

the detectability of ranavirus infection in an alpine amphibian population. *Viruses* 1:526.

Miller D.L., Pessier A.P., Hick P., Whittington R.J. 2015. Comparative pathology of ranaviruses and diagnostic techniques. Pp 171–208 in Gray M.J., Chinchar V.G. (Eds), *Ranavirus*es: lethal pathogens of ectothermic vertebrates. Springer. New York.

Pallister J., Gould A., Harrison D., Hyatt A., Jancovich J., Heine H. 2007. Development of real-time PCR assays for the detection and differentiation of Australian and European ranaviruses. *Journal of Fish Diseases* 30:427–438.

Pessier A.P., Mendelson J.R. 2010. A manual for control of infectious diseases in amphibian survival assurance colonies and reintroduction programs. IUCN/SSC Captive Breeding Specialist Group, Apple Valley, MN.

Price S.J., Garner T.W.J., Cunningham A.A., Langton T.E.S., Nichols R.A. 2016. Reconstructing the emergence of a lethal infectious disease of wildlife supports a key role for spread through translocations by humans. *Proceedings of the Royal Society B* 283:20160952.

Ruggeri J., Ribeiro L.P., Pontes M.R., Toffolo C., Candido M., Carriero M.M., ... Toledo L.F. 2019. Discovery of wild amphibians infected with *Ranavirus* in Brazil. *Journal of Wildlife Diseases* 55:897–902.

Schloegel L.M., Picco A.M., Kilpatrick A.M., Davies A.J., Hyatt A.D., Daszak P. 2009. Magnitude of the US trade in amphibians and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and *Ranavirus* infection in imported North American Bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Biological Conservation* 142:1420–1426.

Shaw G. 1802. General Zoology or Systematic Natural History (Volume III, Part 1). Amphibia, Thomas Davison, London.

Vilaça S.T., Grant S.A., Beaty L., Brunetti C.R., Congram M., Murray D.L., Wilson C.C., Kyle C.J. 2020. Detection of spatiotemporal variation in ranavirus distribution using eDNA. *Environmental DNA* 2:210–220.

von Essen M., Leung W.T.M., Bosch J., Pooley S., Ayres C., Price S.J. 2020. High pathogen prevalence in amphibian and reptile assemblage at a site with risk factors for dispersal in Galicia, Spain. *PLoS One* 15:e0236803.

Warne R.W., LaBumbard B., LaGrange S., Vredenburg V.T., Catenazzi A. 2016. Co-infection by chytrid fungus and *Ranavirus*es in wild and harvested frogs in the tropical Andes. *PLoS One* 11:e0145864.

Editor: Alexandro Tozetti



Bolitoglossa caldwellae
Tarauacá, AC
@Ubiratã Souza



Ceratophrys cornuta
Resex do Baixo Juruá - Juruá, AM
@Raíssa do N. Rainha

Herpetologia Segundo as Herpetólogas: A breath of female representation in Brazilian science

Beatriz Diogo Vasconcelos[1*], Ana Paula Vitoria Costa-Rodrigues[2], Anna Virginia Albano de Mello[3], Carla Santana Cassini[4], Clara Araújo Salvino[3], Daniela Gennari Pires de Toledo[5], Jéssica Fenker[6,7], Jessica Albuquerque Pereira[8], Laura Rodrigues Vieira de Alencar[9], Lucy Gomes de Souza[10], Marcélia Basto da Silva[11], Natália Ferreira Torello-Viera[12], Natália Rizzo Friol[13], Sarah Mângia[1], Tainara de Alencar[14], Yasmim Caroline Mossioli de Souza[15], Daniella Pereira Fagundes de França[5]

1 Laboratório de Sistemática e Biogeografia de Anfíbios e Répteis - Mapinguari, Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900 Campo Grande, MS, Brazil. *beatrizdiogov@gmail.com*; *sarahmangia@yahoo.com.br*

2 Laboratório de Herpetologia, Museu Paraense Emílio Goeldi, 66077-830 Belém, PA, Brazil. *anapv.bio2@gmail.com*

3 Laboratório de Herpetologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil. *annabioufpe@gmail.com*; *laraclara0812@gmail.com*

4 Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Campus Soane Nazaré de Andrade, 45662-900 Ilhéus, BA, Brazil. *carlacassini@gmail.com*

5 Laboratório de Herpetologia, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, 04266-000 São Paulo, SP, Brazil. *danigennari@gmail.com*; *df.moojeni@gmail.com*

6 Division of Ecology and Evolution, Australian National University, Canberra, Australian Capital Territory, Australia. *jehfenker@gmail.com*

7 Atlas of Living Australia, CSIRO - Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, 2601 Canberra, Australian Capital Territory, Australia. *jehfenker@gmail.com*

8 Laboratório de História Natural de Anfíbios e Répteis, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, 30535-901 Belo Horizonte, MG, Brazil. *jessicaalbuquerque89@gmail.com*

9 Department of Biological Sciences, Price Lab, Clemson University, 29634 Clemson, South Carolina, USA. *alencarlrv@gmail.com*

10 Museu da Amazônia, 69088-265 Manaus, AM, Brazil. *souzalucyg@gmail.com*

11 Departamento de Biologia, Centro de Educação Aberta e a Distância, Universidade Federal do Piauí, 64001-280 Teresina, PI, Brazil. *bastomarcelia@gmail.com*

12 Laboratório de Ecologia e Evolução, Instituto Butantan, 05503-900 São Paulo, SP, Brazil. *nataliaftv.herpy@gmail.com*

13 Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, 05508-090 São Paulo, SP, Brazil. *nrfriol@gmail.com*

14 Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo 29500-000 Alegre, ES, Brazil. *taih_alencar@hotmail.com*

15 Programa de Pós-graduação em Biodiversidade, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 15054-000 São José do Rio Preto, SP, Brazil. *mossioli.souza@unesp.br*

*Corresponding author: E-mail: *beatrizdiogov@gmail.com*

DOI: *10.5281/zenodo.5211411*

ABSTRACT

Scientific dissemination plays a fundamental role in establishing the dialogue between science and the scientist with the citizen. The 'Herpetologia Segundo as Herpetólogas' (H2H; English translation – Herpetology According to Women Herpetologists) initiative appears in a scenario where women are not recognized or encouraged in Science, Technology, Engineering, and Mathematics - STEM, feeling insecure and intimidated in their academic career. These feelings often impair women's career continuity. In addition, gender gap in Brazilian herpetological community reflects unconscious perceptions of sexist stereotypes and the lack of references or role models. At the same time that the gender gap in STEM is a hot topic of discussion, Brazilian government is threatening progress of science in the country. There is a need to develop actions to disseminate research on herpetology and educate the population on the Brazilian herpetofauna (amphibians and reptiles). When the role of women herpetologists is promoted, it generates greater representation so that young researchers, women, and other transfeminine minorities feel encouraged to dedicate themselves to science. To this end, the H2H initiative promotes research and other initiatives that involve the participation of at least one Brazilian herpetologist and elaborates several social media posts with themes on environmental education and herpetofauna. These publications have a colloquial and didactic character accessible to a diverse audience but always maintaining scientific rigor. The popularization of studies in herpetology and the reduction of prejudice against herpetofauna in Brazil, in addition to the reduction of gender bias in science, can lead to increased diversity in research groups and contribute to more effective and inclusive science.

INTRODUCTION

The Instituto Nacional de Comunicação Pública da Ciência e Tecnologia – INCT-CPCT (National Institute of Public Communication of Science and Technology, in English) conducted a survey to summarize the opinions of young Brazilians (15 to 24 years old) regarding science and technology, including their perceptions of fake news, and how they access general knowledge (INCT-CPCT 2019). They found that science and technology is the third most relevant topic of interest under a wide range of themes, such as religion, sports, and politics, suggesting that this audience has a great interest in the theme (INCT-CPCT 2019). However, being interested does not necessarily equate to being informed about a given

subject. The same study showed that 93% of the young people interviewed reported not remembering the name of any Brazilian scientist, and 87% could not name any national research institution. This lack of knowledge is especially worrying when 68% of the respondents reported difficulty in identifying whether science-related news is trustworthy or not (INCT-CPCT 2019). However, this result is not surprising since Brazil is the country that most prolifically uses social media across Latin America, with primary access via mobile devices (Dourado 2019).

Even though the use of social media for science communication has grown considerably in recent years, there is still a distinct lack of scientists engaged in outreach activities on social media (Massarani & Moreira 2016). The increased consumption of scientific content by the non-specialized public during the COVID-19 pandemic made the engagement of Brazilian scientists with science communication an urgent matter (Chagas & Massarani 2020). Scientific dissemination relies on the active and continuous contact of the scientific culture-sphere with the citizen (Lima et al. 2016) and, consequently, with the greater engagement of the society in issues that deal with science and technology critically and reflectively (Cabral & Perreira 2011). The scientific dissemination work encompasses, among others, activities developed in institutions and the production of content for social media (Adabo 2017). Similar to academia in general, science communication has a historically patriarchal structure that favors cisnormative male scientists (Holman et al. 2018; Astegiano et al. 2019), facing dilemmas in representativeness, with few women[1] taking positions in outreach activities (Pupo et al. 2017; Astegiano et al. 2019). Fortunately, this scenario has shown significant progress in the last decade, with growing representation and participation of women in the fields of Science, Technology, Engineering, and Math – STEM (Holman et al. 2018; Shannon et al. 2019). Yet, the expressive performance of women in scientific dissemination has not been followed by their due recognition. An example is the Prêmio José Reis de Divulgação Científica (José Reis Award for Scientific Dissemination, in English), the most renowned accolade in this area, which has only been awarded to six women in the previous 40 editions, showing an evident male prevalence (Adabo 2017).

1 We would like to emphasize that, throughout the text, when we use the term woman/women, we include all cisgender women, transgender women, non-binary transfeminine persons, women of all races and ethnicities. And when we use the term male/man it refers to cis men. We have not changed the term used in the publications we cite in the text and we do not know whether the terms woman/women and male/man in these texts refers to the same audience that we have chosen to include under the same term. We also encourage other researchers to pay attention to the use of the term and to the public that they include in their research, as it is a common clipping error in the work of treating woman/women as only cisgender women.

The gender gap in academia represents a subject of growing discussion (Ceci & Williams 2011; O'Brien & Hapgood 2012; Shaw & Stanton 2012; Sheltzer & Smith 2014). When we look at the reality for transgender women, *travestis* (Brazilian term for exclusive gender of transfeminine persons, but not necessarily self-identified as a transgender woman), and other transfeminine individuals, the reality is challenging and require further studies. The gender difference regarding the entry and progression within academia is a reported problem to any transgender person that tries to surpass the oppressive barriers that exist in our society and consequently in the academic environment (Vergueiro 2016; Gibney 2019; O'Quinn & Fields 2020; Turney et al. 2020). Gender bias has also been documented in the Brazilian herpetology community (Carnaval 2016; Werneck et al. 2019), where stereotypes of vanity, emotional fragility, insecurity, and lack of physical strength are used as arguments to discourage women from collecting data in the field. Although many women start their studies and scientific careers in herpetology, their scientific progression and persistence are affected by several factors, possibly related to implicit judgment bias involving academic and social spheres (Buckles 2019; Werneck et al. 2019; Montesinos et al. 2021). Unequal opportunities, lack of representation in certain areas, and motherhood are among the main factors responsible for the non-permanence or challenges to the progression of women in this profession (Benício & Fonseca 2019; Cyriac et al. in press; Mohan & Dharwadkar, 2021). This phenomenon of specific groups abandoning careers along their professional path is called "the leaky pipeline" (Pell 1996). Still, women's scientific production has been strongly negatively impacted, especially compared to men, during the COVID-19 pandemic, with even more severe impacts observed among black women (Parent in Science 2020).

In addition to the gender bias issue, science in Brazil is passing through a time of extreme hardship, with a dramatic reduction of science funding by the Brazilian government since 2016. Although scientific entities have spoken out against budget cuts, investment in science and technology has been halved (Petherick 2017; Leta et al. 2018; Barbosa 2019). The discontinuity and extinction of programs aimed at science, technology, and innovation call for the scientific community to take action and increase their dialogue with society. In response, a group of female scientists observed this need to disseminate the importance of studies in their working area and contribute to the conservation of reptiles and amphibians by raising society's awareness of environmental education. Additionally, there was a desire to highlight the excellent research conducted by Brazilian scientists in the field and promote greater female participation in Brazilian herpetology. That is how the Herpetologia Segundo as Herpetólogas – H2H (Herpetology According to Women Herpetologists, in English) was created. The H2H initiative was conceived by Daniella

França and founded in August 2018 along with six other female scientists. The team currently includes 9 participants working voluntarily, but another eight participants have previously been active in the initiative (Fig. 1). On May 27, 2021, the initiative had many followers on the H2H social media pages (8425 likes and 8636 followers on Facebook, 9766 on Instagram, 3580 on Twitter, but these numbers continue to grow). Different actions are developed to reach a broad audience, mostly taken via social media; by giving lectures and courses at schools, universities, and museums; and participating in scientific meetings. In addition, H2H shares scientific discoveries made by women, highlighting their performance in herpetology and academia in general. For example, 'Perereca Talks' are a series of interviews periodically held online where the public has the chance to meet with Brazilian women herpetologists. Thus, these events represent a moment to share information, inspiration, and humanization of science. The initiative also promotes awareness of human



Figure 1. The team of female herpetologists that work voluntarily in the Herpetologia Segundo as Herpetólogas (H2H) initiative. A - Beatriz Diogo Vasconcelos; B - Ana Paula Vitoria Costa-Rodrigues; C - Anna Virginia Albano de Mello; D - Carla Santana Cassini; E - Clara Araújo Salvino; F - Daniela Gennari Pires de Toledo; G - Jéssica Fenker; H - Herpetologia Segundo as Herpetólogas (H2H) initiative's logo; I - Jessica Albuquerque Pereira; J - Laura Rodrigues Vieira de Alencar; K - Lucy Gomes de Souza; L - Marcélia Basto da Silva; M - Natália Ferreira Torello-Viera; N - Natália Rizzo Friol; O - Sarah Mângia; P - Tainara de Alencar; Q - Yasmim Caroline Mossioli de Souza; R - Daniella Pereira Fagundes de França.

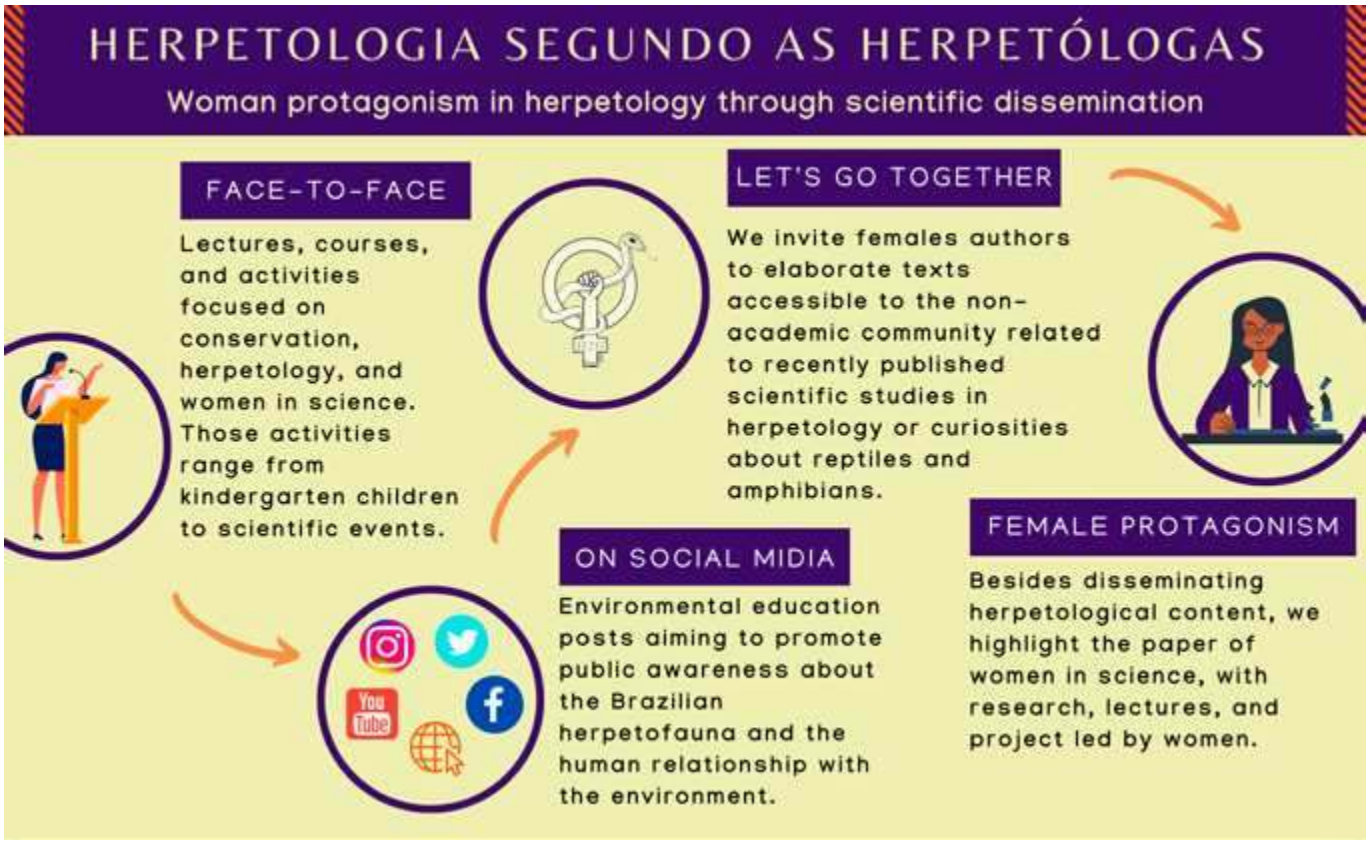


Figure 2. The main actions of Herpetologia Segundo as Herpetólogas (H2H) initiative.

actions around reptiles and amphibians. A summary of the main activities can be seen in Figure 2.

Aiming to better understand the audience, offer a space of support and visibility, and contemplate general interest in the initiative, four surveys were conducted – two in 2019 and two in 2020. All questionnaires were carried out through the Google Forms platform and shared on the H2H initiative's social media and other social networks (Whatsapp, Twitter, Instagram, and Facebook). The surveys were available for 15 days. It is important to note that during the first two attempts to conduct the online surveys, the transgender community was unconsciously unconsidered. In 2020, however, discussions related to transgender equity became more prominent, aiming to construct as equalitarian a scientific communication environment as possible.

The results obtained from the first questionnaire (62 respondents), which was applied only to female herpetologists, suggested that women are not comfortable expressing opinions on social media. This result is related to sexist attitudes. Many women reported having to even stop participating in discussion groups due to *machismo* (common and oppressive behavior of a society where culturally ingrained masculine pride resides; Bernal et al. 2019) and hostile behaviors.

The second questionnaire (58 respondents) was applied only to female herpetologists (mothers and non-mothers). From them, 43.1% reported that their academic career influenced their decision to become mothers, more than they thought they would have been influenced if they had chosen another profession. As a reflection, more than half of the interviewees (55.6%) chose not to have children (or at least not yet). Many women postpone plans to be mothers as they think it is not "the right time" yet, while others wait for a permanent position, which tends to happen only after the age of 30. Nevertheless, 82.6% believe that having children significantly impacts their careers than expected to affect men. Of the interviewed herpetologist mothers, 15.5% report that their academic productivity has decreased since they became mothers and 86% have heard or witnessed unpleasant comments about career-related motherhood. When asked whether there are incentives for women researchers and other professionals in herpetology who wish to be mothers to continue their careers, 36.8% answered no, and 45.6% believed that these incentives are starting to appear, albeit very slowly.

In the third survey (253 respondents), although most of the respondents (38.3%) do not consistently (e.g., every week) follow any scientific dissemination channel, the H2H initiative was found to be one of the most cited channels (4.3%). Among them, 79% reported that they use the channels of scientific dissemination out of curiosity, while 73% of this audience uses the channels to update their knowledge in preparation for classes, courses, and lectures. These data show that working with scientific dissemination on social media is essential to raise awareness among people regarding their environmental impacts.

The fourth and final questionnaire (481 respondents) showed that 45% of the initiative's audience are between 25 and 34 years old, and 32% between 18 and 24 years old, with varying education levels (elementary- and high- school, undergraduate, and graduate). Additionally, 69.2% of the audience was composed of women, 29.5% by men, and 0.2% classified themselves as queer/non-binary, 0.4% as fluid, and 0.6% chose not to answer. The survey participants use the H2H social media channels mostly to search for information and curiosities (65.7%), to help with questions (41.2%), and for fun (22%). In addition, participants mentioned that the initiative offers a collective space, visibility and helps in the search for professional contacts.

The dissemination of science plays an essential role in expanding the general population's knowledge. However, it is paramount to increase the visibility and voices of female references and improve gender equity to stem the unconscious perceptions of sexist stereotypes in Brazilian herpetology. Recognizing this scenario is essential to plan for change and allow more women and girls to feel encouraged to dedicate themselves to science. To achieve this, proposals to increase the representation of women in herpetology, such as

good practices and conduct in the workplace and inclusion of the maternity leave in the curriculum lattes (Werneck et al. 2019), will contribute to a better portrayal of these professionals in STEM."

FUTURE PLANS

The H2H initiative plans to increase face-to-face activities, such as lectures at educational institutions, to encourage girls, teenagers, and young women to pursue their interest in science, especially in herpetology. Another aim is to showcase the initiative at Brazilian and international scientific events, focusing on biology and education, as done during the Brazilian Congress of Herpetology in 2019. H2H's intends that these presentations inspire and encourage more scientists to create similar initiatives, both for the inclusion of women and other social minorities in science.

Another future goal is to expand educational activities, increase female representation in herpetology in all Brazilian states, and promote visits to local communities lacking education and inspirational professionals. There is also a plan to participate more actively in the teaching process, offering nature conservation and science communication courses to school teachers. This training will help school teachers promote educational activities (e.g., games and practical classes), such as creating a profile or channel on social media where students and teachers can publish scientific dissemination content and share their production process. They will be able to discuss content and have reliable and relevant sources. It is a particularly meaningful action that promotes the formation of citizens with critical thinking.

By sharing the collective experience of the H2H initiative, there is an intention to encourage other women to promote spaces of female protagonism in their fields. The hope is that H2H may inspire the development and champion of similar initiatives in other countries, starting an international and collaborative network of women and increasing the visibility of local scientists. We believe that these actions will also increase international research collaborations and contribute to reducing gender bias in the authorship of scientific papers and enhancing diversity in research groups.

Finally, H2H seeks to value activities in herpetology led by women who strive to build a future with gender equality in science. For that, the initiative warmly invites women in herpetology to contribute to the H2H social media channels, sharing their work, scientific findings, or whatever they want. We also welcome help and creative ideas for improving the H2H website as a space to share photos, research, and art related to herpetology, in order that it can be an effective tool for other researchers to communicate and enhance their research. The website also includes means to contact many women herpetologists across Brazil and abroad; monthly updates on scientific publications; suggestions of movies, books, and digital content related to biology, feminism, science for children, and,

of course, herpetology. H2H wants to continue showing that women can be the protagonists of their lives and careers, even (or especially!) if they dream of catching frogs, turtles, lizards, snakes, crocodiles, and do science. H2H enthusiastically encourages anyone to contact the initiative, either through email (*herpetologia2herpetologas@gmail.com*), social media (*@herpgirls* on *Twitter* and Facebook; *@herpetosegundoherpetologas* on Instagram), or by contacting any of the team members and invites everyone to visit the website (*https://herpeto2herpetologas.wixsite.com/-h2h*).

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank all those who encourage us to continue our fight for greater respect, visibility and equality in Science, Technology, Engineering, and Math (STEM) and who support our voluntary work on social networks. In addition, we would like to thank the women herpetologists, our fighting partners, who offer friendship and exchange of experiences in herpetology. Special thanks to Rebecca Laver for proofreading the manuscript.

REFERENCES

Adabo G.M. 2017. Divulgadoras de ciência no Brasil. Master's degree. Dissertation, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Astegiano J., Sebastián-González E., Castanho C.T. 2019. Unravelling the gender productivity gap in science: a meta-analytical review. *Royal Society Open Science* 6:181566. doi:*10.1098/rsos.181566*.

Barbosa R. 2019. A sabotagem da ciência brasileira entre 2016 e 2017. *Germinal: Marxismo e Educação em Debate* 11:74–87.

Benício R.A., Fonseca M.G. 2019. Women and Science: a portrait of herpetology in the state of Piauí. *Brazilian Journal of Biology* 79:755–757.

Bernal X.E., Rojas B., Pínto E.M.A., Mendoza-Henao A.M., Herrera-Montes A., Herrera-Montes M.I. ... Franco A.D.P. 2019. Empowering Latina Scientists. *Science* 363:825–826.

Buckles K. 2019. Fixing the leaky pipeline: Strategies for making economics work for women at every stage. *Journal of Economic Perspectives* 33:43–60.

Cabral C.G., Pereira G.R. 2011. Introdução aos estudos CTS - Ciência, Tecnologia e Sociedade I. EDUFRN, Natal.

Carnaval A.C. 2016. Breve reflexão sobre mulheres cientistas, e nossa representatividade na Sociedade Brasileira de Herpetologia. *Herpetologia Brasileira* 5:47–48.

Ceci S.J., Williams W.M. 2011. Understanding current causes of women's underrepresentation in science. *Proceedings*

of the National Academy of Sciences of the United States of America 108:3157–3162.

Chagas C., Massarani L. 2020. Manual de sobrevivência para divulgar ciência e saúde. FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

Clance P.R., Imes S. 1978. The Imposter Phenomenon in High Achieving Women: Dynamics and Therapeutic Intervention. *Psychotherapy Theory, Research and Practice* 15:1–8.

Cyriac V.P., Dharwadkar S., Mital A., Mohan A.V. 70 years of Herpetology in India: insights into shifts in focal research areas and gender ratios among authors. *Pacific Conservation Biology*. In press.

Dourado M. 2019. Brasil é o país que mais usa redes sociais na América Latina. Olhar Digital. Accessible at https://olhardigital.com.br/2019/07/05/noticias/brasil-e-o-pais-que-mais-usa-redes-sociais-na-america-latina/#:~:text=O%20Brasil%20%C3%A9%20o%20pa%C3%ADs,M%C3%A9xico%2C%20de%20aproximadamente%2080%25. Access: 08 January 2021.

Gibney E. 2019. Discrimination drives LGBT+ scientists to think about quitting. Nature. Accessible at https://www.nature.com/articles/d41586-019-02013-9. Access: 10 january 2021.

Holman L., Stuart-Fox D., Hauser C.E. 2018. The gender gap in science: How long until women are equally represented? *Plos Biology* 16:e2004956. doi: 10.1371/journal.pbio.2004956.

INCT-CPCT. 2019. O que os jovens brasileiros pensam da ciência e da tecnologia? FIOCRUZ. Rio de Janeiro.

Leta J., Araújo K.M., Guedes V.L.S. 2018. Ciência brasileira em crise: a ciência em rede como estratégia de enfrentamento. *Em questão* 24:1–6.

Lima B.S., De Santana Braga M., Tavares I. 2016. Participação das mulheres nas ciências e tecnologias: entre espaços ocupados e lacunas. *Revista Gênero* 16:11–31.

Massarani L., Moreira, I.C. 2016. Science communication in Brazil: A historical review and considerations about the current situation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 88:1577–1595.

Mohan A.V., Dharwadkar S. 2021. Women in Herpetology. Accessible at *https://sanctuarynaturefoundation.org/article/women-in-herpetology*. Access: 11 april 2021.

Montesinos R., Alencar T., Canedo C., Costa-Rodrigues A.P.V., Friol N.R., Jecke A.M....França D.P.F. 2021. Virando a Mesa: Trazendo as Mulheres para o Centro da produção e divulgação científica da Herpetologia brasileira. Pp. 25–37 in Toledo, L.F. (Org.) Herpetologia Brasileira Contemporânea. Sociedade Brasileira de Herpetologia, São Paulo.

O'Brien K.R., Hapgood K.P. 2012. The academic jungle: ecosystem modelling reveals why women are driven out of research. *Oikos* 121:999–1004.

O'Quinn J., Fields J. 2020. The future of evidence: Queerness in Progressive Visions of Sexuality Education. *Sexuality, Research and Social Policy* 17:175–187.

Parent in Science. 2020. Produtividade acadêmica durante a pandemia: Efeitos de gênero, raça e parentalidade. Accessible at *https://327b604e-5cf4-492b-910b-e35e2bc67511.filesusr.com/ugd/0b-341b_81cd8390d0f94bfd8fcd17ee6f29bc0e.pdf?index=true*. Access: 8 january 2021.

Pell A.N. 1996. Fixing the leaky pipeline: Women scientists in Academia. *Journal of Animal Science* 74:2843–2848.

Petherick A. 2017. Careers: Austerity bites deeply. *Nature* 548:249–251.

Pupo S.C., Oliveira T.M., Gomes E.F., Vieira R.M.B., Santos E.I., Piassi L.P.C. 2017. Ciência, tecnologia, mídia e igualdade de gênero. Revista Científica de Comunicação Social do Centro Universitário de Belo Horizonte 10:42–62.

Shannon S., Jansen M., Williams K., Cáceres C., Motta A., Odhiambo A. 2019. Gender equality in science, medicine, and global health: where are we at and why does it matter? *The Lancet* 393:560–569.

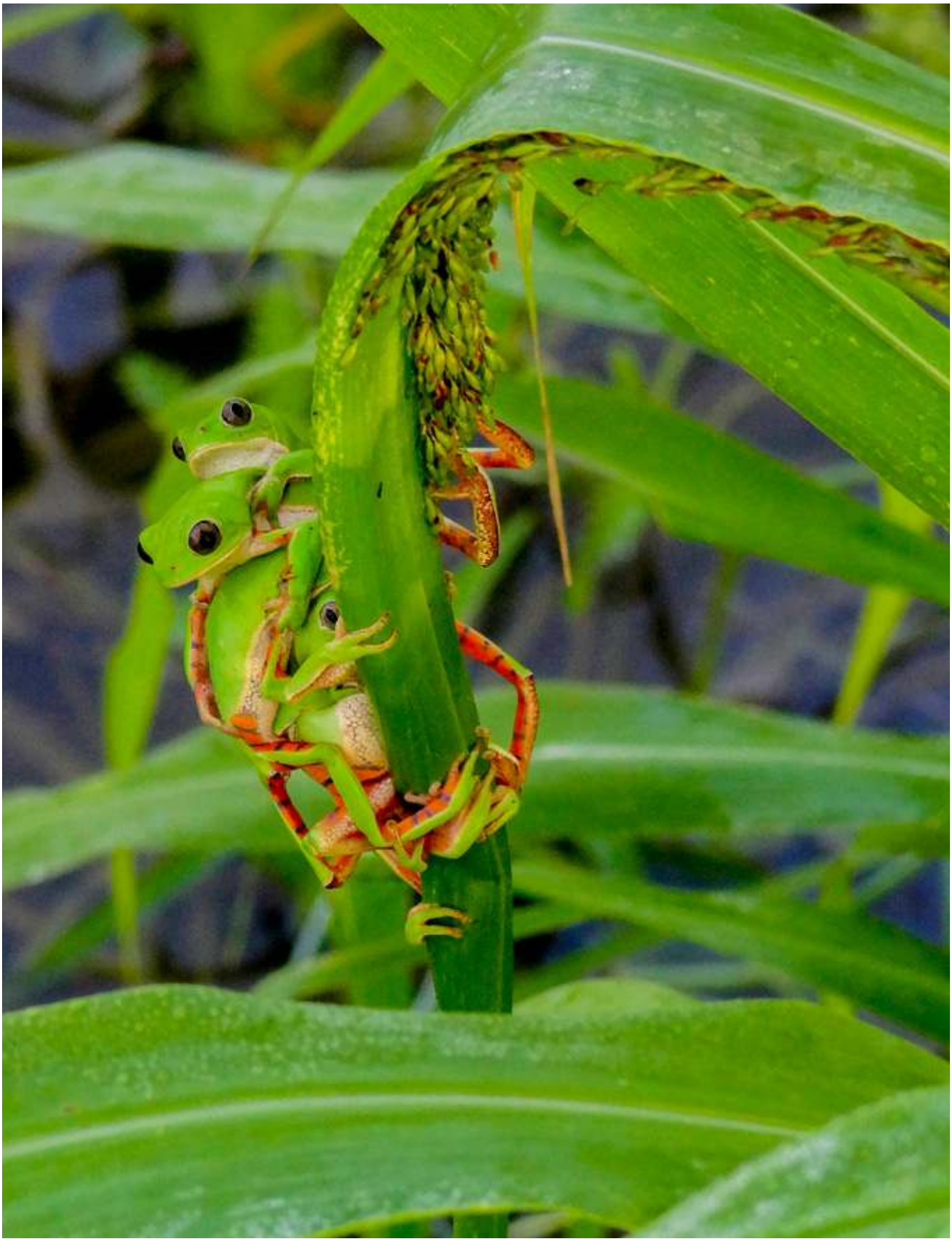
Shaw A.K., Stanton D.E. 2012. Leaks in the pipeline: separating demographic inertia from ongoing gender differences in academia. *Proceedings of the Royal Society B* 279:3736–3741.

Sheltzer J.M., Smith J.C. 2014. Elite male faculty in the life sciences employ fewer women. *PNAS* 111:10107–10112.

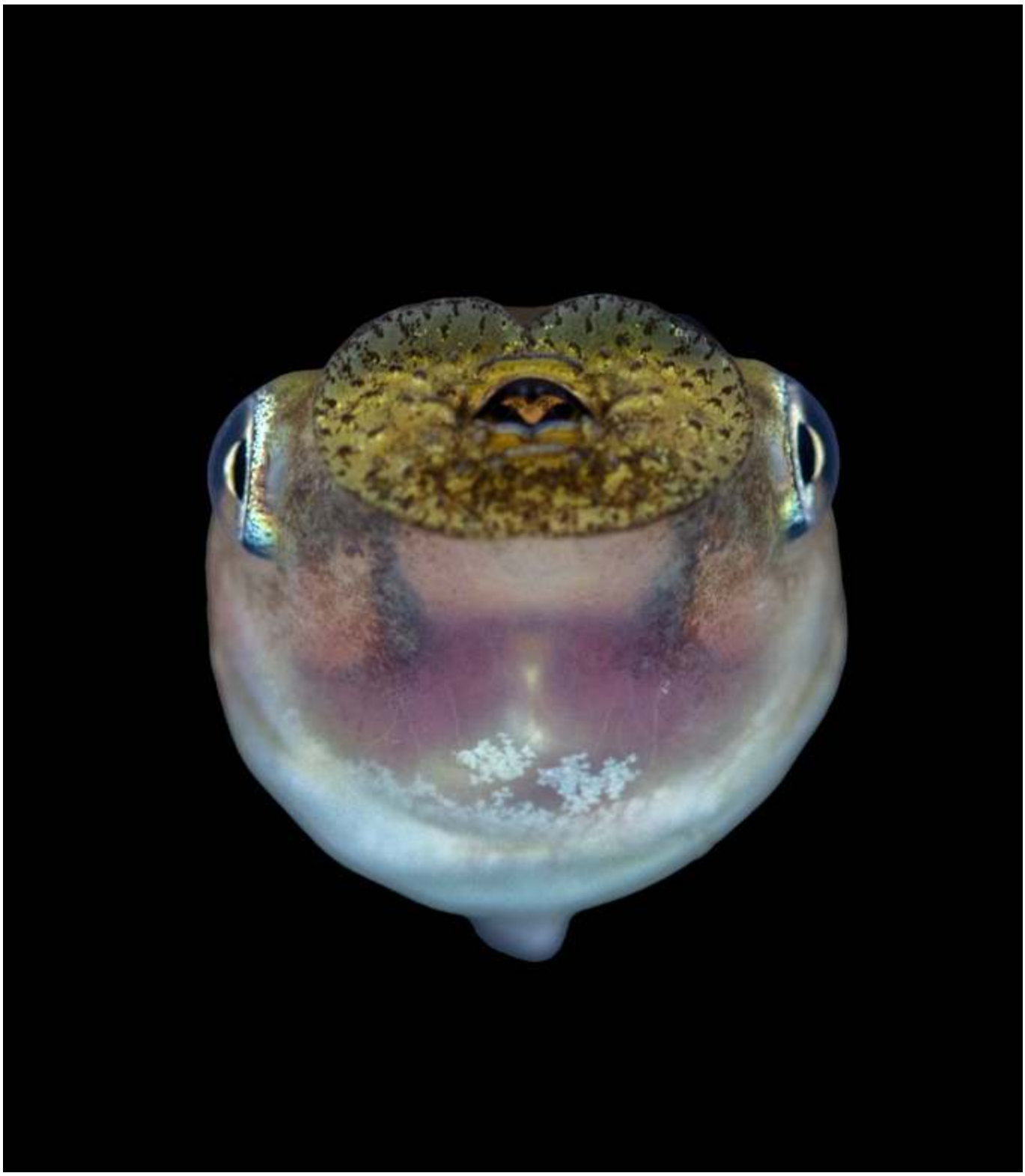
Turney S., Carvalho M.M., Sousa M.E., Birrer C., Cordeiro T.E.F., Diele-Viegas L.M.…Souza L. 2020. Support transgender scientists post-COVID-19. *Science* 369:1171–1171.

Vergueiro V. 2016. Pensando a cisgeneridade como crítica descolonial. Pp 249–270 in Messeder S., Castro M.G., Moutinho L. (Eds.), Enlaçando sexualidade: uma tessitura interdisciplinar no reino das sexualidades e das relações de gênero. EDUFBA. Salvador.

Werneck F.P., Jeckel A.M., Friol N.R., Toledo D.G.P., Targino M., Montesinos R.…Canedo C. 2019. Diagnóstico e propostas para ampliar a representatividade de pesquisadoras em Herpetologia no Brasil. *Herpetologia Brasileira* 8:36–43.



Pithecopus gonzagai
Groaíras, CE
@Carol Brasileiro



Phasmahyla jandaia
Rio Acima, MG
@Tiago Pezzuti

Resenhas

Edward O. Wilson. 2015. Cartas a um jovem cientista. Tradução: Rogério Galindo. 1ª edição. Companhia das Letras, São Paulo. 202 pp.

Quezia Ramalho

Laboratório de Ecologia de Paisagens, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 20550-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
E-mail: *queziaramalho@gmail.com*
DOI: *10.5281/zenodo.5211422*



Se você está pensando em desistir da sua carreira científica, você precisa ler esse livro para decidir se é o que realmente quer fazer.

Edward O. Wilson nasceu em 1929 no estado do Alabama, nos EUA, e é um renomado biólogo e entomologista. Professor da Universidade Harvard e ganhador de dois prêmios Pulitzer, o seu trabalho é mundialmente conhecido. É considerado o maior especialista em formigas do mundo e demonstra essa paixão página após página. No livro, ele traça um histórico científico das formigas e nos desperta um fascínio a estes e outros seres minúsculos que,

por vezes, passam desapercebidos. Ao contar sobre suas descobertas ao longo da vida, nos faz questionar sobre o que ainda queremos descobrir como cientistas.

Começando com o convidativo prólogo "Você fez a escolha certa", o livro é dividido em cinco partes: (I) O caminho a seguir; (II) O processo criativo; (III) Uma vida na ciência; (IV) Teoria e quadro geral e (V) Verdade e ética. A forma como o livro foi dividido demonstra como o autor teve cuidado em tornar o livro uma experiência prazerosa e única. Além disso, o livro é ilustrado com fotos do autor, o que nos aproxima das histórias relatadas por ele.

Wilson sempre foi cientista e demonstra a sua devoção à ciência no livro inteiro. cientista desde a infância, ele relatou toda a sua curiosidade e fascínio por novas descobertas científicas ao longo do livro. Conforme avançamos na leitura, ele nos convence de que damos pistas de quem desejamos nos tornar ainda quando crianças. Lembrei de quando misturei ingredientes de cozinha pensando estar fazendo algum experimento magnífico e das inúmeras vezes que subi na maior árvore do meu antigo quintal para me aproximar cada vez mais da natureza e de quem eu sou hoje.

Ao longo dos 20 capítulos do livro, Wilson nos oferece diversas dicas para tornar a jornada acadêmica mais significativa. Há diversos ensinamentos incríveis, mas, me arrisco em dizer que, o maior deles é a demonstração de que a ciência é uma construção coletiva. Não é difícil resolver um problema quando você está bem-acompanhado. Difícil é pensar em um problema em que a solução pode ser um marco na ciência, assim como foi a "Teoria da Biogeografia de Ilhas". No penúltimo capítulo, de forma bem descontraída e surpreendente, podemos ver essa teoria nascendo. Ao lado de MacArthur, Wilson começou a pensar sobre as ilhas que havia visitado ao redor do mundo, movidos pelo desejo de criar uma nova teoria dentro do que eles e outros pesquisadores na época chamaram de "Biologia Evolucionária". Em 1967, o livro "The Theory of Island Biogeography" foi lançado, o que marcou a "Biologia Evolucionária" e contribuiu para guiar diversas áreas de conhecimento.

Wilson ainda teve a genialidade de terminar o livro da melhor forma, com um capítulo chamado "A ética científica". Costumo dizer que a ética deve vir em primeiro lugar na ciência e, ao ler este capítulo, tive certeza. Neste capítulo, o autor afirma que "a maior parte das decisões morais que você será obrigado a tomar terá a ver com seu relacionamento com outros cientistas", por isso é preciso conduzir, de forma ética, a sua pesquisa e a publicação dos resultados. Mais do que um bom capítulo, é um capítulo necessário, para todos aqueles que, em essência do que é ser cientista, buscam a verdade.

É, sem dúvidas, um livro para todo cientista ler, independentemente de sua fase na carreira acadêmica. Quem estiver no início, vai encontrar estímulo para permanecer no caminho científico. Quem estiver com a carreira já bem desenvolvida, vai encontrar identificação em muitas cartas escritas por Wilson. "Cartas a um jovem cientista" é um livro daqueles que a gente quer carregar debaixo do braço por onde for.



Proceratophrys brauni
Paula Freitas, PR
@Tayane Azevedo

Bezerra A.M., Guarabyra B., Marra R. 2020. Jogo ANURA.

Nathália R. Honório *, Mariana A. Faustino, Luana Carvalho, Caio F. M. Pereira

1 Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-900 Juiz de Fora, MG, Brasil.
* Autor correspondente: E-mail: *nathalia.honorio@icb.ufjf.br*
DOI: *10.5281/zenodo.5211433*

Segundo Fortuna (2003), a inclusão de jogos didáticos como material complementar na aprendizagem é uma importante alternativa à rigidez da reprodução tradicional de conhecimentos, característica comum no ensino de Ciências e Biologia nas escolas. O jogo de tabuleiro "ANURA" foi desenvolvido por Andressa Bezerra, Bruna Guarabyra e Raquel Marra, pesquisadoras do Laboratório de Anfíbios da Universidade Federal do Rio de Janeiro. A proposta do jogo é gerar um conhecimento mais amplo sobre os anfíbios anuros para, assim, despertar nos jogadores maior sensibilização a respeito da necessidade de conservação deste grupo.

O jogo ANURA segue o formato de um jogo de tabuleiro clássico (Fig. 1A) no qual cada jogador escolhe para ser seu representante uma entre 12 espécies de anuros. Cada espécie é indicada pelo seu nome científico e seu nome popular, foto ilustrativa, modo de desenvolvimento (direto ou indireto) e sua área de vantagem no jogo, que é representada pelo habitat onde a espécie é mais comumente encontrada (Fig. 1B). O tabuleiro, por sua vez, é composto por três tipos de casas interativas diferentes: (1) "Mito ou Verdade?", (2) "Perguntas e Respostas" e (3) "Paradas Obrigatórias". O jogo também possui três ambientes: (1) a Floresta, (2) o Brejo e (3) a Região Antropizada. Essas áreas geram influência de maneira singular a cada espécie, como descrita nas cartas de caracterização dos animais. Em resumo, os participantes devem realizar o percurso, aprendendo características da história natural de cada anuro a fim de chegarem ao final do jogo e contribuírem para a preservação da espécie escolhida.

Este jogo apresenta grande potencial de auxiliar os estudantes na aprendizagem acerca dos anuros, visto que proporciona um conhecimento sobre este grupo taxonômico de forma lúdica e interessante. Além disso, insere assuntos que podem não ser abordados na aula, como os mitos acerca dos anfíbios e as questões que trazem problematizações (como o desmatamento, por exemplo).

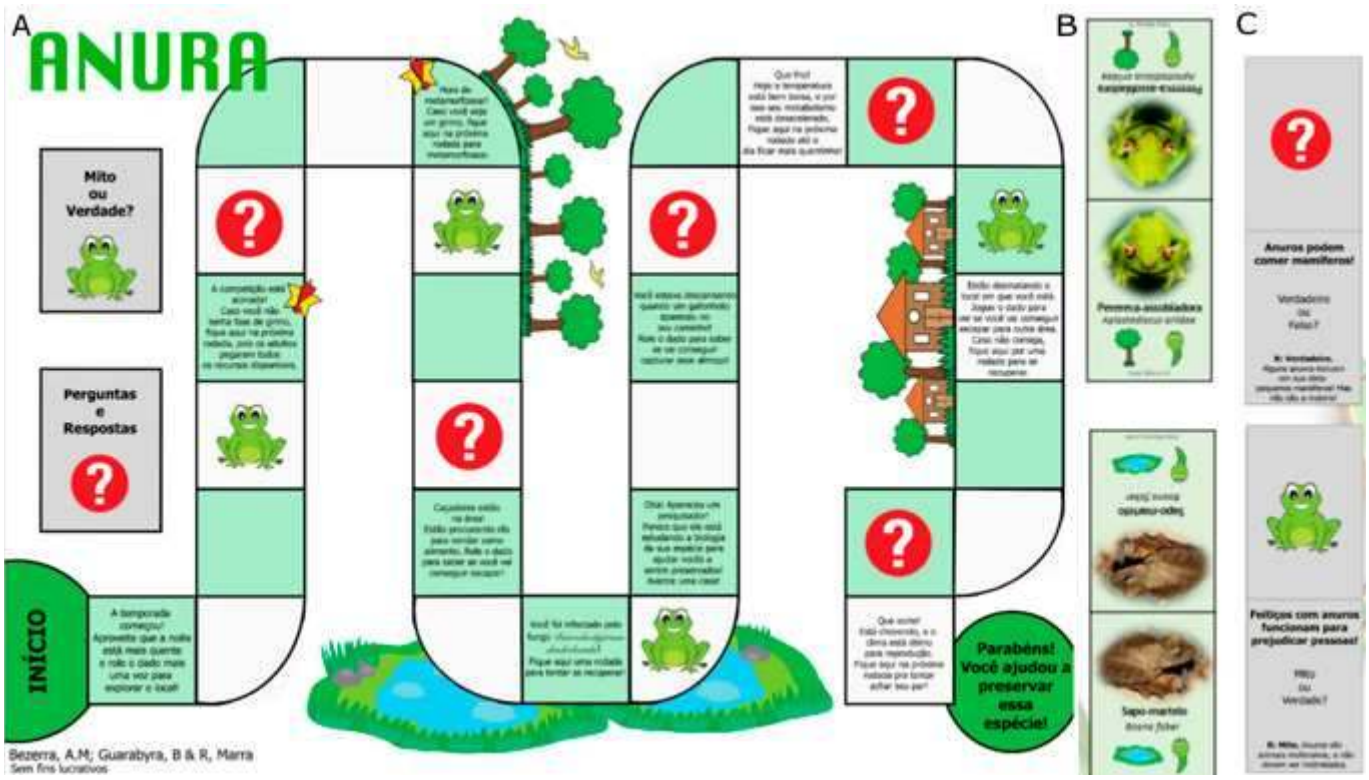


Figura 1. Representação do Jogo Anura: (A) Tabuleiro do jogo; (B) Cartas de personagens; (C) Cartas de perguntas e respostas.

O jogo trata diversos aspectos da biologia dos anuros, como o ciclo de vida, a morfologia, as técnicas de defesa, a dieta e a predação. Dessa forma, abre espaço para que o professor explique a importância desses animais na teia alimentar, em que atuam como presas e predadores, além de trazer informações sobre a reprodução, combate entre machos e vocalizações. Ao destacar que o Brasil apresenta a maior diversidade de anuros do mundo, é evidenciada para os estudantes a importância que o nosso país tem na conservação deste grupo. O jogo também possibilita a discussão de outras questões importantes. Ao abordar o desmatamento é possível problematizá-lo, explorando como isto afeta toda a biodiversidade, visto que a perda de habitat é a maior responsável pelo declínio de biodiversidade no planeta. A temática da utilização desses animais pelos seres humanos também possibilita uma conversa sobre a comercialização das rãs como alimento e sobre a caça no Brasil. As cartas de "Mito ou Verdade?" (Fig. 1C) são importantes para a desconstrução da aversão das pessoas aos anfíbios, a fim de gerar uma sensibilização nos alunos, evidenciando que a maior parte desses animais não oferece risco à saúde humana. No final do jogo, há a satisfatória mensagem: "Parabéns! Você

ajudou a preservar essa espécie!", que, juntamente com todo o aprendizado adquirido durante o jogo, podem incitar nos estudantes a preocupação com a natureza e o desejo de preservação dos anuros.

Apesar de muito bem construído, o jogo apresenta alguns pontos que poderiam ser mais bem colocados, embora, não invalidem nem passem um conhecimento errôneo sobre o grupo. Ao mesmo tempo que o jogo trata os anuros como inofensivos, o que de fato são, ele também menciona a presença de veneno, sem discutir as implicações disso. Nesse caso, as respostas se ausentam do debate sobre a possibilidade de outros perigos além da ingestão do veneno e seu potencial tóxico para seres humanos, como enfatizar o perigo da própria manipulação sem a devida assepsia posterior, que pode acarretar complicações, como irritação. Pensando em crianças como público-alvo da atividade, as informações devem ser apresentadas sempre de forma coesa e direta, para que não haja nenhuma dificuldade de interpretação ou algum incidente. Outro ponto a se repensar é que o jogo traz como personagens diferentes espécies de anuros, mas não explora as suas diferenças morfológicas, como a diferença entre sapos, rãs e pererecas, assunto que sempre gera interesse no meio popular, por mais que não tenha validade filogenética. Da mesma forma, não há uma contextualização direta sobre o porquê de cada espécie possuir vantagens nos diferentes ambientes apresentados ("Floresta", "Região Antropizada" e "Brejo").

Uma sugestão para complementar a aprendizagem é, de acordo com as condições de cada educador, trazer a vocalização das espécies em seu celular, para aproximar ainda mais os estudantes da natureza. Isso poderia ser feito acessando plataformas como a Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard (*https://www2.ib.unicamp.br/fnjv/*). Por fim, percebe-se o grande potencial deste jogo em auxiliar no ensino e conscientização sobre os anuros, visto que traz o conhecimento de forma lúdica e com uma linguagem adequada para a faixa etária, facilitando, assim, a aprendizagem.

REFERÊNCIAS

Bezerra A.M., Guarabyra B., Marra R. 2020. Jogo ANURA. Acessível em *https://www.researchgate.net/publication/340875015_Jogo_ANURA*. Acesso: 13 fevereiro de 2021.

Fortuna T.R. 2003. Jogo em aula: recurso permite repensar as relações de ensino aprendizagem. *Revista do Professor* 19:1519.

Editora: Quezia Ramalho



Phyllomedusa vaillantii
Machadinho D'Oeste, RO
@Diego José Santana



Boana aff. *cipoensis*
Tapira, MG
@Jeremiah Jadrien Barbosa

Notas de História Natural & Distribuição Geográfica

Hiding and nesting behavior of *Stenocercus roseiventris* Duméril & Bibron, 1837 (Reptilia: Tropiduridae)

Teresa C.S. Avila-Pires[1*], Laurie J. Vitt[2]

1 Museu Paraense Emílo Goeldi, C.P. 399, 66017-970 Belém, PA, Brazil.
2 Sam Noble Museum, 73072 Norman, OK, USA.
* Corresponding author. E-mail: avilapires@museu-goeldi.br
DOI: 10.5281/zenodo.5211444

Stenocercus roseiventris is an inhabitant of tropical rainforest in southwestern Amazonia (Brazil, Peru, Bolivia and northern Argentina; Ribeiro-Junior 2015). Fritts (1974) assumed it would occur in rocky habitats, similar to other lizards with a spiny tail. However, other authors (e.g. Mertens 1942; Meede 1984; Duellman 2005) reported the lizard using holes in tree trunks, logs and buttresses, or holes in the ground as hiding places in forest habitats. Hoogmoed (pers. comm.) collected a specimen (RMNH 25697) in primary forest in Panguana, Peru, on a hollow log in which it took refuge and reappeared after some time. Meede (1984) also reported that a male and a female could be observed on trunks only a few meters apart. During an expedition in Acre, Brazil, we collected six specimens (4 females and 2 males) of *S. roseiventris* and our observations agree with those in these later studies, refuting the idea that *S. roseiventris* is linked to rocky habitats. We also add observations on its nesting behavior.

The lizards were observed in undisturbed terra firme forest in the Juruá River Basin, near (in W-NW direction) Porto Walter, Acre (8°15′ S, 72°46′ W). We worked from a field camp actively searching an area of approximately 1 km² of the forest as part of a biodiversity survey between 6 February and 18 April 1996, during the rainy season (see Vitt & Avila-Pires 1998 for a more detailed description of the studied area).

Stenocercus roseiventris was observed between 3 March and 17 April, always during the day. Of the six specimens observed, one (female, OMNH 37045) was on the ground and ran toward a fallen trunk, entering a hole in it. A male (MPEG 20618; Figs. 1–2) and a female (OMNH 37046; Fig. 3), collected on different days (respectively 3 and 22 March), were on the same fallen tree trunk. The male was first seen on the trunk, disappeared into a hole, and emerged again later on. The female had its head sticking out of the hole. Another male (OMNH 37047) was on a relatively small log (about 12 cm diameter) basking in a small patch of sunlight and then ran into a hole, from where it was dug out. MPEG 20619, a female, was observed on a thick vine close to the ground and disappeared into a hole in the vine. This vine was cut open and the animal was inside a relatively small space, completely pressing itself there; in spite of all the cutting, it didn't move from the hole, except when it was forced to (by opening the vine).

The last specimen collected (MPEG 20620), on 17 April, was a female. It was observed partially out of a hole at the top of a vine (about 40 cm high) rising from the ground; Fig. 4). Excavating the vine, we found two eggs at the bottom (Fig. 5). These were kept in the laboratory of Museu Paraense Emílio Goeldi, after returning to Belém-PA, and they hatched on the 26th and 29th July (Fig. 6), measuring (snout-vent + tail length) 38 + 34 mm (MPEG 20630) and 34 + 29 mm (MPEG 20631).

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was a convenio between the Sam Noble Museum (OMNH) and the Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), supported by National Science Foundation grants (DEB-9200779 and DEB9505518) to L. J. Vitt and J. P. Caldwell. Research and collecting permits were issued by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Portaria MCT no. 170, of 28/09/94) and Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, permit no. 073/94-DIFAS). We had the assistance of Janallee P. Caldwell and Verônica L. Oliveira in the field, and local logistic assistance of SOS Amazônia, the Acre Union of Seringueiros, and people from Porto Walter. João Fabrício de Melo Sarmento measured the two juvenile specimens.

REFERENCES

Duellman W.E. 2005. Cusco Amazónico: The Lives of Amphibians and Reptiles in an Amazonian Rainforest. Comstock Publishing Associates, Ithaca and London.

Fritts T.H. 1974. A multivariate evolutionary analysis of the Andean iguanid lizards of the genus *Stenocercus*. *Memoirs San Diego Society of Natural History* 7:1–89.

Meede U. 1984. Herpetologische Studien über Echsen (Sauria) in einem begrenzten Gebiet des Tropischen Regenwaldes in Peru: morphologische Kriterien, Autokölogie und Zoogeographie. Artenliste der Reptilien im Untersuchungsgebiet. Doctoral Dissertation, Universität Hamburg.

Mertens R. 1942. Amphibien und Reptilien I. (Ausbeute der Hamburger Südperu-Expedition). Pp 277–287 in Titschack E. (Ed.), Beitrage zur Fauna Perus, Band II (1). Verlag Gustav Fischer, Jena.

Ribeiro-Junior M.A. 2015. Catalogue of distribution of lizards (Reptilia: Squamata) from the Brazilian Amazonia. I. Dactyloidae, Hoplocercidae, Iguanidae, Leiosauridae, Polychrotidae, Tropiduridae. *Zootaxa* 3983:1–110.

Vitt L.J., Avila-Pires T.C.S. 1998. Ecology of two sympatric species of *Neusticurus* (Sauria: Gymnophthalmidae) in the western Amazon of Brazil. *Copeia* 1998:570–582.

Editor: Henrique C. Costa



Figure 1 - 2 Male *Stenocercus roseiventris*, MPEG 20618, in dorsolateral and ventral views.



Figure 3. Female *S. roseiventris* (OMNH 37046) sticking out of a hole.



Figure 4. Vine with hole where the female *S. roseiventris* MPEG 20620 and the eggs were found. The hole is c. 40 cm from the ground, with an inner diameter of c. 3.5 cm.



Figure 5. Eggs of *S. roseiventris* shortly after they were collected.



Figure 6. One of the two newly hatched *S. roseiventris* (MPEG 20630–31).

Predation attempt on *Dermatonotus muelleri* (Boettger, 1885) (Anura: Microhylidae) by *Caracara plancus* (Miller, 1777) (Aves: Falconidae) with a new defensive behavior reported

Daniela Sifuentes Batista[1, 4], Diego Gomiero Cavalheri[2,3*], Sóstenes Pelegrini[4, 5], André Moreira Assalim[4], Adriana Akemi Kuniy[4], Sarah Mângia[3]

1 Universidade Federal de Mato Grosso, 78600-000 Barra do Garças, MG, Brazil.
2 Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 15054-000 São José do Rio Preto, SP, Brazil.
3 Instituto de Biocências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900 Campo Grande, MS, Brazil.
4 JGP Consultoria e Participações Ltda. R. Américo Brasiliense 615, 04715-000 São Paulo, SP, Brazil.
5 Programa de Pós-Graduação em Conservação de Fauna, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, 13565-905 São Carlos, SP, Brazil.
*Corresponding author. E-mail: *diego.cavalheri@unesp.br*
DOI: *10.5281/zenodo.5211450*

Amphibians are important components of the trophic networks in many ecosystems, in different life stages, as prey for both vertebrates and invertebrates (Toledo 2005, Toledo et al. 2007, Haddad et al. 2013). Although some animals eat frogs opportunistically (e.g. Delaix-Zaqueo et al. 2017, Cavalcante et al. 2019, Güell et al. 2019), anurans represent a significant part of the diet of many species (e.g. Menin et al. 2005, Toledo 2005, Toledo et al. 2007, Costa et al. 2012, Jones et al. 2021). For this reason amphibians exhibit numerous strategies to avoid predators, including stiff-legged behavior, puffing up the body, and production of harmful secretions (Toledo et al. 2011).

At 10:15h on 24 November 2020, during a wildlife rescue in São Gonçalo do Gurguéia municipality (10.115°S, 45.285°W), state of Piauí, northeastern Brazil, we observed an adult Southern Caracara, *Caracara plancus* (Falco-

nidae) manipulating an object on the ground with its foot. The action was recorded using a video camera and the video is deposited in Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard – under the voucher ZUEC-VID 952. We identified the potential prey as a Müller's termite frog, *Dermatonotus muelleri*, a burrowing species from the diagonal belt of open formations in Paraguay, Bolivia, Argentina, and Brazil (Oliveira et al. 2018). While the Caracara attacked the frog, the frog puffed up the body (Fig. 1A). After using its foot 14 times, the Caracara pecked once (Fig. 1B) and immediately shook its head (Fig. 1C). Fifteen seconds later, the bird moved away from the prey and, one minute later, flew away. After two minutes, one of us (DSB) approached and handled the frog, which remained puffed up and appeared to have an injury on its back (Fig. 1D). Slimy glandular secretion by the skin is a mechanism of defense of amphibians, usually activated by stress or injury, and the secretions vary from odoriferous to extraordinarily toxic (Toledo & Jared 1995, Gomes et al. 2007; Vitt & Caldwell 2013). After external examination, DSB released the frog in a safe location.

The Southern Caracara is a bird of prey with a generalist diet, feeding on insects, fish, mammals, birds, reptiles, and amphibians (Vargas et al. 2007, Idoeta & Roesler 2012). Although amphibians are included in its diet (Crozariol & Gomes 2009), they appear to be an occasional prey item (Vargas et al. 2007). This species is known to follow agricultural machinery to eat unearthed animals (see Sazima & Augusto 1991; Zamprogno & Sazima 1993, Assis & Costa 2020). The reaction of the Caracara of shaking its head immediately after pecking the frog was probably due to the secretions from the *D. muelleri*'s skin (see Cavalcante et al. 2017). The behavior was similar to the reaction of chickens after attempting to prey on *Brachycephalus ephippium* (see supplementary videos of Rebouças et al. 2019), another toxic anuran.

This is also the first report of the defensive behavior of puffing up the body in *D. muelleri*. This behavior consists of filling the lungs with air to increase the size of the frog, discouraging the predator (Toledo et al. 2011). The association of this defensive behavior and skin secretion has been documented for other amphibians (Toledo et al. 2011, Meneses & Corrêa 2020). Combining defensive behaviors results in a higher chance of escape from potential predators that are discouraged only when multiple signals are displayed (Toledo et al. 2011). While some anurans produce skin secretion at the same time as puffing up the body (e.g. *Physalaemus nattereri*, Lenzi-Mattos et al. 2005, *Odontophrynus* spp. Borteiro et al. 2018), others use this strategy only after physical contact (e.g. *Centrolene savagei*, Esco-

bar-Lasso & Rojas-Morales 2012). For *D. muelleri*, the synergistic behavior of puffing up the body and the skin secretion was effective in repelling the Crested Caracara. Despite some records of predation on *D. muelleri* (Wild 2001, Gavira et al. 2008, Stănescu et al. 2014, Caldas et al. 2017, Leal et al. 2018, Andrade et al. 2020) little is known about how its defensive strategies act against possible predators.

ACKNOWLEDGMENTS

DGC thanks Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Funding code 001.

REFERENCES

Andrade H., Moura S., Almeida M., José E. 2020. Diet review of *Erythrolamprus poecilogyrus* (Wied-Neuwied, 1825) (Serpentes: Dipsadidae), and first record of *Dermatonotus muelleri* (Boettger, 1885) (Anura: Microhylidae) as a prey item in Sergipe State, northeastern Brazil. *Herpetology Notes* 13:1065–1068.

Assis C., Costa H.C. 2020. *Leposternon octostegum*: New record of an endangered worm lizard species, with comments on habitat and opportunistic predators (Squamata: Amphisbaenia). *Herpetologia Brasileira* 9:109–120.

Borteiro C., Rosset S.D., Kolenc F., Barrasso D.A., Lescano J.N., Baldo D. 2018. Stereotyped defensive behaviours in frogs of the genus *Odontophrynus* (Amphibia: Anura: Odontophrynidae). *Current Herpetology* 37:172–179. doi: *10.5358/hsj.37.172*

Caldas F.L.S., Almeida B.J.M., Santos R.A. 2017. Predation of *Dermatonotus muelleri* (Anura, Microhylidae) by *Guira guira* (Cuculiformes, Cuculidae) in the coastline of the Sergipe state, northeastern Brazil. *Pesquisa e Ensino Em Ciências Exatas e Da Natureza* 1:95–98. doi: *10.29215/pecen.v1i2.447*

Cavalcante I.D., Antoniazzi M.M., Jared C., Pires O.R., Sciani J.M., Pimenta D.C. 2017. Venomics analyses of the skin secretion of *Dermatonotus muelleri*: Preliminary proteomic and metabolomic profiling. *Toxicon* 130:127–135. doi: 10.1016/j.toxicon.2017.02.028

Cavalcante, T. Simões, P. I. Mourthe, I. 2019. Predation of *Boana boans* (Anura, hylidae) by an opportunistic frugivorous primate. *Acta Amazonica* 49:307–310. doi: *10.1590/1809-4392201901430*

Costa H.C., Martins L.B., Carvalho T.R. 2012. *Xenodon neuwiedii* (Serpentes: Xenodontinae): Dieta. *Herpetologia Brasileira* 1:38–40.

Crozariol M.A., Gomes F.B.R. 2009. Predação de *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) (Anura: Leptodactylidae) por *Caracara plancus* (Miller, 1777) (Aves: Falconidae), com notas sobre história natural , no Vale do Paraíba do Sul , SP. *Atualidades Ornitológicas* 149:4–5.

Delaix-Zaqueo K., Melo-Sampaio P.R., Oliveira I.L.A., Miranda G.K.D., Calderon L.A. 2017. The opportunistic behavior of a common predator in aquatic systems in Amazonia: predation on robber-frog *Pristimantis* cf. *fenestratus* by trahira *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794). *Herpetology Notes* 10:425–427.

Escobar-Lasso S., Rojas-Morales J. 2012. Antipredatory Behaviors of the Colombian Endemic Glassfrog *Centrolene savagei* (Anura: Centrolenidae). *Boletín Científico Museo de Historia Natural* 16:226–232.

Gavira R.S.B., Bovo R.P., Andrade D.V. 2008. *Rhinella schneideri*. Diet. *Herpetological Review* 44:657.

Gomes A., Giri B., Saha A., Mishra R., Dasgupta S.C., Debnath A., Gomes A. 2007. Bioactive molecules from amphibian skin: Their biological activities with reference to therapeutic potentials for possible drug development. *Indian Journal of Experimental Biology* 45:579–593.

Güell B.A., González K., Pedroso-Santos F. 2019. Opportunistic predation by two aquatic-feeding predators on an explosive-breeding aggregation of arboreal gliding treefrogs *(Agalychnis spurrelli* Boulenger, 1913; Anura: Phyllomedusidae) on the Osa Peninsula of Costa Rica. *Herpetology Notes* 12:795–798.

Haddad C.F.B., Toledo L.F., Prado C.P.A., Loebmann D., Gasparini J.L.L., Sazima, I. 2013. Guia dos anfíbios da Mata Atlântica: Diversidade e biologia. Editora Anolisbooks, São Paulo.

Idoeta F.M., Roesler I. 2012. Presas consumidas por el Carancho (*Caracara plancus*) durante el periodo reproductivo, en el noroeste de la provincia de Buenos Aires. *Nuestras Aves* 57:80–83.

Jones P.L., Divoll T.J., Dixon M.M., Aparicio D., Cohen G., Mueller U.G., ... Page R.A. 2021. Sensory ecology of the frog-eating bat, *Trachops cirrhosus*, from DNA metabarcoding and behavior. *Behavioral Ecology* 31:1420–1428. doi: *10.1093/beheco/araa100*

Leal E.S.B., Chaves L.S., Prado-Neto J.G., Passos-Filho P.B., Ramalho D.F., Guerra-Filho D.Q., ... Moura G.J.B. 2018. What constitutes the menu of *Trachops cirrhosus* (Chiroptera)? a review of the species' diet. *Neotropical Biology and Conservation* 13:337–346. doi: *10.4013/nbc.2018.134.08*

Lenzi-Mattos R., Antoniazzi M.M., Haddad C.F.B., Tambourgi D.V., Rodrigues M.T., Jared C. 2005. The inguinal macroglands of the frog *Physalaemus nattereri* (Leptodactylidae): Structure, toxic secretion and relationship with deimatic behaviour. *Journal of Zoology* 266:385–394.

Meneses A.S.O., Corrêa B.A.A.P. 2020. Defensive behaviors in two *Proceratophrys species* (Anura: Odontophrynidae) from central Brazilian Cerrado. *Cuadernos de Herpetología* 34:265–269. doi: *10.31017/cdh.2020.(2019-039)*

Menin M., Rodrigues D.J., Azevedo C.S. 2005. Predation on amphibians by spiders (Arachnida, Araneae) in the Neotropical region. *Phyllomedusa* 4:39–47. doi: *10.11606/issn.2316-9079.v4i1p39-47*

Oliveira E.F., Gehara M., São-Pedro V.A., Costa G.C., Burbrink F.T., Colli G.R., Rodrigues M.T., Garda A.A. 2018. Phylogeography of Muller's termite frog suggests the vicariant role of the Central Brazilian Plateau. *Journal of Biogeography* 45:2508–2519. doi: *10.1111/jbi.13427*

Rebouças R., Carollo A.B., Freitas M.O., Lambertini C. Santos, R.M.N., Toledo L.F. 2019. Is the conspicuous dorsal coloration of the atlantic forest pumpkin toadlets aposematic? *Salamandra* 55:39–47.

Sazima I., Augusto S.A. 1991. Habits of five brazilian snakes with coral-snake pattern, including a summary of defensive tactics. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 26:159–164. doi: *10.1080/01650529109360848*

Stănescu F., Marangoni F., Reinko I. 2014. Predation of *Dermatonotus muelleri* (Boettger 1885) by *Lepidobatrachus llanensis* Reig and Cei 1963. *Herpetology Notes* 7:683–684.

Toledo L.F., Ribeiro R.S., Haddad C.F.B. 2007. Anurans as prey: An exploratory analysis and size relationships between predators and their prey. *Journal of Zoology* 271:170–177. doi: *10.1111/j.1469-7998.2006.00195.x*

Toledo L.F., Sazima I., Haddad C.F.B. 2011. Behavioural defences of anurans: an overview. *Ethology Ecology & Evolution* 23:1–25. doi: *10.1080/03949370.2010.534321*

Toledo L.F. 2005. Predation of juvenile and adult anurans by invertebrates: Current knowledge and perspectives. *Herpetological Review* 36:395–400.

Toledo R.C., Jared C. 1995 Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology* 111:1–29.

Vargas R.J., Bó M.S., Favero M. 2007. Diet of the Southern Caracara (*Caracara plancus*) in Mar Chiquita Reserve, *Southern Argentina. Journal of Raptor Research* 41:113–121.

Vitt L.J., Caldwell J.P. 2013. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. Academic Press. Fourth Edition. doi: *10.1016/C2010-0-67152-5*

Wild E. R. 2001. Ceratophrys cranwelli (Cranwell's Horned) Frog. Predation. *Herpetological Review* 32:102.

Zamprogno C., Sazima I. 1993. Vertebrate predation on the neotropical Amphisbaenian *Leposternon wucherer*. *Herpetological Review* 24:82–83.

Editor: Henrique C. Costa



Figure 1. Sequence of events during a predation attempt on *Dermatonotus muelleri* by *Caracara plancus*. A) an adult *C. plancus* manipulating the frog (indicated with a red arrow) with its foot; B) the *C. plancus* pecking the *D. muelleri*; C) *C. plancus* shaking its head and moving away from the frog; D) an injury on the dorsum of the *D. muelleri*, indicated by a red arrow.

Predation of *Hylodes phyllodes* (Anura: Hylodidae) by *Trechaleoides* sp. (Araneae: Trechaleidae)

Lucas Machado Botelho, Mariana Pedrozo*, Matheus de Toledo Moroti, Edelcio Muscat

Projeto Dacnis, Estrada do Rio Escuro 4754, Sertão das Cotias, Ubatuba, São Paulo, Brazil.
* Corresponding author. E-mail: mariana.pedrozo.24@gmail.com
DOI: 10.5281/zenodo.5211467

Anurans are small to medium-sized amphibians with generally numerous populations and intense social behavior during reproductive periods (Pombal 2007). These characteristics make them part of the diet of many vertebrates and invertebrates (Toledo et al. 2007; Costa et al. 2010). Among invertebrates, arthropods are anurans' main predators (Menin et al. 2005; Toledo 2005), and there are many records of this relationship in literature (e.g. Giarsa et al. 2012; Muscat et al. 2014; Pedrozo et al. 2017; Assis et al. 2018; Menegucci et al. 2020). Although these records have increased recently, the predation of vertebrates by arthropods remains underestimated (Valdez 2020). New records of these events improve understanding of prey-predator interactions and how they can shape vertebrate populations and communities, especially for threatened species (Valdez 2020). There is evidence that populations of *Hylodes phyllodes*, although classified as least concern (LC) in the IUCN red list, are decreasing (Rocha et al. 2010).

In this article we describe a feeding behavior by a fishing spider *Trechaleoides* sp. on a Boraceia stream frog *Hylodes phyllodes* Heyer and Cocroft, 1986, observed during routine night monitoring at the Projeto Dacnis private reserve (-23.464397°, -45.129784°; WGS-84; 135m above sea level) in Ubatuba, state of São Paulo, Brazil.

The predation event was observed on January 18, 2021, at 19:56, in a stream with small waterfalls in an ombrophilous forest environment. Temperature was 26.1°C and air humidity was 97.3%. The spider was identified following parameters suggested by Carico (2005): carapace length between 6.1 - 11.0 cm; legs varying in length, with the third

pair usually shortest, the remainder similar in size; only the tarsus is flexible. The study area is within the range proposed by Carico (2005) for this spider genus. The frog was identified by its advertisement call, habit, and a combination of morphological characters described by Heyer & Cocroft (1986).

The spider was stalking hunting at the stream edge while an individual of *Hylodes phyllodes* rested on a rock in the stream, upstream from the spider. When an observer approached, the frog jumped into the stream and was carried by the current; the spider caught the frog in the water, and carried it to a dry spot at the margin. The frog tried to escape for approximately three minutes, but the spider's chelicerae were firmly pinned to the anuran's hindquarters (Fig. 1A). The spider finally managed to immobilize the prey completely by embedding its chelicerae in its dorsal region. It then began feeding on the frog (Fig. 1B). The *H. phyllodes* continued breathing – its vocal sac moved – for about two minutes after being immobilized. We did not collect the individuals. However, we recorded the predation event and deposited the video at Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard (ZUEC-VID 949– 951).

This behavior is similar to the observation by Gaiarsa et al. (2012) during predation of a juvenile *Cycloramphus boraceiensis* (Cycloramphidae) by *Trechaleoides biocellata*. In our record, the presence of the researchers influenced the predation event, because *H. phyllodes* probably jumped into the water because of the researcher's approach. Since *H. phyllodes* is diurnal (Hartmann et al. 2006) and *Trechaleoides* spiders are nocturnal and locate prey by detecting oscillations on the water surface (Silva et al. 2005), our approach may have facilitated opportunistic predation by the spider.

Although anurans have numerous escape mechanisms, they represent about 40% of vertebrate prey captured by arthropods (Valdez 2020). This is largely due to the ease of penetration of their skin, which would allow them to be preyed upon by virtually anything (Duellman & Trueb 1994; Valdez 2020). Due to the nocturnal habits and enigmatic behavior of arthropods, reports of predation on vertebrates are undersampled. Therefore, these records are essential for a better understanding of prey-predator interactions between arthropods and vertebrates, which are understudied compared to other taxa (Nordberg et al. 2018; Valdez 2020).

Trechaleoides spiders are frequently seen on stream margins in the study area. Because they belong to a family of spiders considered to be opportunistic and stalking predators (Santos 2014), they can act directly on the populations of small species in this environment,

such as *Hylodes phyllodes*. New natural history observations and studies can reveal more about these species, as well as others that may be part of the diet of *Trechaleiodes* sp., contributing to the understanding of predator-prey interactions and conservation of these species.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Alex Mariano for field assistance and Elsie Rotenberg for the English revision and considerations in the manuscript. We also thank Pedro H. Martins for the spider identification and Simone Dena from Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard for the voucher numbers. We would like to thank Dr. Renata Pirani for the thoughtful comments to improve the manuscript.

REFERENCES

Assis R.A., Borges R.E., Souza M.B., Barros J.F., Santos L.R.S. 2018. Registro de predação de *Pseudopaludicola saltica* (Anura: Leptodactylidae) por aranha-lobo (Araneae: Lycosidae). *Oecologia Australis* 22:291–295. doi: *10.4257/oeco.2018.2203.07*

Carico J.E. 2005. Descriptions of two new spider genera of Trechaleidae (Araneae, Lycosoidea) from South America. *Journal of Arachnology* 33:797–812. doi: *10.1636/H03-71.1*

Costa-Pereira R., Martins F.I., Sczesny-Moraes E.A., Brascovit A. 2010. Predação de anuros jovens (*Osteocephaus taurinus*) por artrópodes (Insecta, Mantodea e Arachnida, Araneae) no Brasil Central. *Biota Neotropica* 10:469–472. doi: *10.1590/S1676-06032010000300042*

Duellman W.E., Trueb L. 1994. Biology of amphibians. Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Giarsa M.P., Alencar L.R.V., Dias C.J., Martins, M. 2012. Predator or prey? Predatory interactions between the frog *Cycloramphus boraceiensis* and the spider *Trechaleoides biocellata* in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *Herpetology Notes* 5:67–68.

Hartmann M.T., Hartmann P.A., Haddad C.F.B. 2006. Repertório vocal de *Hylodes phyllodes* (Amphibia, Anura, Hylodidae). *Papéis Avulsos de Zoologia* 46:203–209. doi: *10.1590/S0031-10492006001700001*

Heyer W.R., Cocroft, R.B. 1986. Descriptions of two new species of *Hylodes* from the Atlantic Forests of Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 99:100–109.

Menegucci R.C., Muscat E., Tanaka R.M., Stuginski D. 2020. Predation on

Hylodes phyllodes (Anura: Hylodidae) by the harvestman *Heteromitobates discolor* (Arachnida: Opiliones). *Phyllomedusa* 19:121–124. doi: *10.11606/issn.2316-9079.v19i1p121-124*

Menin M., Rodrigues D.J., Azevedo C.S. 2005. Predation on amphibians by spiders (Arachnida, Araneae) in the Neotropical region. *Phyllomedusa* 4:39–47. doi: *10.11606/issn.2316-9079.v4i1p39-47*

Muscat E., Rotenberg E.L., Chagas C.A. 2014. Predation of *Scinax littoralis* (Anura: Hylidae) by *Eriophora fuliginea* (Aranae: Araneidae) in Southeastern Brazil. *Herpetology Notes* 7:196–170

Nordberg E.J., Edwards L., Schwarzkopf L. 2018. Terrestrial invertebrates: An underestimated predator guild for small vertebrate groups. *Food Webs* 15:e00080. doi: *10.1016/j.fooweb.2018.e00080*

Pedrozo M., Almeida L.S., Moroti M.T., Santana D.J. 2017. Predation on *Physalaemus olfersii* (Anura: Leptodactylidae) by *Phoneutria nigriventer* (Aranae: Ctenidae) in Atlantic Forest, Southeast of Brazil. *Herpetology Notes* 10:369–371.

Pombal J. 2007. Notas sobre predação em uma taxocenose de anfíbios anuros no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 24:841–843. doi: *10.1590/S0101-81752007000300034*

Rocha C.F., Sluys M.V., Telles A.M., Bertoluci J. 2010. *Hylodes phyllodes*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T57100A11577851. doi: 10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T57100A11577851.en. Downloaded on 09 June 2021.

Santos J.F. 2014. O aumento do tamanho melhora a eficiência de captura de presas de aranhas pescadoras (Aracnida: Trechaleidae). Ecologia da Floresta Amazônica: 262–268.

Silva E.L.C., Picanco J.B., Lise A.A. 2005. Notes on the predatory behavior and habitat of *Trechalea biocellata* (Araneae, Lycosoidea, Trechaleidae). *Biociências* 3:85–88.

Toledo L.F. 2005. Predation of juvenile and adult anurans by invertebrates: current knowledge and perspectives. *Herpetological Review* 36:395–400.

Toledo L.F., Ribeiro R.S., Haddad C.F.B. 2007. Anurans as prey: an exploratory analysis and size relationships between predators and their prey. *Journal of Zoology* 271:170–177. doi:*10.1111/j.1469-7998.2006.00195.x*

Valdez J.W. 2020. Arthropods as vertebrate predators: A review of global patterns. *Global Ecology and Biogeography* 29:1691–1703. doi: *10.1111/geb.13157*

Editora: Sarah Mângia



Figure 1. Capture (A) and predation (B) of *Hylodes phyllodes* by a *Trechaleoides* spider at the Projeto Dacnis private reserve in Ubatuba, state of São Paulo, Brazil.

Maximum length and notes on the habitat of *Caecilia gracilis* (Amphibia: Gymnophiona: Caeciliidae)

Adriano Oliveira Maciel[1*], Ana Lúcia da Costa Prudente[2]

1 Programa de Capacitação Institucional, Coordenação de Zoologia, Museu Paraense Emílio Goeldi, C.P. 399, 66017-970 Belém, PA, Brasil.
2 Laboratório de Herpetologia, Coordenação de Zoologia, Museu Paraense Emílio Goeldi, C.P. 399, 66017-970 Belém, PA, Brasil.
*Corresponding author. E-mail: aombiologo@yahoo.com.br
DOI: 10.5281/zenodo.5211478

Caecilia gracilis Shaw, 1802 is a terrestrial caecilian widely distributed throughout Amazonia in Brazil, French Guiana, Guyana, Peru, and Suriname, and also found in riparian forests in the adjacent Cerrado in Brazil (Maciel & Hoogmoed 2011). This species is one of the few Neotropical caecilians in which some basic ecological information is known. In a riparian forest population in the Brazilian Cerrado, the species did not exhibit sexual size dimorphism, was always found close to water, fed mainly on earthworms, and migrated to greater depths in the dry season (Maciel et al. 2012). Furthermore, *C. gracilis* is known to be preyed by the hawk *Pseudastur albicolis* (Latham, 1790) (Taylor 1968) and the snake *Anilius scytale* (Linnaeus, 1758) (Taylor 1968; Maschio et al. 2010).

On 04 June 2020, approximately 8:30 a.m., two individuals of *Caecilia gracilis* were found by construction workers while digging to build the foundation for a new house (1°21′56.4′′ S, 48°26′21.3′′ W; elevation 14 m), in the municipality of Belém, state of Pará, Brazil. The individuals were buried approximately 40 cm deep in partially flooded soil covered mainly by grasses (Fig. 1) and were delivered to ALCP, who resides in the neighborhood. The caecilians exhibited some injuries on their bodies probably caused by the hoes used in the excavations and were deposited in the Herpetological collection of the Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG 43054 and 43055).

MPEG 43054 is a mature male (Fig. 2) with total length 920 mm, mass 55 g, primary annuli 218, and secondary grooves 33. MPEG 43055 is a gravid

female with total length 810 mm, mass 82.5 g, primary annuli 194, and secondary grooves 31. Numbers of annuli are within the known range of the species, except for the number of primaries in MPEG 43054, which has 218, greater than the known range of 177 – 208 (Maciel & Hoogmoed 2011). Despite this, we have no reason to assign this specimen to a species other than *C. gracilis*. To date, the largest known specimen of *C. gracilis* is from Viseu, Pará, Brazil, a male with a total length of 735 mm (Maciel & Hoogmoed 2011). We therefore report a new known maximum size of 920 mm for the species, based on our newly collected specimens.

The habitat where the individuals were found is a partially flooded area that was deforested for the construction of residences. The closest forested area is a small fragment, approximately 2.3 ha, 340 m from the locality of our record (Fig.1 and Fig. 3), which demonstrates that this species may persist in areas covered only by underbrush vegetation, if moist soil is available.

In Suriname, a specimen documented by Nussbaum & Hoogmoed (1979) was collected by Stahel & Geijskes (1939) during excavation of a nest of the ant *Atta sexdens* (Linnaeus, 1758) in a forested area. The nest was close to a river that expands in the rainy season to form a lake; the top layer of soil was black and full of roots and below this was Kaolin (sedimentary rock rich in Kaolinite clay) which was saturated with water (Stahel & Geijskes 1939). In the Brazilian Cerrado, the species was found only in humid or partially flooded soils in forest (Maciel et al. 2012).

Considering the wide distribution of the species, the available data in the literature is very scarce. Reviewing data of 50 Amazonian specimens of *Caecilia gracilis* in the Herpetological collection of MPEG, we found that only 11 individuals have accurate collection data that includes the habitat where they were found. These 11 specimens were collected near water bodies: on the MPEG Research Campus in Belém, MPEG 38610 was found near a permanent pond; on the Campus of the Universidade Federal do Pará, MPEG 31052 was collected in an area of Igapó, which is flooded daily by the tides on the Guamá River; MPEG 29421 was found swimming in an Igapó Forest, in the municipality of Tracuateua, state of Pará; and in Melgaço, state of Pará, MPEG 15741 was collected in a pitfall trap in an area that has been inundated. Thus, we suggest that this species lives close to water bodies and depends on high levels of humidity in the soil.

In comparison with some other terrestrial caecilians with which may live in sympatry, such as *Siphonops paulensis* Boettger, 1892 in the Cerrado (Maciel et al. 2012), *S. annulatus* (Mikan, 1822),

and *Caecilia tentaculata* Linnaeus, 1758 in the Amazonia (AOM, personal observation), *C. gracilis* releases much less mucus from its skin when handled, dries quickly, and has difficulty moving (AOM, personal obs). It is possible that this species is more susceptible to desiccation than other caecilians, which may indicate a preference for humid habitats.

Siphonops paulensis can inhabit dry areas where no other caecilians are known (Montero et al. 2005; Maciel et al. 2012), and was never found in the same microhabitats as *C. gracilis* in the Cerrado (Maciel et al. 2012). *Siphonops annulatus* and *C. tentaculata* are found generally in humid rainforests (Nussbaum & Hoogmoed 1979; Montero et al. 2005; Borges-Nojosa et al. 2017), but can be observed in areas which are very dry during periods of reduced rainfall (AOM, personal observation). However, comparative morphological studies of the integument and physiology of these species are necessary.

In Africa and Asia, where several species were studied under quantitative ecological methods, terrestrial caecilians are known to occupy a variety of habitats, from forests to agricultural and other anthropogenic habitats (e.g. Oommen et al. 2000; Gaborieau & Measey 2004; Gower et al. 2004; Kupfer et al. 2005; Kouete & Blackburn 2020). In the Neotropical region, habitat preferences of most species are still unknown. Therefore, we encourage the study of the ecology of neotropical caecilians.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Marinus Hoogmoed for the translation of Stahel & Geijskes (1939) providing the data for a Suriname specimen. AOM is supported financially by the Programa de Capacitação Institucional (MPEG/MCTI) grant number 301286/2020 5. Permits for collecting were issued by ICMBio (10569-3).

REFERENCES

Boettger O. 1892. Katalog der Batrachier-Sammlung im Museum der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellshaft in Frankfurt am Main.

Borges-Nojosa D.M., Castro D.P., Lima D.C., Bezerra, C.H., Maciel A.O., Harris D.J. 2017. Expanding the known range of *Caecilia tentaculata* (Amphibia: Gymnophiona) to relict mountain forests in northeastern Brazil: linking Atlantic forests to the Amazon? *Salamandra* 53:429–434.

Gaborieau O., Measey G.J. 2004. Termitivore or detritivore? A quantitative investigation into the diet of the East African caecilian *Boulengerula taitanus* (Amphibia: Gymnophiona: Caeciliidae). *Animal Biology* 54:45–56.

Gower D.J., Loader S.P., Moncrieff C.B., Wilkinson M. 2004. Niche separation and comparative abundance of *Boulengerula boulengeri* and *Scolecomorphus vittatus* (Amphibia: Gymnophiona) in an East Usambara forest, Tanzania. *African Journal of Herpetology* 53:183–190. doi:10.1080/21564574.2004.9635510

Kouete M.T., Blackburn D.C. 2020. Dietary partitioning in two co-occurring caecilian species (*Geotrypetes seraphini* and *Herpele squalostoma*) in Central Africa. *Integrative Organismal Biology* 2:1–16. doi:10.1093/iob/obz035

Kupfer A., Nabhitabhata J., Himstedt W. 2005. Life history of amphibians in the seasonal tropics: habitat, community and population ecology of a caecilian (genus *Ichthyophis*). *Journal of Zoology of London* 266:237–247. doi: 10.1017/S0952836905006849

Latham J. 1790. Index ornithologicus, sive systema ornithologae; complectens avium divisionem in classes, ordines, genera, species, ipsarumque varietates: adjectis synonymis, locis, descriptionibus, &c. Volumen I. - pp. i-xviii [= 1-18], 1-466. Londini. (Leigh & Sotheby).

Linnaeus C. 1758. Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. Editio decima, reformata. Laurentii Salvii, Holmiae. doi:doi.org/10.5962/bhl.title.68927

Maciel A.O., Hoogmoed M.S. 2011. Taxonomy and distribution of caecilian amphibians (Gymnophiona) of Brazilian Amazonia, with a key to their identification. *Zootaxa* 2984:1–53. doi:10.11646/zootaxa.2984.1.1

Maciel A.O., Gomes J.O., Costa J.C.L., Andrade G.V. 2012. Diet, microhabitat use, and an analysis of sexual dimorphism in *Caecilia gracilis* (Amphibia: Gymnophiona: Caeciliidae) from a riparian forest in the Brazilian Cerrado. *Journal of Herpetology* 46:47–50.

Maschio G.F., Prudente A.L.C., Rodrigues F.S., Hoogmoed M.S. 2010. Food habits of *Anilius scytale* (Serpentes: Aniliidae) in the Brazilian Amazonia. *Zoologia* 27:184–190.

Mikan J.C. 1822. Delectus Florae et Faunae Brasiliensis. Fasicule 2. Vindobonae: Antonii Strauss.

Montero I., Reichle S., Kupfer A. 2005. Observations on the reproductive ecology of *Siphonops paulensis* Boettger, 1892 (Gymnophiona: Caeciliidae) in Bolivia. *Salamandra* 41:91–94.

Nussbaum R.A., Hoogmoed M.S. 1979. Surinam caecilians, with notes on *Rhinatrema bivittatum* and the description of a new species of *Microcaecilia* (Amphibia, Gymnophiona). *Zoologische Mededelingen* 54:217–235.

Oommen O.V., Measey G.J., Gower D.J., Wilkinson M. 2000. Distribution and abundance of the caecilian *Gegeneophis ramaswamii* (Amphibia: Gymnophiona) in southern Kerala. *Current Science* 79:1386–1389.

Shaw G. 1802. General Zoology or Systematic Natural History. Volume III, Part 1. Amphibia. London: Thomas Davison.

Stahel G., Geijskes D.C. 1939. Über den Bau der Nester von *Atta cephalotes* L. und *Atta sexdens* L. (Hym. Formicidae). *Revista de Entomologia* 10,1:27–78.

Taylor E.H. 1968. The Caecilians of the world: a taxonomic review: 1–845. University of Kansas Press, Lawrence.

Editora: Sarah Mângia



Figure 1. Site where the two *Caecilia gracilis* were found buried in partially flooded soil in Belém municipality, state of Pará, Brazil.



Figure 2. Male of *Caecilia gracilis* (MPEG 43054) total length 920 mm, Belém municipality, state of Pará, Brazil.



Figure 3. Partial aerial view of Belém showing the locality where the two *Caecilia gracilis* were found (red dot), and the nearest forest fragment (yellow line) which is 340 m from the locality. Image captured from Google Earth Pro.

Predation attempt of *Ameivula cipoensis* (Squamata: Teiidae) by *Tropidurus montanus* (Squamata: Tropiduridae): A citizen science case

André Yves[1,2*], Celso Henrique V. Rios[3], Lúcio M. C. Lima[4], Saulo M. C. Araújo[5], Juliana G. Ferreira[6], Sônia H. S. T. de Mendonça[6], Henrique C. Costa[2,4]

1 Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 69067-375 Manaus, AM, Brazil
2 Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-900 Juiz de Fora, MG, Brazil
3 Hileia Consultoria Ambiental Ltda., 05580-050 São Paulo, SP, Brazil.
4 Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-900 Juiz de Fora, MG, Brazil
5 Conexão Verde Cia. de Aventuras, 35847-000 Santana do Riacho, MG, Brazil
6 Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios, Base Avançada do RAN em Minas Gerais, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 33239-060 Lagoa Santa, MG, Brazil
*Corresponding author. E-mail: andreyves7@gmail.com
DOI: 10.5281/zenodo.5211489

Understanding interspecific interactions, especially predation, provides valuable contributions to the knowledge of biodiversity (Vitt 2000). One such interaction is saurophagy, when a lizard is consumed by another organism, including another lizard (e.g. Siqueira & Rocha 2008; Reis et al. 2017; Guimarães & Srbek-Araujo 2018; Schalk & Cove 2018). Herein we report a saurophagy event between two endemic lizard species from a mountain environment in Brazil: *Tropidurus montanus* Rodrigues, 1987 and *Ameivula cipoensis* Arias et al., 2014.

Tropidurus montanus is a lizard species endemic to the Espinhaço mountain range (Carvalho 2013), which extends for approximately 1500 km in southeastern and northeastern Brazil, with elevations reaching 2000 m above sea level (asl) (Gontijo 2008). It is a saxicolous ambush forager, whose diet is mostly composed of arthropods, especially ants (Van Sluys et al. 2004), although it may prey upon lizards (Kiefer 1998; Reis et al. 2007), including conspecifics (Kiefer & Sazima 2002). The recently described *Ameivula cipoensis* is also endemic to the Espinhaço, but

it has a more restricted known range, reported for Parque Nacional da Serra do Cipó (PNSC) and the municipality of Gouveia, state of Minas Gerais (Arias et al. 2014; Moura & Cruz 2017). The species occurs in low density, observed mostly on shaded rocks, vegetation thickets or sandy soil during the hottest hours of sunny days (Filogonio et al. 2010 [cited as *Cnemidophorus ocellifer*]; Arias et al. 2014). Other than daily activity and microhabitat use (Filogonio et al. 2010; Arias et al. 2014), the natural history of *A. cipoensis* is not known.

On 18 January 2019, at 2 p.m., SMCA was hiking along a trail in a rocky field ("Campo Rupestre"; 19°19′46.81″ S, 43°33′40.32″ W; datum WGS 84; 1056 m asl) in the municipality of Santana do Riacho, Minas Gerais, southeastern Brazil. He noted an adult *Tropidurus montanus* overcoming an *Ameivula cipoensis* (Fig. 1), tightly holding the tail and hindlimbs of its potential prey in its mouth. Upon noticing the observer, the *Tropidurus* fled, carrying the *Ameivula* in its mouth. It was not possible to confirm if the attempted predation succeeded. SMCA was able to take one photograph of the predation attempt (Fig. 1).

Since *A. cipoensis* is the only species of *Ameivula* occurring at Serra do Cipó, our identification was based on the location of record. There are two species of *Tropidurus* at Serra do Cipó: *T. hispidus* and *T. montanus* (Rodrigues 1987; Carvalho 2013). *Tropidurus montanus*, however, is the only one known to inhabit rocky outcrops above 1000 m asl at Serra do Cipó (Rodrigues 1987). Moreover, the color pattern of the photographed specimen, a brownish-green ground color with a series of black marks bordered by yellowish-green dots is diagnostic of *T. montanus* (Rodrigues 1987; A. L. G. Carvalho pers. comm.).

Since there are many records of interactions between *Tropidurus* and *Ameivula* (e.g. Santos et al. 2009; Pergentino et al. 2017; Tavares et al. 2017; Guimarães & Srbek-Araujo 2018), the event reported herein is not surprising. It is, however, noteworthy given the lack of information on natural history of *A. cipoensis*, in addition to this being the first report of a predation attempt on *A. cipoensis*.

We highlight that this report was made possible thanks to the observation by SMCA, a tour guide. Locally employed rangers, tour guides, and residents have more opportunity to make natural history observations than professional scientists on sporadic fieldwork. With technological advances like smartphones with high quality cameras and GPS, citizen science observations contribute important data (e.g. Suprayitno et al. 2017; Ward-Fear et al. 2019;

Maritz & Maritz 2020). Moreover, in cases where the citizen scientist observation has a pivotal role, their inclusion in the authorship of the article should be considered, as in this publication (Ward-Fear et al. 2020).

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to André Luiz Carvalho for confirming the identity of the *T. montanus* specimen. Contact between the scientific team and the citizen science author occurred during a fieldwork expedition for the "Plano de Ação Nacional para Conservação da Herpetofauna Ameaçada da Serra do Espinhaço em Minas Gerais", funded by the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. We also thank both reviewers for their suggestions in this paper revision.

REFERENCES

Arias F., de Carvalho C.M., Zaher H., Rodrigues M.T. 2014. A new species of *Ameivula* (Squamata, Teiidae) from southern Espinhaço mountain range, Brazil. *Copeia* 2014:95–105.

Carvalho A.D. 2013. On the distribution and conservation of the South American lizard genus *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 (Squamata: Tropiduridae). *Zootaxa* 3640:42–56.

Filogonio R., Del Lama F.S, Machado L.L., Drumond M., Zanon I., Mezzetti N.A, Galdino C.A. 2010. Daily activity and microhabitat use of sympatric lizards from Serra do Cipó, southeastern Brazil. *Iheringia, Série Zoologia* 100:336–40.

Gontijo B.M. 2008. Uma geografia para a Cadeia do Espinhaço. *Megadiversidade* 4:7–14.

Guimarães L.J., Srbek-Araujo A.C. 2018. Attempted predation of *Ameivula nativo* by *Tropidurus torquatus* (Reptilia: Squamata, Sauria) with ingestion of tail fragments in southeastern Brazil. *Herpetology Notes* 11:709–713.

Maritz R.A., Maritz B. 2020. Sharing for science: high-resolution trophic interactions revealed rapidly by social media. *PeerJ* 8:e9485.

Moura F.R., Cruz A.J.R. 2017. Geographic Distribution: *Ameivula cipoensis*. *Herpetological Review* 48:810.

Pergentino H.E.S., Nicola P.A., Pereira L.C.M, Novelli I.A, Ribeiro L.B. 2017. A new case of predation on a lizard by *Tropidurus hispidus* (Squamata, Tropiduridae), including a list of saurophagy events with lizards from this genus as predators in Brazil. *Herpetology Notes* 10:225–228.

Reis S.P.V., Pinheiro L.T., Galdino C.A.B. 2017. *Tropidurus montanus*. Saurophagy. *Herpetological Review* 48:202.

Rodrigues M.T. 1987. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo torquatus ao sul do Rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia* 31:105–230.

Santos R.M.L., Cassimiro J., Rodrigues M.T. 2009. *Cnemidophorus ocellifer* (Spix's Whiptail). Attempted Predation. *Herpetological Review* 40:220.

Schalk C.M., Cove M.V. 2018. Squamates as prey: Predator diversity patterns and predator-prey size relationships. *Food Webs* 17:e00103.

Siqueira C.C., Rocha C.F.D. 2008. Predation by lizards as a mortality source for juvenile lizards in Brazil. *South American Journal of Herpetology* 3:82–87.

Suprayitno N., Narakusumo R.P., von Rintelen T., Hendrich L., Balke M. 2017. Taxonomy and Biogeography without frontiers–WhatsApp, Facebook and smartphone digital photography let citizen scientists in more remote localities step out of the dark. *Biodiversity Data Journal* 5:e19938.

Tavares R.V., Sousa I.T.F., Araújo A.B.P., Kokubum M.N.C. 2017. *Ameivula ocellifera* (Spix's Whiptail). Saurophagy. *Herpetological Review* 48:631–632.

Van Sluys M., Rocha C.F., Vrcibradic D., Galdino C.A., Fontes A.F. 2004. Diet, activity, and microhabitat use of two syntopic *Tropidurus* species (Lacertilia: Tropiduridae) in Minas Gerais, Brazil. *Journal of Herpetology* 38:606–11.

Vitt L.J., de Carvalho C.M. 1995. Niche partitioning in a tropical wet season: lizards in the lavrado area of northern Brazil. *Copeia* 1995:305–29.

Ward-Fear G., Rangers B., Pearson D., Bruton M., Shine R. 2019. Sharper eyes see shyer lizards: collaboration with indigenous peoples can alter the outcomes of conservation research. *Conservation Letters* 12:e12643.

Ward-Fear G., Pauly G.B., Vendetti J.E., Shine R. 2020. Authorship protocols must change to credit citizen scientists. *Trends in Ecology & Evolution* 35: 187–90.

Editora: Sarah Mângia



Figure 1. *Tropidurus montanus* capturing an *Ameivula cipoensis* in Campo Rupestre (19°19′46.81″ S, 43°33′40.32″ W) in Parque Nacional da Serra do Cipó, state of Minas Gerais, Brazil.

Instruções para Autores

Para informações sob preparacão e submissão de manuscritos entre em contato com os editores gerais.

email de contato *edgeral.hb@gmail.com*



Polychrus liogaster
Machadinho D Oeste, RO
@Sarah Mângia