Revista EDUCAmazônia

Revista EDUCAmazônia - Educação Sociedade e Meio Ambiente, Humaitá, LAPESAM/GISREA/UFAM/CNPq/
EDUA –ISSN 1983-3423 –IMPRESSA –ISSN 2318 –8766 –CDROOM –ISSN 2358-1468 -DIGITAL ONLINE

UFAM

REESMA, Humaitá - Amazonas, Ano 18, Volume XVIII, nº ESPECIAL, Jul-dez. 2025

PROTOCOLO PADRONIZADO DE AMOSTRAGEM DE ANUROS, LAGARTOS E SERPENTES EM MÓDULOS RAPELD

STANDARDIZED PROTOCOL FOR SAMPLING ANURANS, LIZARDS AND SNAKES IN RAPELD MODULES

Jussara Santos Dayrell[1], Kelly Torralvo[2], Michel Varajão Garey[3], Anthony Santana Ferreira[4], Carla Costa Siqueira[5], Juliane Pereira-Ribeiro[5], Pedro Ivo Simões[6], Carlos Frederico Duarte Rocha[5] & Albertina Pimentel Lima[7]

Resumo:

Este protocolo visa otimizar a eficiência das amostragens e garantir a padronização dos dados coletados, permitindo que os estudos de herpetofauna terrestre realizados nas diferentes regiões do Brasil sejam comparáveis entre si, em termos de esforço e demais parâmetros de amostragem, com elevado grau de confiança científica. Nos diferentes sítios do PPBio, foram implementados os módulos e grades do método RAPELD visando a coleta de dados padronizados e permitindo a comparação entre os sítios. As amostragens de anuros e de serpentes foram unificadas em um único protocolo, já que ambos podem ser amostrados durante a época chuvosa de forma simultânea em monitoramentos noturnos. Já os lagartos, são amostrados no período diurno na estação seca. Cada parcela deverá ser amostrada três vezes por estação. Em áreas comparativamente mais remotas a amostragem deverá ser feita em três dias consecutivos na estação daquele ano de acordo com o grupo focal correspondente. Nas parcelas, devem ser aplicados os métodos de amostragem ativa nos períodos diurno e noturno, como a busca ativa, o registro auditivo e a revirada de serrapilheira. O uso de um método padronizado para o monitoramento da herpetofauna é essencial para a obtenção de dados em larga escala e em longos períodos. Permite a comparação entre diferentes ecossistemas e ambientes com distintos níveis de influência humana, além de viabilizar a realização de estudos contínuos e replicáveis em diferentes locais e épocas. Os resultados devem ser comparáveis não apenas entre biomas no Brasil, mas também entre biomas brasileiros e ecossistemas de outros continentes.

Palavras-chave: Amazônia, Mata Atlântica, Herpetofauna, Monitoramento, Delineamento.

[1] Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Coordenação de Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo, 2936, Aleixo, CEP 69060-001, Manaus, AM, Brasil. E-mail: jussaradayrell@gmail.com

[2] Grupo de Pesquisa em Ecologia de Vertebrados, Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé, AM, Brasil

[3] Laboratório de Ecologia de Metacomunidades, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, PR, Brasil.

[4] Programa de Pós-Graduação em Ecologia e PPBio-AmOr, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil.

Abstract:

The RAPELD protocol aims to optimize sampling efficiency and ensure the standardization of collected data, thus allowing confident comparisons of herpetofauna studies conducted in different regions of Brazil. We describe standardized sampling protocols designed to collect high quality data for anurans and squamates at RAPELD modules implemented at PPBio sites. We developed a single protocol for anurans and snakes because each of these taxa can be sampled simultaneously during the rainy season using nocturnal monitoring. A separate protocol was developed for lizards because they are typically sampled during the daytime in the dry season and only occasionally at night. Ideally, each plot should be sampled three times per season. In comparatively more remote areas, where monitoring at different times of the year is not feasible, sampling should be conducted over three consecutive days during the appropriate season for the focal group. Active sampling methods should be applied at the plots, including active searching, auditory recording, and litter turning. Using a standardized method for monitoring terrestrial herpetofauna is essential for obtaining data on a large scale and over long periods. It enables comparisons between different ecosystems and environments with varying levels of human influence, while also allowing continuous and replicable studies to be conducted across various locations and periods. Our methods using RAPELD result in data that can be compared between biomes within Brazil and between Brazilian biomes and ecosystems on other continents.

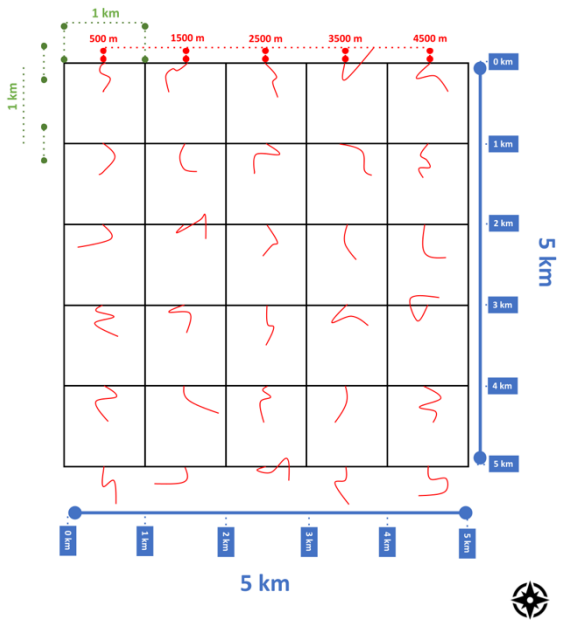
Keywords: Amazon, Atlantic Forest, Herpetofauna, Monitoring, Design.

[5] Laboratório de Ecologia de Vertebrados, Departamento de Ecologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
[6] Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Pernambuco, PE, Brasil.
[7] Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Coordenação de Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, Brasil

O que é o RAPELD?

O RAPELD é um sistema padronizado de infraestrutura de campo voltado ao monitoramento integrado da biodiversidade e de processos ecossistêmicos. Ele combina padronização e flexibilidade, permitindo sua aplicação em diferentes ecossistemas. Seu objetivo é atender à demanda por **levantamentos rápidos de biodiversidade** (RAP) e por uma metodologia padrão para **pesquisas ecológicas de longa duração** (PELD). A infraestrutura consiste em grades (*grids*) ou módulos de pesquisa com trilhas principais de 5 km e parcelas uniformemente distribuídas de 250 metros, instaladas a cada 1 km. Em áreas com cursos d'água, incluem-se parcelas ripárias (250 metros) e aquáticas (50 metros), complementando a amostragem em ambientes específicos. Essa disposição maximiza a representatividade de diferentes grupos taxonômicos e variações ambientais, sendo facilmente replicável em outras localidades, o que permite comparações em diversas escalas espaciais e temporais. Além disso, favorece a integração de dados ecológicos e informações sobre uso sustentável de recursos, sendo amplamente aplicado no Brasil para subsidiar políticas de manejo ambiental.

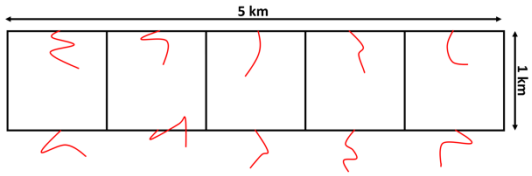
Grid de amostragem com as trilhas principais de 5 km e parcelas dispostas a cada 1 km



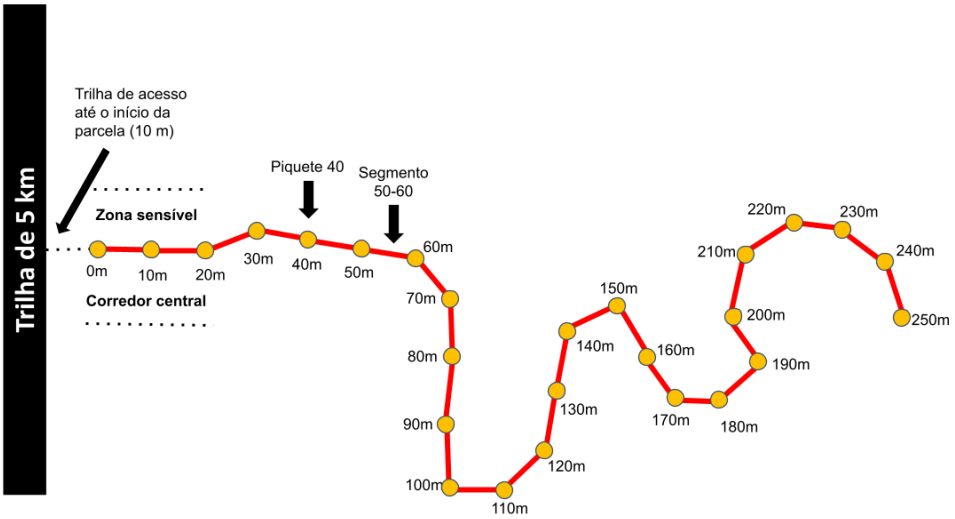
As **parcelas uniformemente distribuídas** são transectos de 250 metros de comprimento posicionados ao longo de curvas de nível, com larguras ajustadas conforme o grupo taxonômico ou variável estudada. Essa disposição minimiza os efeitos da topografia sobre as condições ambientais dentro das parcelas, garantindo que as variações sejam registradas entre parcelas, e não dentro delas, já que cada parcela é a unidade amostral central na maioria dos estudos. Piquetes são instalados a cada 10 metros e conectados por uma linha central marcada com barbante plástico ou fitilho, facilitando a aplicação dos protocolos metodológicos. À esquerda da linha central, localiza-se a **zona sensível**, uma faixa de 1,5 metros dedicada a estudos de regeneração florestal, onde o trânsito de pesquisadores é restrito para evitar pisoteio. À direita, há um **corredor de deslocamento** de 1 metro de largura que permite a movimentação dos pesquisadores.

As **parcelas ripárias** estão localizadas às margens de pequenos cursos d'água, também com 250 metros de comprimento. Cada parcela é demarcada ao longo da margem direita do curso d'água, seguindo em direção à nascente (montante), com piquetes a cada 10 metros. Elas sempre começam onde a trilha principal da grade ou módulo cruza o curso d'água

Módulo de amostragem com as trilhas principais de 5 km e parcelas dispostas a cada 1 km



As **parcelas aquáticas fixas** são posicionadas nos canais dos riachos, geralmente a 10 metros da trilha principal. Cada parcela mede 50 metros de comprimento, com piquetes nos pontos 0, 16, 32 e 50 metros, instalados próximos às margens para representar adequadamente o ambiente aquático.



1 INTRODUÇÃO

Os anuros (Lissamphibia, Anura), lagartos e serpentes (Reptilia, Squamata) são grupos que compõem a herpetofauna terrestre e são amplamente utilizados para estudos científicos e diagnósticos ambientais, por constituírem bons modelos para estudos ecológicos (Campbell & Christman, 1982; Fraga et al., 2014; Dayrell et al., 2021). Os anuros são utilizados como modelos para estudos ambientais, entre outras razões, porque são de fácil monitoramento em campo e seu levantamento exige esforço de amostragem relativamente baixo (Duellman & Trueb, 1994). Além disso, esses organismos são sensíveis às alterações no ambiente, como à poluição e às variações climáticas, devido às suas características biológicas, como a ectotermia, a alta permeabilidade da pele e, para a maioria das espécies, dependência da água para a reprodução e desenvolvimento larval (Skelly, 1996; Duellman, 1999). Nas florestas tropicais da região Neotropical (ex., Amazônia e Mata Atlântica), encontramos espécies noturnas e diurnas de anuros. As variações no ritmo circadiano das espécies estão diretamente associadas com a atividade de canto dos machos (Zigler et al., 2023), sendo que, no geral, os cantos são frequentemente detectados no período noturno, ao amanhecer e ao entardecer. Nos anuros, os cantos emitidos pelos machos são espécie-específicos e são amplamente utilizados para a identificação, permitindo a determinação da espécie mesmo na ausência da observação direta do indivíduo cantando (Gingras et al., 2013).

Os lagartos constituem um grupo diverso e são amplamente utilizados em estudos ecológicos e ambientais devido à sua ampla distribuição e variabilidade de comportamentos (Pianka & Vitt, 2003). Eles são frequentemente estudados para entender padrões de diversidade e de distribuição em diferentes ecossistemas (Pianka & Vitt, 2003; Vitt & Caldwell, 2013). Na Amazônia e na Mata Atlântica, a maioria das espécies de lagartos são diurnas e ocupam tipos de microhabitats, que vão desde o nível do solo até as copas das árvores. Geralmente, cada espécie possui adaptações únicas a seu habitat (Fuentes et al., 2018; Strangas et al., 2019). Os lagartos são, de forma geral, vulneráveis às modificações do ambiente, como ao desmatamento e às mudanças climáticas, devido à baixa capacidade de deslocamento e alta especificidade de habitat (Pianka & Vitt, 2003; Ribeiro & Freire, 2011), o que os torna indicadores apropriados de efeitos das perturbações ambientais e mudanças na estrutura da vegetação sobre a fauna (Peixoto et al., 2023).

As serpentes também são utilizadas para testar mudanças nas assembleias ao longo das paisagens devido à alta diversidade de espécies (Bernarde et al., 2012). No entanto, sua baixa detectabilidade representa, em parte, um desafio metodológico, limitando a interpretação das respostas desse grupo às alterações ambientais, principalmente em amostragens no curto prazo (Fraga et al., 2014). As serpentes possuem uma ampla diversidade de padrões de atividade e de uso de habitats: algumas espécies são predominantemente diurnas, enquanto outras são noturnas além de espécies catemerais (que utilizam de forma intercambiável o período diurno e noturno); há espécies arborícolas, terrícolas, aquáticas, semi-aquáticas e fossoriais (Marques et al., 2019; 2023). Adicionalmente, as serpentes podem ser encontradas inativas, tanto no solo quanto nas árvores, durante o dia ou à noite.

1.1 Histórico do protocolo

O primeiro protocolo de amostragem da anurofauna terrestre criado para as parcelas padronizadas do PPBio/RAPELD, intitulado "*Roteiro para levantamentos e monitoramento de anuros diurnos em grades e módulos RAPELD do PPBio na Amazônia*", foi elaborado em 2012 por Pedro Ivo Simões, Albertina P. Lima e Maria Carmozina de Araújo. Esse protocolo inicial focou exclusivamente na amostragem de anuros diurnos (disponível em https://ppbio.inpa.gov.br/sites/default/files/ANUROS_DIURNOS_v2014.pdf).

Alguns exemplos de locais em que foram instalados módulos ou grades RAPELD e que já foram realizadas amostragens com as primeiras versões do protocolo de amostragem da herpetofauna terrestre são: Reserva Florestal Adolpho Ducke (Manaus-AM), Reserva Biológica do Uatumã (Presidente Figueiredo-AM), Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Rio Negro (Manacapuru, Iranduba e Novo Airão-AM), Floresta Nacional de Tefé (Tefé-AM), Parque Nacional do Viruá (Caracaraí-RR), Estação Ecológica de Maracá (Amajari-RR), Alter do Chão (PA) e Floresta Nacional do Tapajós (Rurópolis-PA) (Menin et al., 2007; Menin et al., 2008; Menin et al., 2011; Ribeiro et al., 2012, Torralvo et al., 2022, Pereira et al., 2024). Entre os estados de Rondônia e Amazonas, há uma série de módulos instalados ao longo da BR 319 e ao longo do rio Madeira, em diversos municípios (para mais detalhes sobre a localização dos módulos, acesse https://ppbio.inpa.gov.br/sitios) (Dayrell et al., 2021; Peixoto et al., 2020; Peixoto et al., 2023). A partir de extensas amostragens realizadas nos últimos 30 anos nestes e em

outros módulos e grades RAPELD instalados em diversas regiões da Amazônia, foi possível refinar e aperfeiçoar o protocolo de amostragem da herpetofauna terrestre. Esse processo de aperfeiçoamento resultou em uma nova versão do protocolo, visando a padronização das amostragens para anuros (diurnos e noturnos), lagartos e serpentes.

Na Mata Atlântica, de forma geral, foi utilizado um protocolo RAPELD com base naquele originariamente utilizado nas amostragens na Amazônia, tanto para anfíbios anuros quanto para lagartos, mas com alguns ajustes para paisagens específicas da Mata Atlântica. Módulos de amostragem com estudos de herpetofauna incluem a Reserva Natural Vale (Linhares-ES) (Pereira-Ribeiro et al., 2022a) e outras áreas do Espírito Santo. A maior parte dos dados disponíveis para a Mata Atlântica sobre anfíbios e répteis com base em módulos RAPELD resulta dos estudos realizados nestas áreas (ex., Gomez-Mesa et al., 2017; Pereira-Ribeiro et al., 2017; Cozer et al., 2020; Pereira-Ribeiro et al., 2020a; 2020b; 2022), incluindo um estudo sobre jabutis (Pereira-Ribeiro et al., 2024).

Aqui apresentamos um protocolo já testado em diferentes locais do Brasil, por diferentes pesquisadores, técnicos e auxiliares de campo. No presente protocolo foram incorporadas as experiências, os acertos e as sugestões baseadas nas aprendizagens adquiridas ao longo dos anos, resultando em um método robusto e eficaz para obtenção de dados representativos da herpetofauna terrestre em áreas da Amazônia e Mata Atlântica. Portanto, este protocolo de amostragem da herpetofauna terrestre representa o fruto de mais de 30 anos de experiência de amostragem nos módulos e grades RAPELD.

Além dos anuros, o protocolo atualizado inclui serpentes e lagartos, combinando a amostragem noturna de anuros e serpentes, otimizada para a estação chuvosa devido ao ritmo circadiano e às características comportamentais da maioria das espécies. Já os lagartos, são preferencialmente amostrados na estação seca, em levantamentos diurnos, podendo ser complementados para espécies noturnas durante os levantamentos noturnos dos demais grupos da herpetofauna. O presente protocolo busca a obtenção de dados representativos das comunidades de anfíbios anuros, serpentes e lagartos de florestas tropicais, utilizando métodos de baixo custo financeiro e de fácil replicação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Antes de iniciar as amostragens em campo para a coleta de dados é necessária a obtenção de licenças e registro do projeto. Projetos envolvendo a herpetofauna brasileira

que realizem a captura e coleta de espécimes devem obter a respectiva licença de pesquisa emitida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), através da plataforma Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) (https://sicae.sisicmbio.icmbio.gov.br). Não se deve coletar qualquer material relacionado à biodiversidade brasileira sem a obtenção de autorização de coleta emitida pelo SISBIO/ICMBio. Além disso, caso o projeto mantenha e/ou utilize os animais vivos para ensino ou pesquisa científica na Instituição (por exemplo, no caso de experimentos em laboratório), ele deverá obter concordância do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição executora, se houver. Os protocolos de eutanásia devem seguir as normas aceitas pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios do ICMBio (RAN/ICMBio) e pelo CEUA. Por fim, de acordo com a Lei Brasileira da Biodiversidade, as pesquisas envolvendo o patrimônio genético brasileiro devem ser cadastradas na plataforma Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) (https://sisgen.gov.br/). Em caso de amostragem dentro de unidades de conservação estaduais e municipais, recomendamos a consulta às legislações pertinentes dos estados e municípios. No caso de áreas de Unidades de Conservação (UC's) ou de áreas particulares, ainda que o pesquisador obtenha a licença do SISBIO/ICMBio, também é necessário obter a autorização pelo gestor da Unidade de Conservação ou do proprietário da área.

Importante saber antes de tocar em um animal

Para não haver acidentes, todas as serpentes devem ser coletadas com os materiais apropriados para contenção do animal. Antes de tocar em um anuro, verificar que suas mãos estão livres de repelente. Durante o manuseio de anuros, nunca passar as mãos nos olhos ou na boca.

2.1 Material de campo

Os materiais utilizados em campo na amostragem da herpetofauna terrestre (Anura e Squamata) variam de acordo com o período de amostragem (diurno ou noturno) e com o método utilizado (busca ativa visual ou busca ativa com remoção da serrapilheira).

Abaixo sumarizamos uma lista de material de campo indispensável para a amostragem:

- Galocha/bota de borracha;

- Lanterna, preferencialmente de cabeça, com longo alcance;
- Lanterna extra para emergências;
- Baterias/pilhas para as lanternas (se não forem recarregáveis);
- Sacos plásticos transparentes de três tamanhos (preferencialmente de 2, 3 e 5 kg);
- Sacos de pano;
- Cumbucas feitas com garrafas "*pet*" com o fundo cortado, usadas para capturar pequenos anuros muito rápidos como os Dendrobatoidea (Figura 1). Utilizada para captura de pequenos animais, como anuros e lagartos, sem feri-los. Também são muito importantes para a captura de animais vivos, para a realização de experimentos;
- Gravador digital, de preferência com microfone direcional ou aplicativo de celular para gravações de sons dos animais em formato de alta qualidade (por exemplo, .WAV);
- Termohigrômetro;
- Câmera fotográfica digital ou celular com boa câmera, com lente ou função *macro*;
- Relógio de pulso;
- Canetas do tipo marcador permanente;
- Lápis e borracha;
- Pranchetas de anotação;
- Ficha de campo (sempre em quantidades extras) ou cadernetas impermeáveis para dias chuvosos (ex., *Rite In The Rain*; cadernetas elaboradas a partir de folhas de PVC A4; nestes casos, é importante que as páginas das cadernetas contenham as informações que devem ser preenchidas durante as amostragens);
- Equipamento de orientação, como bússola ou GPS ou aplicativo de celular para localização;
- Um guarda-chuva (útil para fotografar ou gravar animais sob chuva fraca);
- Gancho e/ou pinção para captura e manuseio de serpentes;
- Ancinho ou rastelo de metal para jardim para busca no folhiço do chão da floresta ou em fendas.

O número de fichas de campo a serem levadas deve corresponder ao número de parcelas multiplicado pelo número de vezes que cada parcela será amostrada durante a

campanha. Levar sempre uma ou duas fichas a mais para o caso de perder ou molhar. Por razões de segurança, as amostragens são normalmente realizadas em duplas. Quando houver mais de uma dupla trabalhando simultaneamente, cada dupla deve carregar consigo o material de campo essencial listado acima.

Tenha sempre em mãos uma cópia das autorizações de coleta e transporte emitidas pelos órgãos responsáveis durante as amostragens no campo e durante o transporte dos espécimes até a instituição de destino.

Figura 1 - Cumbuca preparada removendo-se o fundo de uma garrafa pet e uso da cumbuca no campo.

2.2 Métodos de amostragem

Cada parcela de amostragem deverá ser percorrida por uma dupla de amostradores, sendo um deles biólogo, que devem restringir seu percurso ao interior do corredor central. Os amostradores podem sair do corredor central, sem pisar na área sensível, para capturar algum espécime que por acaso tenham observado em pontos mais distantes ou para revirar algum tronco/pedra. Os amostradores deverão registrar todas as espécies visualizadas ou registradas auditivamente no interior da área de amostragem. Na quantificação da abundância relativa de anuros nas amostragens, utilizamos como critério de registro a detecção de um único indivíduo por espécie, em cada segmento de 10 m de comprimento da parcela de 250 m. Essa contagem serve tanto para animais detectados via audição, visualização ou mesmo coletado. Estes dados permitem o cálculo de um índice de abundância relativa, que varia entre zero e 25 registros de cada espécie na

parcela. Assim, o número máximo de registros por espécie de anuro em um dado levantamento em cada parcela será 25. Essa padronização, baseada na presença/ausência em cada segmento, é necessária devido à dificuldade de contagem de indivíduos de algumas espécies muito abundantes, especialmente algumas de pequeno porte (ex., *Adenomera* spp., *Allobates* spp., *Phyzelaphryne* spp., *Pristimantis* spp.; *Physalaemus* spp., *Pseudopaludicola* spp.).

2.2.1 Busca ativa visual e auditiva – Princípios gerais

A busca visual e auditiva de indivíduos limitada por espaço (Campbell & Christman, 1982; Scott, 1994) é o método utilizado para a amostragem em parcelas RAPELD e foi adaptado de acordo com algumas especificações. A amostragem deve ser realizada ao longo de todas as parcelas dos módulos ou grades, e consiste na procura visual e auditiva ao longo de uma faixa pré-estabelecida de 250 m de comprimento. Essa procura pode ser realizada simultaneamente por um ou dois observadores em cada segmento (i.e., intervalo de 10 m de cada parcela, logo, cada parcela contém 25 segmentos), já determinados ao longo do percurso na parcela pelos piquetes, com duração estimada de dois ou três minutos em cada segmento.

A busca visual deve ser realizada de forma restrita em um raio individual de 10 m de distância horizontal até 5 m na direção vertical procurando por animais na serrapilheira, tronco de árvores e arbustos. A procura por serpentes é realizada concomitantemente à busca por espécies de anuros noturnos. A grande maioria das espécies é encontrada vagando pela serrapilheira ou dormindo sobre os galhos e arbustos, em pedras e frestas em afloramentos rochosos, os quais devem ser investigados com cuidado.

A busca ativa auditiva consiste em caminhar ao longo do corredor central da parcela, de forma atenta, ouvindo o canto das espécies. É importante utilizar um gravador ou aplicativo de celular para as gravações na amostragem auditiva. Deve-se fazer gravações em cada segmento da parcela (para confirmações posteriores) e gravações de espécies ainda não conhecidas para o local. Não há tempo máximo ou mínimo de gravação, devendo-se respeitar o período total dos cantos de cada espécie. Os dados coletados deverão ser anotados na planilha de campo antes de se iniciar o novo segmento da parcela. É fundamental garantir que não haja o registro auditivo do mesmo indivíduo

em diferentes segmentos da parcela, uma vez que é possível ouvir o canto do mesmo indivíduo das espécies que cantam alto em mais de um segmento.

Essas gravações feitas durante as amostragens são importantes para identificações posteriores. No início de cada gravação, o responsável deve indicar: data, horário da amostragem, nome do módulo/grade, número ou código da parcela, o segmento da parcela e os nomes dos integrantes da equipe. Posteriormente, recomendamos o depósito das gravações em coleções científicas de sons (ex.: Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard).

- ***Busca ativa visual e auditiva no período crepuscular***

Buscas realizadas em horário próximo ao crepúsculo servem para registro de anuros com hábitos diurnos ou crepusculares (ex., *Allobates* spp., *Adenomera* spp., e *Pristimantis* spp., entre outros), que dificilmente são registrados após o pôr-do-sol em muitas áreas após as 19:00 h. A amostragem deverá iniciar 1:30 h (uma hora e meia) antes do crepúsculo, e se estender no máximo até 30 minutos após este. Em muitas regiões, a amostragem ocorrerá entre as 16:30 h e 18:30 h, dependendo da latitude. A amostragem em cada parcela deverá durar de 30 a 40 minutos.

O método normalmente utilizado na busca ativa crepuscular é essencialmente auditivo, sendo complementada pela busca visual (para exemplo da busca crepuscular veja https://www.youtube.com/watch?v=k0W8I9kyoBY).

Figura 2 - Utilização de gravador (A) e anotação das informações em ficha de campo (B).

- ***Busca ativa visual e auditiva no período noturno***

Buscas noturnas deverão ter início meia hora após o crepúsculo. Cada parcela deverá ser percorrida por uma dupla de pesquisadores durante uma hora, aproximadamente. A dupla deverá percorrer a parcela dentro do corredor central e deverá tomar nota de todas as espécies avistadas ou registradas auditivamente. Ao final de cada

segmento de 10 m, os pesquisadores deverão anotar os dados obtidos no segmento antes de começar a amostragem no próximo. O tempo para anotação dos dados não deverá ser contabilizado no esforço de amostragem. Eventualmente, em novos locais, ainda não amostrados anteriormente para anfíbios e répteis, o tempo de amostragem poderá durar de 1:30 h a 2 h, pois é necessário gravar e coletar todas as espécies registradas identificação correta das espécies.

Utilizando esse método de amostragem é possível a detecção de anuros, de lagartos em repouso, de serpentes noturnas em atividade e de serpentes arborícolas diurnas em repouso.

Figura 3 - Realização da busca ativa visual e auditiva noturna e visualização de serpentes arborícolas.

- ***Busca ativa visual e auditiva no período diurno***

Essa amostragem é ideal para a procura de lagartos heliotérmicos e serpentes diurnas que tem seu pico de atividade nas horas mais quentes do dia. A sugestão é de que o turno de amostragem seja entre 9:00 e 16:00 h, com duração aproximada de 1:30 h (uma hora e meia) de buscas em cada parcela.

Essa amostragem é dividida em dois métodos que podem ser utilizados em conjunto. Na primeira passagem que seria o caminhamento do piquete 0 ao 250m poderá

ser realizada a contagem ativa visual diurna. Este método consiste em caminhar de forma lenta e atenta pelo corredor central de cada parcela para permitir ouvir qualquer ruído ou observar indivíduos, principalmente no chão da floresta, já que muitas das espécies diurnas são terrícolas. Essa procura pode ser realizada simultaneamente por um ou dois observadores em cada segmento da parcela (identificados pelos pirquetes). Cada observador deverá ficar parado por aproximadamente dois ou três minutos, realizando a busca por lagartos e serpentes em um raio de 3 m em todas as direções (vertical e horizontal), em troncos caídos e arbustos e pedras, em um esquema semelhante ao mostrado na figura 3. No retorno da passagem na parcela, ou seja, no retorno do caminhamento do piquete 250 até o 0 m, poderá ser realizada a busca ativa na serrapilheira com a retirada de folhas mortas e troncos caídos (ver próxima seção). São duas amostragens distintas em uma parcela, uma na ida e outra no retorno.

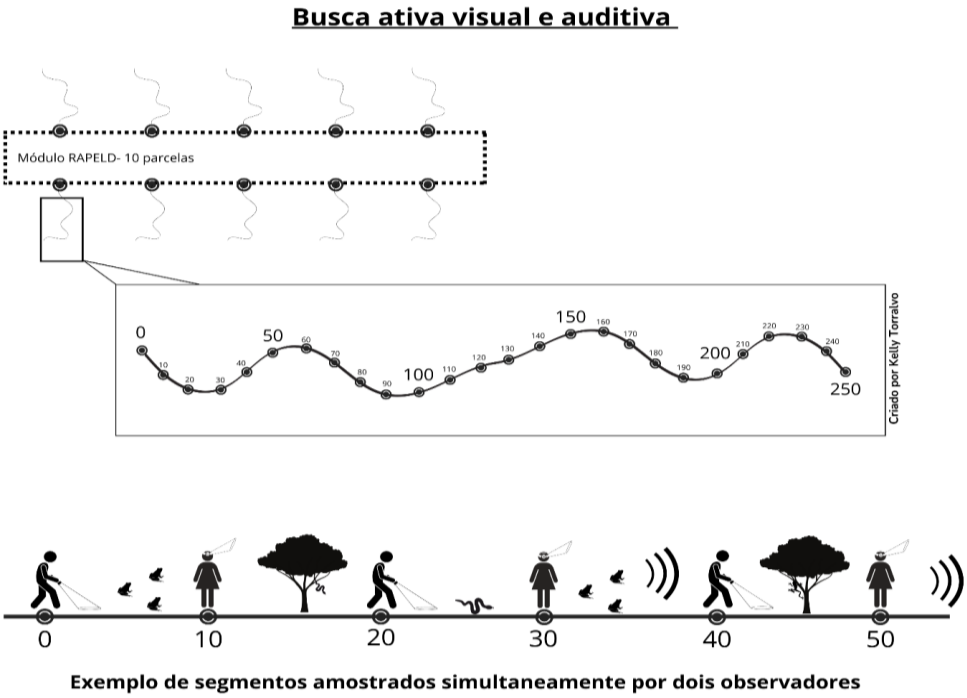


Figura 4 - Esquema representativo do método de busca ativa visual e auditiva feito em parcelas instaladas na curva de nível em módulos RAPELD.

2.2.2 Busca ativa com revirada de serrapilheira

A busca ativa na serrapilheira é realizada após a contagem ativa visual diurna para evitar a perturbação do local. Ou seja, na ida será a busca ativa e no retorno da parcela (do 250 m ao 0) será a busca ativa na serrapilheira. Consiste na revirada da serrapilheira em nove segmentos de 10 m de comprimento por 1 m de largura, distribuídos

uniformemente ao longo dos 250 m da parcela por duas pessoas, sempre alternando 20 m. A serrapilheira deve ser cuidadosamente revirada naqueles nove segmentos de 10 m de comprimento por 1 m de largura. Essa faixa deve ser oposta à área sensível e no outro lado do corredor central. Os segmentos amostrados devem ser os seguintes: 0-10; 30-40; 60-70; 90-100; 120-130; 150-160; 180-190; 210-220 e 240-250 m.

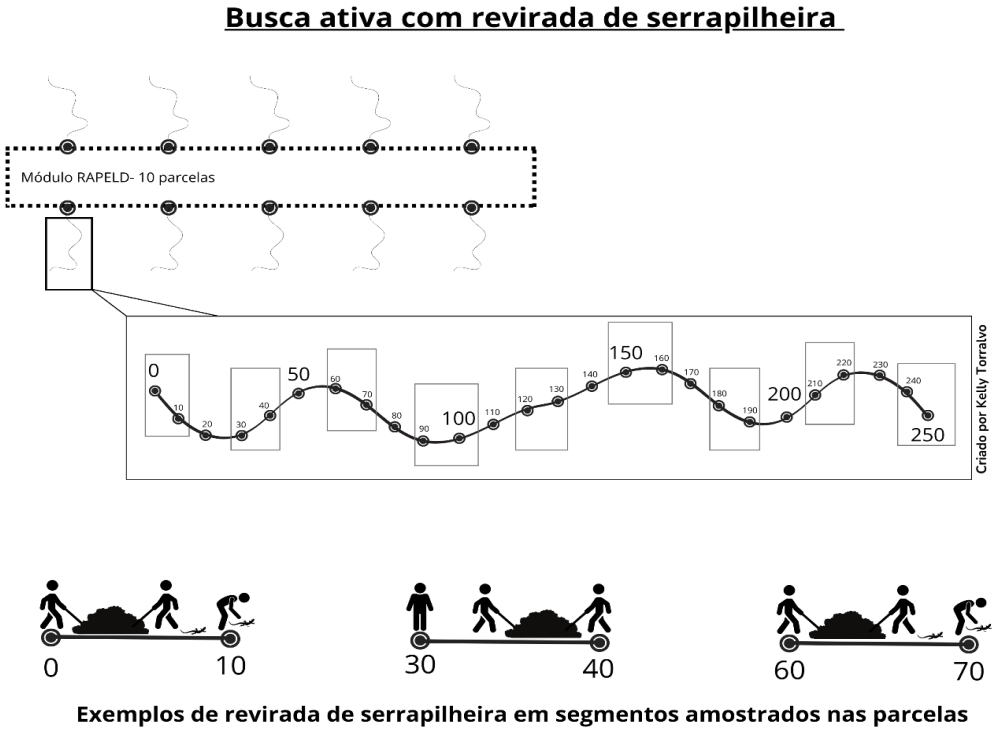


Figura 5 - Esquema representativo do método de busca ativa com revirada de serrapilheira realizado em parcelas instaladas seguindo a curva de nível em módulos RAPELD.

Figura 6 - Realização da busca ativa com revirada de serrapilheira e visualização de serpente dormindo na serrapilheira.

2.2.3 Período e número mínimo de amostragens

Na Amazônia e na Mata Atlântica, a maioria das espécies de anfíbios anuros possui uma estação reprodutiva definida, com poucas espécies reproduzindo ao longo de todo o ano. Devido à alta diversidade de anuros nestas florestas tropicais, algumas espécies possuem divisão temporal no período reprodutivo e, assim, reduzem ou mesmo evitam a competição dos girinos nas poças ou um superpovoamento de metamórficos (Lima & Magnusson, 1998). Os períodos chuvosos são melhores para a amostragem, pois a maioria das espécies se reproduz nesta época (Menin et al., 2008; Garey & Da Silva, 2010), favorecendo a detecção das espécies pelo canto e visualmente pela movimentação dos indivíduos para os corpos d'água utilizados para a reprodução (Lima et al., 2012).

Durante a estação chuvosa existe uma distribuição sazonal do período reprodutivo das espécies. Algumas espécies se reproduzem no início da estação chuvosa entre novembro e dezembro, seguidos por um grupo de espécies que precisam do estabelecimento de poças temporárias isoladas e, portanto, a reprodução ocorre entre janeiro e fevereiro. Posteriormente, outras espécies só se reproduzem quando o solo está muito encharcado e as poças estão no máximo de seu nível d'água, geralmente entre março e abril. Diante deste cenário, é importante distribuir as amostragens ao longo dos meses da estação reprodutiva. O ideal é que sejam realizadas três campanhas para coleta dos dados: uma no início da estação chuvosa (novembro/dezembro na Amazônia e outubro/novembro na Mata Atlântica), uma no pico da estação chuvosa (janeiro/fevereiro na Amazônia e dezembro/janeiro na Mata Atlântica) e uma no fim da estação chuvosa (março/abril na Amazônia e fevereiro/março na Mata Atlântica). Sempre lembre de seguir as variações climáticas locais. Isso permite que se detecte um maior número de espécies de anuros da região. Contudo, em caso de restrição de recursos financeiros ou de problemas por questões logísticas (ex, uma área remota de difícil acesso, sem perspectiva de retorno), as amostragens de cada parcela podem ser realizadas três vezes, em dias consecutivos, de preferência no meio da estação chuvosa (janeiro ou fevereiro).

Os pesquisadores podem amostrar duas parcelas por noite de amostragem, iniciando a amostragem crepuscular em uma parcela (por exemplo, parcela 500), seguindo para a próxima (no caso do nosso exemplo, parcela 1500) para mais uma amostragem crepuscular, onde devem aguardar anoitecer. Ao escurecer totalmente, os pesquisadores dão início à amostragem noturna, que dura cerca de uma hora, e retornam para a parcela amostrada inicialmente no crepúsculo (no caso do nosso exemplo, parcela

500), onde realizam a amostragem noturna. Quando a expedição conta com mais de uma equipe (por exemplo, três equipes) essas amostragens podem ser distribuídas pela trilha correspondente às parcelas, sendo possível finalizar uma amostragem (das três necessárias) de cinco ou seis parcelas em uma única noite. Essa estratégia pode facilitar a logística demandada, resultando em economia de recursos financeiros e esforço físico dos pesquisadores.

Para os lagartos, a amostragem é mais adequada durante o período mais seco, pois há mais luz disponível no interior da floresta, aumentando o tempo de atividade de forrageio e, consequentemente, a detectabilidade (Pianka & Vitt, 2003). Assim, a sazonalidade deve ser levada em conta quando planejamos um cronograma de campanhas de monitoramento.

Adicionalmente, para incrementar as listas de espécies por módulo, também devem ser registradas as espécies detectadas fora das parcelas, ao longo das trilhas de deslocamento e em locais próximos aos acampamentos. Esses dados são considerados como encontros ocasionais, e não são incluídos nas análises estatísticas de comparações de parcelas, mas são úteis para complementar a lista de espécies da região.

Lembrete

Sugerimos levar guias de campos, artigos de lista de espécies, pranchas de fotos e gravações de potenciais espécies da área ou região para auxiliar nas identificações prévias e se preparar para identificar o que for encontrado.

2.2.4 Orientações para o preenchimento de fichas e banco de dados

Nas fichas abaixo, há exemplos de como preencher as fichas de campo e o banco de dados. Segue a explicação de cada item. Pode haver modificações de acordo com a especificidade de cada projeto e módulo.

Quadro 1 - Metadados da ficha modelo de campo

FICHA DE CAMPO	
Nome da Coluna	**Comentário**
Projeto	Nome do Projeto específico.
Módulo/Grade	Nome do módulo ou grade RAPELD.
Trilha e Parcela	Nome da trilha e da parcela que será amostrada.
Equipe de campo	Nome de todos os integrantes que irão amostrar aquela parcela.

Tem. ar °C:	Se usar um termo-higrômetro, pode medir a temperatura do ar ou da água (a seu critério, de acordo com o objetivo do estudo).
Umi %:	Umidade relativa do ar.
Coordenadas	Coordenadas geográficas da parcela.
Hora início e Hora fim	Hora exata que a amostragem iniciou e finalizou. Aqui poderá ser visto se a amostragem é diurna, crepuscular ou noturna.
Espécies	Nome científico das espécies registradas.
Grupo	Qual o grupo que pertence (anuros, serpentes, lagartos).
EO	Número de indivíduos registrados em encontros ocasionais, fora da parcela e ao longo da trilha.
Vocal	Número de indivíduos registrados cantando na parcela.
Avist	Número de indivíduos registrados por avistamento na parcela.
Seg. parcela (0 a 25)	Em qual segmento foram feitos os registros. São 25 segmentos de 10 m em uma parcela de 250 metros.
N° Col	Número de indivíduos coletados.
Pos. Tril (EO)	Em qual posição da trilha, aproximadamente, se o registro foi ocasional.
N° Campo	Qual o número de coleta de campo se o espécime foi coletado.
Observação	Qualquer observação que achar pertinente.

Projeto Biodiversa

Temp ar °C	
Umid %	

Folha:_____

Módulo: RDS - M1
Trilha: Trilha Norte – P 1500 **Coordenadas:** 07°09.086'S 70°47.908'W
Equipe de campo: Jussara, Kelly, Albertina
Data: 04/10/2024 **Hora Inicio:** 19:15 **Hora Fim:** 21:00

Espécies	Grupo	N° de Indivíduos			Seg. parc (0 a 25)	N° Col	Grv	Pos. Tril (EO)	N° Campo	Observação
		EO	Vocal	Avist.						
Adenomera hylaedactyla	Anura		4	1	1,2,3,9,12	1	Sim		MZ04	
Spilotes pullatus	Serpente	1			----------	1		2.300	MZ05	Estava predando outro animal
Tupinambis teguixim	Lagarto			1	22	1			MZ06	
Boana boans	Anura			3	18,22,25	0	Não			Coletado desova

Figura 7- Modelo de ficha de campo (ver arquivo original em material suplementar S1). Em vermelho está o que se deve preencher em campo a lápis.

Registro Geral de Coleta em Campo - Laboratório - Projeto Biodiversa

Espécies	Grupo	N° Coleta	Trilha	Posição/parcela	Data	Grav.	Tec.	Foto	Observação
Adenomera hylaedactyla	Anura	MZ04	T Norte	P1500	04/10/2024	G1	S	F2 a F10	
Spilotes pullatus	Serpente	MZ05	T Norte	2300	04/10/2024		S	F22 a F24	
Tupinambis teguixim	Lagarto	MZ06	T Norte	P1500	04/10/2024		S	F26 a F30	
Rhinella teotoniensis	Anura	MZ07	T Norte	P3500	05/10/2024	G2	S		
Rhinella teotoniensis	Anura	MZ08	T Norte	P3500	05/10/2024	G3	S		
Phyllomedusa vaillantii	Anura	MZ09	T Leste	P500	06/10/2024	G4	S		
Philodryas georgeboulengeri	Cobra	MZ10	T Leste	P2500	07/10/2024		S		

Figura 8 - Modelo de ficha de laboratório (ver arquivo original em material suplementar S2). Em vermelho está o que se deve preencher em campo a lápis.

2.2.5 Métodos de eutanásia e fixação de espécimes coletados

É importante coletar exemplares de espécies que: (i) podem constituir novos registros para a região; (ii) que sejam de difícil identificação ou com problemas de identidade taxonômica; (iii) representem espécimes-testemunhos das espécies da localidade, principalmente se a amostragem estiver sendo feita pela primeira vez em uma área nova para a ciência, ou de difícil acesso. Para o transporte entre o campo e o

laboratório, os animais coletados devem ser acondicionados em sacos plásticos ou de pano, mantendo no seu interior algumas folhas ou terra umedecida para manter o indivíduo vivo com acesso à umidade durante o transporte. É essencial registrar na superfície de cada sacola, com marcador permanente, a identidade (código) da parcela amostrada, além do dia e da hora da coleta do indivíduo, para evitar ambiguidades na amostragem.

Os exemplares das espécies amostradas devem ser fotografados vivos para permitir a visualização dos padrões de coloração em vida (para algumas espécies de anuros é importante a fotografia em ambiente natural, pois o estresse de manuseio até o acampamento pode levar a alterações na coloração corporal), já que é comum a perda da coloração após a fixação. A eutanásia e a fixação dos indivíduos devem ser feitas após a coleta. No caso de coletas próximas ao laboratório, recomendamos a eutanásia e fixação dos indivíduos em condições de laboratório. Contudo, no caso de coletas realizadas em localidades distantes, os espécimes devem ser eutanasiados e fixados em laboratórios improvisados no local de coleta.

Os métodos de eutanásia e fixação de espécimes devem seguir o Anexo IV da Portaria CFBio Nº 148/2012 e Resolução Normativa CONCEA nº 37 de 2018, que regulamentam os procedimentos de captura, contenção, marcação, coleta e eutanásia de animais vertebrados previstos nos Artigos, 4º, 5º, 6º e 8º da Resolução CFBio nº 301/2012. Os anfíbios devem ser anestesiados e eutanasiados com pomada ou gel de benzocaína 2% aplicada na região ventral e na boca do animal. Já para os répteis, deve ser utilizado anestésico líquido de Cloridrato de Lidocaína (2%) e Epinefrina, injetado primeiramente na região intradérmica e, conforme necessidade no coração.

Após a eutanásia, utilizando material esterilizado para evitar a contaminação cruzada, deve-se coletar uma amostra de tecido muscular ou do fígado de todos os indivíduos coletados e destinados à uma coleção científica como testemunho. Os tecidos devem ser coletados logo após a morte do animal, armazenados em tubos estéreis adequados (tubos criogênicos ou tipo *Eppendorf*) preenchidos com álcool etílico (> 95%) e contendo etiquetas com a mesma numeração destinada às etiquetas amarradas aos exemplares de origem. É imprescindível o uso de uma numeração única (número de campo), que permita associar o registro de campo à uma gravação, à uma fotografia, à amostra de tecido e ao exemplar-testemunho depositado no museu ou coleção.

Adicionalmente, ao tombar qualquer espécime ou amostra em uma coleção zoológica, é mandatório incluir nos dados do registro o fornecimento das coordenadas geográficas específicas de sua procedência.

Os espécimes podem ser fixados conforme padrão das Coleções de Referência, que são aquelas Instituições para onde os espécimes serão destinados. Após a retirada de uma amostra de tecido (músculo e/ou fígado), uma solução de formaldeído a 10% deverá ser injetada nos espécimes. É fundamental posicionar rapidamente o espécime de maneira a permitir a análise futura de caracteres taxonômicos importantes para o grupo em questão. No caso de serpentes e de lagartos, é necessário injetar a solução de formaldeído ao longo do corpo do animal, em diferentes partes do corpo, desde a cabeça até a cauda. O espécime deverá permanecer em um recipiente hermeticamente fechado. Após um a três dias em formol (a depender do tamanho do animal), os espécimes deverão ser conservados em frasco contendo solução de etanol a 70%. O tempo de permanência na solução de formaldeído pode ser aquele recomendado pelos gerentes das coleções de referência das instituições às quais o material fixado será enviado.

É importante que pinças, tesouras e outros materiais utilizados para a dissecção e obtenção de amostras de tecido não entrem em contato com o formol. Recomenda-se ter instrumentos exclusivos para o manuseio dos animais durante a etapa de fixação.

Importante saber

Para não haver contaminação do material usado para retirada de tecido, deve-se adotar o seguinte protocolo de esterilização do material, com algumas variações:

1 - Passar papel toalha com água e detergente para limpar pinça/tesoura;

2- Mergulhar as tesouras e as pinças em solução de formol 10% (para degradação de resquícios de DNA);

3 – Mergulhar as tesouras e pinças em solução de álcool a 70% (para limpeza do formol e resíduos);

3 - Limpar com papel toalha antes de usar no próximo animal.

Abaixo segue a lista com alguns dos materiais necessários para eutanásia, coleta de tecido e fixação.

- Anestésico (Benzocaína 2% pomada ou gel para anuros, e Cloridrato de Lidocaína (2%) líquido e Epinefrina para répteis);

- Formol 10% para fixação dos espécimes;
- Álcool 70% para conservação dos espécimes fixados
- Álcool 95 a 99,6% para conservação de tecidos (de preferência utilizar álcool de qualidade analítica, sem aditivos, comprado em lojas de produtos químicos)
- Pisseta para enchimento de tubos pequenos
- Proveta para a preparação de diluições
- Luvas cirúrgicas ou luvas de procedimento (de látex ou vinil);
- Tubos criogênicos ou microtubos tipo *Eppendorf* de 2 mL
- Caixa rack para armazenamento dos tubos;
- Kit de pinças e tesouras cirúrgicas (conjuntos separados para etapas de dissecção e fixação);
- Detergente para a limpeza dos instrumentos;
- Papel absorvente;
- Seringas e agulhas de tamanhos variados;
- Etiquetas numeradas já previamente elaboradas para serem amarradas nos espécimes coletados e linha de carretel/pipa. Preparar etiquetas em duplicata ou triplicata, para numerar tubos com amostras de tecido e outras amostras correspondentes aos espécimes coletados.
- Bandejas com tampa, bombonas e potes de plástico para acondicionar animais.

3 PERSPECTIVAS

Esse protocolo pode ser utilizado em estudos ecológicos de populações e comunidades, biogeográficos, monitoramentos de longo prazo para avaliações de impactos de empreendimentos como hidrelétricas, mineração, estradas e de alterações no uso e cobertura do solo. Uma das grandes vantagens deste, bem como de outros protocolos, é a coleta padronizada de dados que permite comparações entre áreas, desde pequenas até grandes escalas espaciais e temporais (ex, Magurran et al., 2010; Garey et al., 2023; Guimarães et al., 2024).

Um dos grandes problemas de estudos ecológicos baseados em dados coletados em campo é a ausência de padronização nos métodos de coleta das variáveis bióticas e abióticas. Desta forma, quanto mais áreas amostradas com o mesmo protocolo, maior será

a possibilidade de integração dos dados, dos pesquisadores, das instituições, favorecendo o avanço científico no estudo da biodiversidade. A coleta padronizada em grandes extensões espaciais permite responder questões que usualmente são avaliadas usando amplas bases de dados, as quais podem conter, por exemplo, erros de omissão e comissão (Diniz-Filho, 2023). Portanto, responder questões em escalas amplas a partir de uma base de dados obtida de maneira padronizada em campo é crucial para compreensão e avanço nos estudos da biodiversidade.

Outro ponto que merece destaque na iniciativa deste protocolo é o incentivo aos pesquisadores que realizam amostragens em parcelas RAPELD para depositarem os metadados e dados coletados nessas expedições (em repositórios como *SiBBr*) . Desse modo, os dados se tornam acessíveis a outros colaboradores (com as devidas regras de uso de dados pré-estabelecidas) apoiando as atividades em rede dos núcleos que utilizam o mesmo método em diferentes locais, biomas ou até mesmo grupos taxonômicos.

Quadro 2 - Exemplos de artigos publicados que utilizaram o protocolo RAPELD revisado nesse trabalho.

Estudo	**Bioma**
Cozer et al. (2020). Reptile diversity in the Duas Bocas Biological Reserve, Espírito Santo, southeastern Brazil. *Papéis Avulsos De Zoologia*, 60, e20206040.	Mata Atlântica
Dayrell et al. (2021). Impacts of an Amazonian hydroelectric dam on frog assemblages. *PLoS ONE,* 16 (6), e0244580.	Amazônia
Dayrell et al. (2024). Functional responses of Amazonian frogs to flooding by a large hydroelectric dam. *Biodiversity and Conservation*, 33, 2055-2070.	Amazônia
Ferreira et al. (2018). Soil and forest structure predicts large-scale patterns of occurrence and local abundance of a widespread Amazonian frog. *PeerJ*, 6, p.e5424, 2018.	Amazônia
Ferreira et al. (2020). The influence of environmental variation on the genetic structure of a poison frog distributed across continuous amazonian rainforest. *Journal of Heredity*, 111, 457-470.	Amazônia
Geisler et al. (2024). Specialisation in frog-biting midges (Diptera: Corethrellidae): A landscape perspective. *Ecological Entomology*, 49 (4), 530-543.	Amazônia

Gomez-Mesa et al. (2017). Ecological and reproductive aspects of *Aparasphenodon brunoi* (Anura: Hylidae) in an ombrophilous forest area of the Atlantic Rainforest Biome, Brazil. *Zoologia*, 34, e20477.	Mata Atlântica
Nogueira et al. (2019). Scale-dependent estimates of niche overlap and environmental effects on two sister species of Neotropical snakes. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 54, 121-132.	Amazônia
Peixoto et al. (2020). Hierarchical effects of historical and environmental factors on lizard assemblages in the upper Madeira River, Brazilian Amazonia. *PLoS ONE*, 15, e0233881.	Amazônia
Peixoto et al. (2023). Disentangling the effects of environmental and geographic distances on lizard assemblages in Amazonian forests. *Journal of Biogeography*, 50, 1063-1076.	Amazônia
Pereira, et al. (2024). Determinants of anuran assemblages across Amazonian white sand ecosystems. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. 96 (4), e20230082.	Amazônia
Pereira-Ribeiro et al. (2019). Good timing: evaluating anuran activity and detectability patterns in the Brazilian Atlantic Forest. *Wildlife Research*, *46* (7), 566-572.	Mata Atlântica
Pereira-Ribeiro et al. (2020). Changes in the community structure of anurans in the Coastal plain forest, southeastern Brazil. *Ecological Research*, 35 (3), 540-549.	Mata Atlântica
Pereira-Ribeiro et al. (2020). It's raining today! The importance of fine-scale rainfall data to reveal abundance patterns of Brazilian Atlantic Forest frogs. *Herpetology Notes*, 13, 245-248.	Mata Atlântica
Pereira-Ribeiro et al. (2022). A three-year Herpetofauna survey from one of the largest remnants of the Atlantic Rainforest Biome (Reserva Natural Vale). *Wildlife Research*, 46 (7), 566-572.	Mata Atlântica
Ribeiro, et al. (2012) The Effect of Riparian Zones on Species Diversity of Frogs in Amazonian Forests. Copeia 2012(3): 375-381.	Amazônia
Torralvo et al. (2022). Environmental filtering and deforestation shape frog assemblages in Amazonia: An empirical approach assessing species abundances and functional traits. *Biotropica*, 54 (1), 226-238	Amazônia

4 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à todos que, de alguma forma participaram na construção desse protocolo ao longo dos anos como os comunitários, estudantes de graduação, mestrado e doutorado, auxiliares de campo e pesquisadores. Eles foram essenciais para a criação e refinamento desse método. Este artigo integra uma edição especial financiada pelos projetos PPBio Amazônia Ocidental (CNPq, processos nº 441260/2023-3 e 441228/2023-2), INCT-CENBAM (CNPq, processo nº 406474/2022-2) e CAPACREAM (CNPq, processo nº 444350/2024-1).

5 MATERIAL SUPLEMENTAR

S1. Modelo de ficha de campo.

S2. Modelo de ficha de laboratório.

S3. Modelo de Planilha de organização dos dados e metadados

Material disponível em: https://github.com/ProtocolosRAPELD/EducAmazonia_VolumeXVIII_N.ESPECIAL_2025/tree/main/MS_Protocolo_Herpetofauna

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernarde, P. S., Albuquerque, S., Barros, T. O., & Turci, L. C. B. (2012). Serpentes do estado de Rondônia, Brasil. *Biota Neotropica*, 12, 1-29.

Campbell, H. W., & Christman, S. P. (1982). Field techniques for herpetofauna community analysis. In N. J. Scott (Ed.), *Herpetological Communities* (pp. 193-200). U.S. Dept. of Interior, Fish and Wildlife Service - Wildlife Research Report.

Conselho Federal de Biologia (CFBIO). (2012). *Portaria nº148/2012*.

Conselho Federal de Biologia (CFBIO). (2012). *Resolução nº 301/2012*.

Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea). (2018). *Resolução Normativa nº 37/2018*.

Cozer, J. S., Pereira-Ribeiro, J., Linause, T. M., Ferreguetti, A. C., Bergallo, H. D. G., & Rocha, C. F. D. D. (2020). Reptile diversity in the Duas Bocas Biological Reserve, Espírito Santo, southeastern Brazil. *Papéis Avulsos De Zoologia*, 60, e20206040.https://doi.org/10.11606/1807-0205/2020.60.40

Dayrell, J. S., Fraga, R., Peres, C. A., Magnusson, W. E., & Lima, A. P. (2024). Functional responses of Amazonian frogs to flooding by a large hydroelectric dam. *Biodiversity and Conservation*, 33, 2055–2070. https://doi.org/10.1007/s10531-024-02839-4.

Dayrell, J. S., Magnusson, W. E., Bobrowiec, P. E. D., & Lima, A. P. (2021). Impacts of an Amazonian hydroelectric dam on frog assemblages. *PLoS ONE*, *16*(6), e0244580. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244580.

Diniz-Filho, J. A. F. (2023). *The Macroecological Perspective: Theories, Models and Methods*. Springer Nature.https://doi.org/10.1007/978-3-031-44611-5

Duellman, W. E. (1999). Distribution patterns of amphibians in South America. In W. E. Duellman (Ed.), *Patterns of Distribution of Amphibians: A Global Perspective* (pp. 255–328). Baltimore: John Hopkins University Press.

Duellman, W. E., & Trueb, L. (1994). *Biology of Amphibians* (2nd ed.). The Johns Hopkins University Press.

Fraga, R., Stow, A. J., Magnusson, W. E., & Lima, A. P. (2014). The costs of evaluating species densities and composition of snakes to assess development impacts in Amazonia. *PLoS ONE*, 9, e105453.10.1371/journal.pone.0105453

Fuentes, E. R., et al. (2018). Lizard diversity and ecology in the Amazonian rainforest. *Journal of Herpetology*, *52*(3), 297-311.

Garey, M. V., & Da Silva, V. X. (2010). Spatial and temporal distribution of anurans in an agricultural landscape in the Atlantic semi-deciduous forest of southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology*, *5*(1), 64-72.

Garey, M. V., Gonçalves-Souza, T., Nomura, F., Souza, F. L., Solé, M., Menin, M., & Rossa-Feres, D. C. (2023). Explaining the anuran beta diversity by pond-living tadpoles: The role of dispersal limitation and environmental gradients through multiple scales. *Diversity and Distributions*, *29*(12), 1609-1622. https://doi.org/10.1111/ddi.13781

Geisler, E. F., De Campos, L. L. F., Carvalho'rocha, V., Ferreira, A. S., Dayrell, J. S., Pereira, R. C. D. S., Dantas, S. P., Melinski, R. D., Lima, A. P., De Pinho, L. C., & Magnusson, W. E. (2024). Specialisation in frog-biting midges (Diptera: Corethrellidae): A landscape perspective. *Ecological Entomology*, *49*(4), 530-543. 10.1111/een.13325

Gingras, B., Mohandesan, E., Boko, D., & Fitch, W. (2013). Phylogenetic signal in the acoustic parameters of the advertisement calls of four clades of anurans. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 134-134. https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-134.

Gomez-Mesa, L., Pereira-Ribeiro, J., Ferreguetti, A. C., Almeida-Santos, M., Bergallo, H. G., & Rocha, C. F. (2017). Ecological and reproductive aspects of *Aparasphenodon brunoi* (Anura: Hylidae) in an ombrophilous forest area of the Atlantic Rainforest Biome, Brazil. *Zoologia* (Curitiba), 34, e20477. 10.3897/zoologia.34.e20477

Guimarães, A. F., & Querido, L. C. A. (2024). Disentangling the veil line for Brazilian biodiversity: An overview from two long-term research programs reveals huge gaps in ecological data reporting. *Science of the Total Environment*, 950, 174880. 10.1016/j.scitotenv.2024.174880

Lima, A. P., & Magnusson, W. E. (1998). Partitioning seasonal time: Interactions among size, foraging activity, and diet in leaf-litter frogs. *Oecologia*, 116, 259-266. 10.1007/s004420050587

Lima, A. P., Magnusson, W. E., Menin, M., Erdtmann, L. K., Rodrigues, D. J., Keller, C., & Hödl, W. (2012). *Guia de Sapos da Reserva Adolpho Ducke, Amazônia Central* (2nd ed.). Manaus, Brazil: Attema Editorial.

MacArthur, R. H., & Pianka, E. R. (1966). On optimal use of a patchy environment. *The American Naturalist*, *100*(916), 603-609.

Magurran, A. E., Baillie, S. R., Buckland, S. T., Dick, J. M., Elston, D. A., Scott, E. M., ... & Watt, A. D. (2010). Long-term datasets in biodiversity research and monitoring: Assessing change in ecological communities through time. *Trends in Ecology & Evolution*, *25*(10), 574-582. 10.1016/j.tree.2010.06.016

Marques, O. A. V., Eterovick, A., & Sazima, I. (2019). *Serpentes da Mata Atlântica: Guia Ilustrado para as Florestas Costeiras do Brasil*. Editora Ponto A.

Marques, O. A. V., Eterovick, A., Martins, M., & Sazima, I. (2023). *Serpentes da Amazônia: Guia Ilustrado*. Editora Ponto A.

Menin, M., Lima, A. P., Magnusson, W. E., & Waldez, F. (2007). Topographic and edaphic effects on the distribution of terrestrially reproducing anurans in Central Amazonia: mesoscale spatial patterns. *Journal of Tropical Ecology*, *23*(5), 539-547. 10.1017/S0266467407004269

Menin, M., Waldez, F., & Lima, A. P. (2008). Temporal variation in the abundance and number of species of frogs in 10,000 ha of a forest in Central Amazonia, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, *3*(1), 68-81. https://doi.org/10.2994/1808-9798(2008) Menin, M., Waldez, F., & Lima, A. P. (2011). Effects of environmental and spatial factors on the distribution of anuran species with aquatic reproduction in central Amazonia. *The Herpetological Journal*, *21*(4), 255-261. 10.4324/01650521.2019.1616957

Nogueira, T. A., Ayala, W. E., Dayrell, J. S., Fraga, R., & Kaefer, I. L. (2019). Scale-dependent estimates of niche overlap and environmental effects on two sister species of Neotropical snakes. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 54, 121-132. 10.1080/01650521.2019.1616957

Peixoto, G. M., De Fraga, R., Araújo, M. C., Kaefer, I. L., & Lima, A. P. (2020). Hierarchical effects of historical and environmental factors on lizard assemblages in the upper Madeira River, Brazilian Amazonia. *PLoS ONE*, 15, e0233881. 10.1371/journal.pone.0233881

Peixoto, G. M., De Fraga, R., Magnusson, W. E., Leitão, P. H., Kaefer, I. L., & Lima, A. P. (2023). Disentangling the effects of environmental and geographic distances on lizard assemblages in Amazonian forests. *Journal of Biogeography*, 50, 1063-1076. 10.1111/jbi.14591

Pereira, R. C., Dayrell, J. S., & Lima, A. P. (2024). Determinants of anuran assemblages across Amazonian white sand ecosystems. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, *96* (4). https://doi.org/10.1590/0001-3765202420230082.

Pereira-Ribeiro, J., Ferreguetti, Á. C., Bergallo, H. G., & Rocha, C. F. D. (2017). Use of polyvinyl chloride pipes (PVC) as potential artificial shelters for amphibians in a coastal plain forest of southeastern Brazil. *Journal of Coastal Conservation*, 21, 327-331. https://link.springer.com/article/10.1007/s11852-016-0480-6

Pereira-Ribeiro, J., Ferreguetti, A. C., Bergallo, H. G., & Rocha, C. F. D. (2019a). Good timing: evaluating anuran activity and detectability patterns in the Brazilian Atlantic Forest. *Wildlife Research*, *46* (7), 566-572. https://bioone.org/journalArticle/Download?urlid=10.1071%2FWR19019

Pereira-Ribeiro, J., Ferreguetti, Á. C., Linause, T. M., Cozer, J. S., Bergallo, H. G., & Rocha, C. F. D. (2019b). Diversity and distribution of anurans from Mata das Flores State Park, Espírito Santo, southeastern Brazil. *Oecologia Australis*, *23*(2). 10.4257/oeco.2019.2302.08

Pereira-Ribeiro, J., Ferreguetti, Á. C., Bergallo, H., & Rocha, C. F. (2020a). It's raining today! The importance of fine-scale rainfall data to reveal abundance patterns of Brazilian Atlantic Forest frogs. *Herpetology Notes*, 13, 245-248.

Pereira-Ribeiro, J., Ferreguetti, A. C., Bergallo, H. G., & Rocha, C. F. D. (2020b). Changes in the community structure of anurans in the Coastal plain forest, southeastern Brazil. *Ecological Research*, *35*(3), 540-549. 10.1111/1440-1703.12108

Pereira-Ribeiro, J., Ferreguetti, Á. C., Bergallo, H. G., & Rocha, C. F. D. (2022). A three-year Herpetofauna survey from one of the largest remnants of the Atlantic Rainforest Biome (Reserva Natural Vale). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 62, 202262005. 10.1590/pap.av.202262005

Pereira-Ribeiro, J., Ferreguetti, A. C., Bergallo, H., & Rocha, C. F. D. (2024). Density, occupancy and detectability of tortoise species (*Chelonoidi*s spp.) in the Atlantic Forest: implications for conservation and management. *Journal of Natural History*, *58*(37-40), 1529-1545. 10.1080/00222926.2024.2340777

Pianka, E. R., & Vitt, L. J. (2003). *Lizards: Windows to the Evolution of Diversity*. University of California Press. University of California Press, Berkeley. 346p. ISBN: 0-520-23401-4.

Ribeiro, J. W. Jr., Lima, A. P. & Magnusson, W. E. 2012. The Effect of Riparian Zones on Species Diversity of Frogs in Amazonian Forests. Copeia *2012*(3): 375-381. 10.1643/CE-11-117

Ribeiro, L. B., & Freire, E. M. (2011). Lagartos como bioindicadores: Testando metodologia de avaliação da qualidade ambiental de Caatinga e áreas florestadas. In E. M. X. Freire, G. A. Cândido, & P. V. D. Azevedo (Eds.), *Múltiplos Olhares Sobre o Semiárido Brasileiro: Perspectivas Interdisciplinares* (pp. 99-113). EDUFRN.

Scott, N. J. (1994). Complete species inventories. In W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L.-A. C. Hayek, & M. S. Foster (Eds.), *Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians* (pp. 364). Smithsonian Institution Press.

Skelly, D. K. (1996). Pond drying, predators, and the distribution of *Pseudacris* tadpoles. *Copeia*, *1996*(3), 599-605.

Strangas, M. L., Navas, C. A., Rodrigues, M. T., & Carnaval, A. C. (2019). Thermophysiology, microclimates, and species distributions of lizards in the mountains of the Brazilian Atlantic Forest. *Ecography*, *42*(2), 354-364. 10.1111/ecog.03330

Torralvo, K., Fraga, R., Lima, A. P., Dayrell, J. S., & Magnusson, W. E. (2022). Environmental filtering and deforestation shape frog assemblages in Amazonia: An empirical approach assessing species abundances and functional traits. *Biotropica*, 54(1), 226-238. 10.1111/btp.13053

Vitt, L. J., & Caldwell, J. P. (2013). *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles* (4th ed.). Academic Press.

Zigler, A., Straw, S., Tokuda, I., Bronson, E., & Riede, T. (2023). Critical calls: Circadian and seasonal periodicity in vocal activity in a breeding colony of Panamanian golden frogs (*Atelopus zeteki*). *PloS One*, 18(8), e0286582. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286582

Submetido em: **30 de outubro de 2024**
Aprovado em: **22 de maio de 2025**
Publicado em: **15 de julho de 2025**

AUTORIA

Autor 1

Nome: Jussara Santos Dayrell

Breve currículo, Instituição: Pesquisadora voluntária do Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Coordenação de Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas

E-mail: jussaradayrell@gmail.com

Orcid: https://orcid.org/0000-0003-4211-421X

País: Brasil

Autor 2

Nome: Kelly Torralvo

Breve currículo, Instituição: Pesquisadora titular no Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé - Amazonas.
E-mail: kellytorralvo1@gmail.com; kelly.torralvo@mamiraua.org.br.

Orcid: https://orcid.org/0000-0001-8089-7652

País: Brasil

Autor 3

Nome: Michel Varajão Garey

Breve currículo, Instituição: Professor Associado do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu-PR

E-mail: michel.garey@unila.edu.br

Orcid: https://orcid.org/0000-0002-7482-792X

País: Brasil

Autor 4

Nome: Anthony Santana Ferreira

Breve currículo, Instituição: Pós-doc pela University of Bristol e Pesquisador Associado ao PPBio-Amor, UFPA, Belém - Pará

E-mail: anthoyyferreira@gmail.com

Orcid: https://orcid.org/0000-0002-3718-8049

País: Brasil

Autor 5

Nome: Carla Costa Siqueira

Breve currículo, Instituição: Pesquisadora de Pós-Doutorado vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: carlacsiqueira@yahoo.com.br

Orcid: https://orcid.org/0000-0002-5518-7090

País: Brasil

Autor 6

Nome: Juliane Pereira-Ribeiro

Breve currículo, Instituição: Pesquisadora do Laboratório de Ecologia de Vertebrados, Departamento de Ecologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: julianeribeiro25@gmail.com

Orcid:https://orcid.org/0000-0002-0762-337X

País: Brasil

Autor 7

Nome: Pedro Ivo Simões

Breve currículo, Instituição: Professor Adjunto do Departamento de Zoologia da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco

E-mail: pedro.ivosimoes@ufpe.br

Orcid: https://orcid.org/0000-0002-1651-7456

País: Brasil

Autor 8

Nome: Carlos Frederico Duarte Rocha

Breve currículo, Professor Titular da UERJ, Coordenador do Laboratório de Ecologia de Vertebrados da UERJ e pesquisador (PQ) do CNPq. Instituição: Universidade do estado do Rio de Janeiro (UERJ)

E-mail: cfdrocha@gmail.com

Orcid: https://orcid.org/0000-0003-3000-1242

País: Brasil

Autor 9

Nome: Albertina Pimentel Lima

Breve currículo, Instituição: Professora e pesquisadora vinculada ao Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Coordenação de Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus

E-mail: lima@inpa.gov.br

Orcid: https://orcid.org/0000-0003-4586-5633

País: Brasil