



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Trabalho de Conclusão de Curso

**Foto identificação de indivíduos da espécie *Helicops infrataeniatus* (Jan, 1865)
pertencentes a coleção científica do Museu de Ciências Naturais do Rio Grande do Sul,
Fundação Zoobotânica**

Lilith Schneider Bizarro

Porto Alegre, 2018.

**Foto identificação de indivíduos da espécie *Helicops infrataeniatus* (Jan, 1865)
pertencentes a coleção científica do Museu de Ciências Naturais do Rio Grande do Sul,
Fundação Zoobotânica**

Orientador: Prof. Dr. Márcio Borges Martins

Co-orientador: Dr. Roberto Baptista de Oliveira

Banca examinadora:

Mra. Michelle Abadie de Vasconcellos

Mra. Valentina Zaffaroni Caorsi

Trabalho de Conclusão de Curso de
graduação em Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, 2018

"A compaixão para com os animais é das
mais nobres virtudes da natureza humana."

Charles Darwin

Manuscrito formatado conforme as normas editoriais da revista South American Journal of Herpetology.

As tabelas e figuras necessárias para a compreensão do trabalho foram inseridas no próprio texto para melhor visualização.

**Foto identificação de indivíduos da espécie *Helicops infrataeniatus* (Jan, 1865)
pertencentes a coleção científica do Museu de Ciências Naturais do Rio Grande do Sul,
Fundação Zoobotânica**

Lilith Schneider Bizarro^{12*}, Márcio Borges Martins² & Roberto Baptista de Oliveira¹

1 - Núcleo de Ofiologia do Rio Grande do Sul (NOPA), Seção de Zoologia de Vertebrados, Museu de Ciências Naturais, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (FZB) Rua Dr. Salvador França, n° 1427. CEP: 90.690-000. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.;

2 - Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Avenida Bento Gonçalves, 9500. CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

Contato autor: lschneiderbizarro@gmail.com

Agradecimentos

Primeiramente eu gostaria de agradecer aos meus pais, pois sem eles nada disso seria possível. Em especial, a minha mãe que fez por o que nenhuma outra pessoa fez, deu todo suporte necessário, não apenas financeiro, mas dedicou seu tempo, sua paciência e seu amor pra me dar as melhores oportunidades para estar aqui. Gostaria de agradecer a minha irmã Ananda, que sempre estive ao meu lado, me apoiando, me incentivando e nunca deixando me desmotivar. Tu foste uma peça importante para a conclusão deste trabalho. Agradeço por tudo que vocês fizeram por mim.

A minha tia Rosane, que sempre estava disposta a cuidar de mim e da minha irmã. Aos meus irmãos por todas as conversas doidas, que alegravam qualquer dia; A minha madrinha Ida, que mesmo morando longe, sempre se fez presente, sendo com palavras de conforto, sendo com palavras de motivação; Aos meus tios e tias, primos e primas, pois sem família não somos ninguém, em especial aos meus avós, obrigada por todo o carinho dedicado por nossas famílias!

Ao meu orientador Dr. Roberto Oliveira, por confiar em mim, pelos ensinamentos, por me aceitar como bolsista no NOPA, por ter paciência comigo (principalmente nessa época de final de TCC), e principalmente por ter me dado à oportunidade de realizar o maior sonho, trabalhar com os animais que mais me fascinam, as serpentes.

Um agradecimento especial ao pessoal incrível que conheci trabalhando no Núcleo de Ofiologia do Rio Grande do Sul (NOPA), A Mra. Maria Lúcia Machado, que me ensinou o que sei sobre a prática com serpentes, e que se tornou uma grande amiga. A Moema, que enchia o serpentário com suas histórias e seus conhecimentos. A Acácia, por todo treinamento no serpentário, pelas risadas, por toda ajuda nos meus trabalhos, por sempre estar presente e ser essa pessoa maravilhosa que agradeço por ter entrado na minha vida. E a todos

os estagiários que passaram pelo setor, especialmente a Lina, pelas conversas filosóficas sobre o mundo acadêmico e a conclusão dessa fase.

Aos colegas e amigos que fiz pela Fundação Zoobotânica, nos momentos de luta, de tristeza, e também nos momentos de comemoração e de trabalho. Quero Agradecer ao Deivid, a Talita, a Marina e o Dener, por sempre estarem dispostos a me escutarem em todos momentos. Ao Dr. Patrick Colombo por toda ajuda intelectual, foi de grande ajuda. Ao Dr. Glayson Benke por me emprestar a câmera fotográfica para a realização deste trabalho, muito obrigada de todo o meu coração!

A Dra. Laura Verrastro por ter aceitado me orientar no meu segundo semestre, iniciando meus passos no mundo acadêmico. A Mra. Valentina Caorsi por ter me indicado para entrar no Laboratório de Herpetologia da UFRGS. Aos meus antigos colegas, mas ainda amigos do lab.

Agradecimento mais do que especial a todos os meus colegas e amigos que participaram do experimento deste trabalho. Acácia, Brenda, Dener, Malu, Marina, Marjo, Talita, Thamires, Vinicius Ferri e Vinicius Santos, vocês são demais!

Agradeço também aos amigos que me auxiliaram com as correções e com a finalização deste trabalho, sem vocês não sei como teria sido, em especial a Natália e a Carolina, obrigada gurias.

Aos meus amigos que estiveram comigo nesse ano de muito trabalho, agradeço pelo companheirismo, amizade e colaboração em todos os momentos do curso, desde a execução das atividades acadêmicas, festas e risadas. Aos amigos de antigamente que ainda estão do meu lado, celebrando minhas conquistas, muito obrigada!

Ao amigo e companheiro que me ajudou na correção dos testes e na tradução do resumo, Ângelo Mello, pelo apoio, carinho e ajuda, muito obrigada.

Aos meus professores que me ensinaram o que foi preciso para a realização deste trabalho, o que vai além do pedido nas disciplinas, em especial a Dr. Paula Beatriz. A todos os meus professores, pois cada parte do ensinamento foi essencial para que eu chegasse aqui, da alfabetização à graduação. Obrigada!

A UFRGS que fomentou toda a minha graduação e aos programas CAPES e CNPq que me apoiaram financeiramente durante boa parte da minha graduação através de bolsas de iniciação científica.

Ao Museu de Ciências Naturais de Porto Alegre por disponibilizar o material biológico necessário para a realização deste trabalho.

E todas as serpentes, animais que me inspiram desde criança, em especial a Olivia, pela parceria nos eventos de educação ambiental e pela companhia nos dias de trabalho no serpentário.

**Foto identificação de indivíduos da espécie *Helicops infrataeniatus* (Jan, 1865)
pertencentes a coleção científica do Museu de Ciências Naturais do Rio Grande do Sul,
Fundação Zoobotânica**

Resumo: O reconhecimento individual é fundamental em muitos estudos populacionais, e técnicas de marcação têm sido desenvolvidas para diversos grupos, mas para animais ápodes, como serpentes, estas geralmente são muito invasivas e/ou de custo elevado. Este estudo visou avaliar a eficiência do método de foto identificação, em termos de confiabilidade e tempo despendido, para a cobra-d'água (*Helicops infrataeniatus*). Para tal, simulações de estudos de marcação e recaptura foram feitas, utilizando imagens da região ventral de 150 indivíduos da espécie depositados na coleção de répteis do Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. Foram realizados testes simulando diferentes tamanhos amostrais (90 e 150 indivíduos) por um dos autores, e 10 diferentes observadores, os quais consistiram de estudantes de graduação e pós-graduação de diferentes áreas da biologia. Com o método visual, nas 1595 tentativas de reconhecimento realizadas nas simulações com um dos autores deste trabalho, ocorreram apenas quatro erros de reconhecimento (taxa de erro=0,2%) e o tempo máximo necessário para a avaliação de todos os indivíduos em cada evento de coleta foi de 20 minutos e 33 segundos. Nas simulações feitas pelos 10 estudantes de graduação e pós-graduação a taxa de erro variou de 0 a 10% (média = 5,4 %) enquanto o tempo máximo necessário para a avaliação de todos os indivíduos em cada evento de coleta foi de 36 minutos e 01 segundo. Os resultados indicaram que a eficiência de aplicação da foto identificação visual é influenciada por vários fatores, como a experiência prévia e as condições de cansaço do observador, mas que o método é eficiente para aplicação em estudos populacionais com *Helicops infrataeniatus*.

Palavras-chave: captura e recaptura, escama ventral, padrão de coloração, reconhecimento individual, serpentes

Abstract: Individual reconnaissance is a key element in a lot of population studies, and a variety of marking techniques have been developed for various groups, but regarding the apodal species, such as serpents, these methods are usually invasive and/or very expensive. This study seeks to assess the efficiency of photo-identification, in terms of reliability and amount of time spent, regarding population studies of water snakes (*Helicops infrataeniatus*) through simulations of marking and recapture studies utilizing images from 150 individuals ventral region, selected from the Fundação Zoobotânica's Natural Science Museum reptile collection. There were simulation tests applied, with different population sizes (90 and 150 individuals) by one of the authors and different observers, being undergraduate and graduate students from different biology research fields. Through the visual method, in the 1595 reconnaissance attempts by one of the authors, there were only 4 false negatives and no other identification error (error rate=0,2%) and the maximum amount of time spent identifying all the individuals in each collect was 20 minutes and 33 seconds. The simulations run by the undergrad and graduate students presented error rates varying from 0 to 10% (average of 5,4%) while the maximum time necessary to evaluate all the individuals in each collect was 36 minutes and 01 second. Results indicate that the efficiency of photo identification is influenced by a number of factors, such as previous knowledge from the observer regarding the specimen and his or her tiredness, although the method showed to be efficient in populational studies of *H. infrateniatus*.

Key-words: capture and recapture, ventral scale, coloring pattern, individual recognition, snakes

Introdução

Estudos básicos sobre a ecologia dos animais são utilizados para implementar e construir planos de conservação para os mesmos (Hyslop et al., 2011; Guimarães et al. 2012; Breininger et al., 2014). Informações sobre os padrões de comportamento da vida selvagem proporcionam aos pesquisadores uma compreensão mais clara das espécies (Briggs et al., 1970; Mills et al., 1995; Oliveira, 2005). As interações sociais, a história reprodutiva, e a área de vida são fatores fundamentais para a compreensão da ecologia populacional, e são utilizados para influenciar decisões na avaliação do impacto ecológico e plano de manejo (Mellor et al., 2004; Foster et al., 2006). Estudar a dinâmica das populações, geralmente requer o monitoramento de indivíduos marcados por um longo período de tempo e, estas pesquisas podem ter anos de duração (Oliveira, 2005; Ekner et al., 2011; Hyslop et al., 2011; Guimarães et al., 2014). Para isso os métodos de marcação devem ser permanentes, de fácil identificação, e o menos prejudicial possível para o indivíduo marcado (Murray e Fuller, 2000). Todos os métodos de marcação que necessitam de captura dos indivíduos vão causar algum nível de estresse para o animal (Mellor et al., 2004; Knox, C. D. et al., P.J. 2012). Muitos destes métodos também envolvem danos aos tecidos e, portanto, possivelmente causem dor e aumentem a chance de infecções no local (Weary, 1969). Além disso, depois de cicatrizada, pode alterar a aparência do animal marcado, interferir na interação com outros indivíduos da população e influenciar em sua sobrevivência (Ekner et al., 2011; Schmidt et al., 2010). Considera-se também o processo de captura e o manuseio excessivo como agentes estressores. Por razões éticas e práticas, esses agentes estressores devem ser reduzidos, e isso pode ser feito reconhecendo as vantagens e desvantagens de diferentes procedimentos de marcação, empregando as formas mais efetivas de aplicar as marcações escolhidas (Mellor et al., 2004).

Algumas características físicas das serpentes, como a ausência de membros locomotores e as mudas periódicas da pele, restringem muito os métodos possíveis de serem utilizados. Por isso, várias técnicas já vêm sendo estudadas e utilizadas, com diferentes graus de sucesso (Hyslop et al., 2011; Guimarães et al 2012). Geralmente as metodologias empregadas causam dor e possuem o risco de infecção, como corte ou queima de escamas (Winne et al., 2006) e/ou de custo relativamente elevado, como PIT tags (Keck, 1994; Jemison et al., 1995; Plummer et al., 2014; Guimarães et al., 2014). Etiquetas externas foram utilizadas em serpentes raramente (Spellerberg et al., 1978; Ferner 2007), mas seu uso não é recomendado, devido aos potenciais problemas de emaranhamento na vegetação e acesso limitado por causa do corpo estreito e simplificado. As escamas dos répteis vêm sendo utilizadas para a identificação fotográfica (Carlstrom et al., 1946; Sacchi, 2007; Sacchi, 2010), pois sua forma e sua pigmentação variam entre os indivíduos de uma mesma espécie, embora o número e a distribuição das escamas na mesma região do corpo possam ser fixos. Essa característica forma padrões únicos, podendo ser utilizadas como marcas análogas a impressões digitais em diversas espécies. O método de identificação por marcas naturais, se eficaz para a espécie de interesse, seria menos invasivo, geraria menos estresse para o indivíduo marcado, e de menor custo, pois seria necessário apenas uma câmera fotográfica. Essa metodologia já vem sido utilizada em outros grupos animais, como em mamíferos (e.g. Anderson et al, 2010) em anfíbios (e.g. Bradfield, 2004; Caorsi et al, 2012; Vasconcellos et al, 2012) e em peixes (e.g. Arzoumanian et al, 2005).

Apesar das suas vantagens, a identificação de marcas naturais pode levar mais tempo para ser realizada e verificada que outros métodos de marcação, o que pode estressar os animais analisados. No entanto, a natureza menos invasiva do procedimento pode compensar o tempo de manuseio (Mellor et al., 2004). O tamanho das populações também seria um fator importante para a foto identificação, pois quanto maior a população, maior o número de

padrões para reconhecer e, conseqüentemente, mais tempo é necessário para reconhecer um indivíduo; por isso, softwares de reconhecimento têm sido utilizados como suporte para a identificação (Arzoumanian et al, 2005; Anderson et al, 2010; Caorsi et al., 2012).

Helicops infrataeniatus (Jan, 1865) (Figura 1) é uma serpente de hábitos aquáticos, por isso ela é presumidamente mais suscetível a infecções por contaminações, se utilizados os métodos de marcação mais invasivos tradicionalmente utilizados em serpentes. de forma que o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a eficácia do método de foto identificação para reconhecimento individual de *H. infrataeniatus*. É uma espécie de serpente não peçonhenta, de porte médio, e se distribui no sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina (Deiques et al., 1991; Lema, 1994, Giraud, 2001). Apresenta olhos e narinas posicionados próximos a região anterior da cabeça, como adaptação ao hábito exclusivamente aquático (Di-Bernardo et al., 2002). Possui coloração dorsal escura, e ventral variando entre as cores amarelo e vermelho, apresentando manchas dessas cores, e com marcas pretas alinhadas de forma retilínea, compondo diversos padrões (Borges-Martins et al. 2007) (Figura 2).



Figura 1: *Helicops infrataeniatus*.

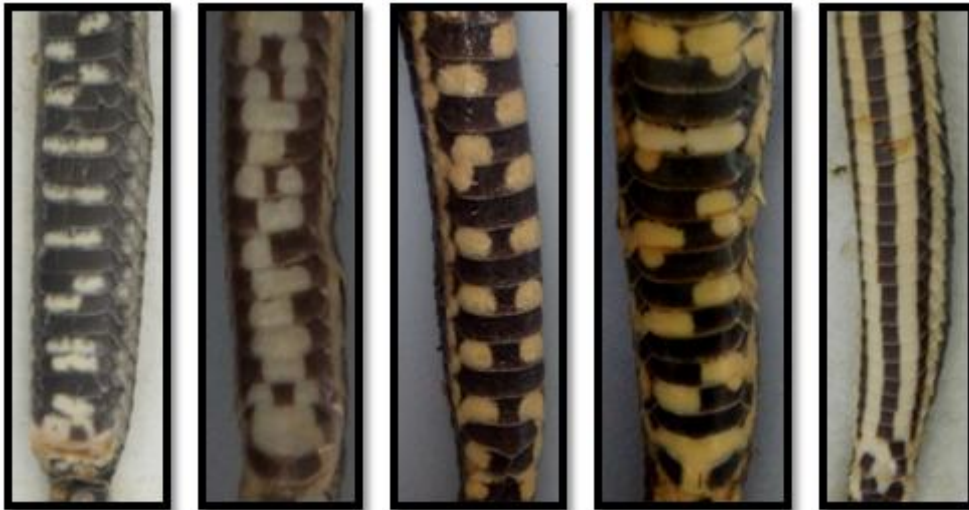


Figura 2: Imagens mostrando diferentes padrões de manchas da região ventral em indivíduos de *H. infrataeniatus*.

Materiais e Métodos

Este estudo foi realizado com espécimes de *Helicops infrataeniatus* depositados na coleção de répteis do Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (MCN). Foi feito em um período de dez meses, de Março de 2017 à Dezembro do mesmo ano. Foram escolhidos, entre 800 indivíduos pertencentes a coleção, os espécimes que estivessem em estado de conservação considerado adequado para a execução do trabalho (n= 149); os demais exemplares foram excluídos por estarem mal conservados ou deformados (p.ex. espécimes atropelados), com hemipênis evertidos, ou apresentarem incisão na região ventral resultante de outros estudos, fatores que impedem ou interferem no reconhecimento do padrão individual.

Num primeiro momento, os 149 indivíduos foram fotografados com o corpo amarrado em posição estendida sobre uma base (Figura 3); este procedimento foi adotado para evitar que a posição em que os indivíduos estão conservados fosse utilizada involuntariamente como característica para o reconhecimento individual. As imagens foram então recortadas de

forma a mostrar apenas a porção final do ventre, entre a cloaca e a vigésima escama ventral, (contada em sentido posterior-anterior, a partir da escama cloacal), aproximadamente, e numeradas individualmente de 1 a 149 (Figura 4). Um indivíduo foi escolhido aleatoriamente e sua imagem foi duplicada, mas invertida horizontalmente (espelhada), para totalizar uma amostra de 150 indivíduos, e testar se os observadores iriam reconhecer como um novo indivíduo. A relação das fotos foi então inserida em uma planilha eletrônica contendo o número de cada foto (1 a 150), e o respectivo número de tomo do exemplar (MCN) (Figura 5); na planilha estas imagens foram denominadas “Foto Marcadas”, pois nas simulações posteriores representariam os indivíduos já marcados da população (ver adiante). Num segundo momento, os indivíduos foram fotografados novamente, desta vez sem a base, sendo alongados manualmente, mantendo uma posição mais “natural”, formando um banco de imagens diferentes dos mesmos indivíduos. Novamente as imagens foram recortadas, de forma a mostrar apenas a região do corpo de interesse, numeradas aleatoriamente de 1 a 149 (através da ferramenta de geração de números aleatórios em planilha eletrônica), sendo a relação incluída na mesma planilha eletrônica contendo os dados do processo anterior (Figura 5); na planilha estas imagens foram denominadas “Foto Capturas”, pois nas simulações posteriores representariam os indivíduos capturados em um evento de coleta. A duplicação e espelhamento de uma imagem foram novamente realizados utilizando o mesmo indivíduo do momento anterior, de forma a completar a população de 150 “indivíduos”. Todo este processo resultou então em dois bancos de imagens (denominados Marcados e Capturas) e uma planilha eletrônica com as referências dos exemplares e as respectivas imagens.



Figura 3: Base utilizada para estender os exemplares.



Figura 4: Imagem editada, destacando a porção final do ventre, cujo padrão de manchas é utilizado para reconhecimento individual.

	A	B	C	D
1	MCN	Foto Marcadas	Foto Capturas	
2	6488	24	1	
3	4505	2	2	
4	1284	40	3	
5	1758	16	4	
6	8510	22	5	
7	1582	44	6	
8	8074	30	7	
9	0117	6	8	
10	4100	17	9	
11	8457	8	10	
12	2075	21	11	
13	8965	39	12	
14	8231	13	13	
15	8390	38	14	
16	0435	12	15	
17	7849	42	16	
18	3080	41	17	
19	2976	11	18	
20	1467	28	19	
21	7880	15	20	
22	2431	19	21	
23	15400	10	22	
24	1843	4	23	
25	5403	27	24	

Figura 5: Planilha eletrônica contendo o número tombo (MCN) e os respectivos números das imagens feitas no primeiro momento (Fotos Marcadas) e no segundo momento (Fotos Capturas).

O reconhecimento individual através da comparação dos dois grupos de imagens foi testado através da observação visual. Para a realização das simulações utilizando o método de reconhecimento visual, uma planilha foi elaborada a fim de anotar e corrigir os resultados de cada teste (Figura 6), contendo os eventos de coleta, as imagens do banco de dados "capturas" denominadas para cada teste, espaço para preenchimento das imagens que representam os indivíduos da população marcada (se for identificada a recaptura), o número da população marcada naquele evento de coleta, o tempo despedido para a realização da

comparação das imagens por evento de coleta, a frequência de erros (falso negativo, e falso positivo e identificação cruzada).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
1	COLETA 1		COLETA 2		COLETA 3		COLETA 4		COLETA 5		COLETA 6		COLETA 7		COLETA 8		COLETA 9		COLETA 10	
2	Csp	Pop	Csp	Pop	Csp	Pop	Csp	Pop	Csp	Pop	Csp	Pop	Csp	Pop	Csp	Pop	Csp	Pop	Csp	Pop
3	1		13		6		10		8		2		5		3		9		10	
4	18		24		23		21		19		11		24		4		25		22	
5	26		23		23		28		30		27		37		19		30		23	
6	36		35		33		31		31		36		41		26		35		31	
7	38		37		35		57		37		43		42		38		46		40	
8	40		43		45		60		58		47		48		43		59		54	
9	41		52		55		61		62		56		60		53		60		58	
10	64		62		61		64		73		68		73		64		65		66	
11	68		63		71		83		74		85		76		73		73		75	
12	73		80		80		89		75		86		83		83		84		85	
13	39		85		86		34		85		31		34		100		86		38	
14	N Pop marcs		N Pop marcs		N Pop marcs		N Pop marcs		N Pop marcs		N Pop marcs		N Pop marcs		N Pop marcs		N Pop marcs		N Pop marcs	
15	T=		T=		T=		T=		T=		T=		T=		T=		T=		T=	
16	FNEG=		FNEG=		FNEG=		FNEG=		FNEG=		FNEG=		FNEG=		FNEG=		FNEG=		FNEG=	
17	FPOS=		FPOS=		FPOS=		FPOS=		FPOS=		FPOS=		FPOS=		FPOS=		FPOS=		FPOS=	
18	IdCR=		IdCR=		IdCR=		IdCR=		IdCR=		IdCR=		IdCR=		IdCR=		IdCR=		IdCR=	

Figura 6: Planilha utilizada para realização dos testes nas simulações. Em cada evento de coleta, a coluna "população" foi utilizada para assinalar as recapturas correspondente a coluna "captura", também o tamanho amostral de indivíduos marcados, o tempo despendido (em minutos), e cada tipo de erro de identificação (Falso Negativo, Falso positivo e Identificação Cruzada).

Para testar o método, foram feitos três experimentos de simulação, sendo dois primeiros executados pela autora do trabalho (LSB) como observadora, simulando populações de 90 e 150 indivíduos, e o terceiro realizado por outros dez observadores, acadêmicos de graduação e pós-graduação do curso de ciências biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sendo seis da área de herpetologia e quatro de outras áreas, simulando populações de 100 indivíduos. Em todos os experimentos foram contabilizadas as taxas de erros, os tipos de erros e o tempo despendido para a identificação. Os erros foram classificados como:

(1) falso negativo: quando o indivíduo recapturado foi identificado como recém capturado;

(2) falso positivo: quando o indivíduo recém capturado é identificado como recaptura;

(3) identificação cruzada: identificação errada entre indivíduos recapturados.

Experimento 1

No primeiro experimento foi simulado um estudo populacional onde a população era constituída por 90 indivíduos, em cada evento de coleta foram capturados 11 exemplares, o número de indivíduos “marcados” na população cresceu na ordem de 10 a cada evento de coleta subsequente (colocando os indivíduos de volta para a seleção), de forma que no nono evento de coleta todos os indivíduos da população eram “recapturas”. Embora em um estudo real, o número de indivíduos capturados não cresça em intervalos fixos, ou seja, dependa do sucesso de recapturar indivíduos num evento anterior, utilizou-se na simulação para estabelecer um número fixo de eventos de coleta, bem como para poder delinear um evento independentemente dos resultados do evento anterior. A seleção dos indivíduos utilizadas na simulação foi feita com o emprego de função de geração de números aleatórios através de planilha eletrônica do Excel.

No primeiro evento de coleta foram selecionadas 11 imagens do banco de dados “coleta”, que simulam os indivíduos capturados no evento, e 10 imagens do banco de dados “marcados”, que simulam indivíduos capturados em evento anterior. Foram então comparados os dois grupos de imagens, buscando identificar se algum exemplar estava presente em ambos, caracterizando uma “recaptura”, medindo o tempo (em minutos) necessário para analisar todos os indivíduos do evento de coleta e anotando os resultados em uma planilha impressa, elaborada para cada teste (Figura 6). O mesmo procedimento foi realizado nos eventos seguintes, apenas ampliando progressivamente o número de imagens do banco de dados “marcados”, ou seja, o número de indivíduos “marcados” na população. Após a realização das simulações, as planilhas dos testes foram conferidas utilizando a

planilha inicial como “gabarito”, sendo registrados os erros falsos negativos, falsos positivos, e identificação cruzada. Foram feitas no total, cinco simulações, totalizando 45 eventos de coleta e 495 tentativas de reconhecimento dos indivíduos "coleta" (destacando que cada tentativa de reconhecimento envolve entre uma e noventa comparações de imagens).

Experimento 2

As principais mudanças no segundo experimento são, a mudança no tamanho da população, que aumentou para 150 indivíduos, e o número de indivíduos “marcados” na população cresceu na ordem de 15 a cada evento de coleta subsequente, de forma que no décimo evento de coleta todos indivíduos da população eram “recapturas”. A seleção dos indivíduos (imagens) utilizadas na simulação foi feita com o emprego de função de geração de números aleatórios através de planilha eletrônica do Excel, como no experimento anterior.

No primeiro evento de coleta foram selecionadas 11 imagens do banco de dados “coleta”, que simulam os indivíduos capturados no evento, e 15 imagens do banco de dados “marcados”, que simulam indivíduos capturados em evento anterior. Foram, então, comparados os dois grupos de imagens, repetindo o mesmo processo do experimento anterior, comparando as imagens dos dois grupos em busca de "recapturas", marcando o tempo despedido em cada evento de coleta, e anotando os dados resultantes em uma planilha previamente elaborada. O mesmo procedimento foi realizado nos eventos seguintes, apenas ampliando progressivamente o número de imagens do banco de dados “marcados”, ou seja, o número de indivíduos “marcados”. Após a realização das simulações, as planilhas dos testes foram conferidas, sendo registrados os erros de reconhecimento, sob a forma de falsos negativos, falsos positivos e identificação cruzada. Foram feitas dez simulações, totalizando 100 eventos de coleta e 1100 tentativas de reconhecimento de indivíduos (destacando-se que

cada tentativa de reconhecimento envolve entre uma e cento e cinquenta comparações de imagens).

Experimento 3

O terceiro experimento, realizado com dez outros observadores, a população era constituída por 100 indivíduos, em cada evento de coleta foram capturados 11 exemplares, e o número de indivíduos “marcados” na população cresceu na ordem de 10 a cada evento de coleta subsequente, de forma que no décimo evento de coleta todos os indivíduos da população eram “recapturas”, e essas informações foram passadas para os participantes antes do início dos testes. A seleção dos indivíduos (imagens) utilizadas na simulação foi feita com o emprego de função de geração de números aleatórios através de planilha eletrônica do Excel.

No primeiro evento de coleta foram selecionadas 11 imagens do banco de dados “coleta”, que simulam os indivíduos capturados no evento, e 10 imagens do banco de dados “marcados”, que simulam indivíduos capturados em evento anterior. O participante em questão seguiu os mesmos passos dos primeiros experimentos, buscando uma recaptura nos dois grupos de imagens comparados, e a autora auxiliou com a marcação do tempo e preenchimento da planilha. O mesmo procedimento foi realizado nos eventos seguintes, aumentando o número de imagens do banco de dados “marcados”. Após a realização das simulações, as planilhas dos testes foram conferidas pela autora, sendo registrados os erros de reconhecimento. Cada pesquisador convidado realizou uma simulação, com 10 eventos de coleta e 110 tentativas de reconhecimento (de uma a cem comparações, dependendo do indivíduo analisado).

Resultados

No primeiro experimento, considerando 495 tentativas de reconhecimento visual feitas nas cinco simulações, ocorreram 4 erros, todos eles sendo do tipo "falso positivo", correspondendo a uma taxa de erro de 0,008, ou 0,8% das identificações feitas. O tempo dispensado para a avaliação dos 11 indivíduos variou entre 4 minutos e 26 segundos (registrado na coleta 1) e 18 minutos e 14 segundos (registrado na coleta 8). O tempo médio gasto para a análise das imagens em cada evento de coleta foi aumentando progressivamente com o aumento dos indivíduos "marcados", apresentando o menor valor (5 minutos e 43 segundos) no primeiro evento e o maior valor (14 minutos e 46 segundos) no oitavo evento (Figura 7). No último evento de coleta o tempo médio diminuiu, sendo registrado o valor de 12 minutos e 07 segundos (Figura 7).

No segundo experimento, onde a população simulada era constituída por 150 indivíduos, das 1100 tentativas de reconhecimento visual realizados nas dez simulações, não ocorreu nenhum dos 3 tipos de erros de identificação, com a taxa de erros totalizando 0%. O tempo dispensado para a avaliação dos 11 indivíduos variou entre 4 minutos e 26 segundos (registrado na coleta 1) e 20 minutos e 33 segundos (registrado na coleta 7). A distribuição dos valores de tempo médio para a análise das imagens mostrou um padrão similar ao do Experimento 1, aumentando progressivamente com a adição de indivíduos ao grupo "marcado", sendo o menor valor registrado no primeiro evento de coleta (5 minutos e 58 segundos), e o maior valor no sétimo evento de coleta (14 minutos e 34 segundos); no oitavo evento de coleta o tempo médio começou a diminuir, chegando ao valor de 10 minutos e 33 segundos no décimo e último evento de coleta (Figura 7). Não houve diferença significativa nos tempos médios registrados em cada evento de coleta entre o experimento 1 e o experimento 2 (Teste T pareado, $t= 1,71$, $gl\ 8$, $p= 0,125$).

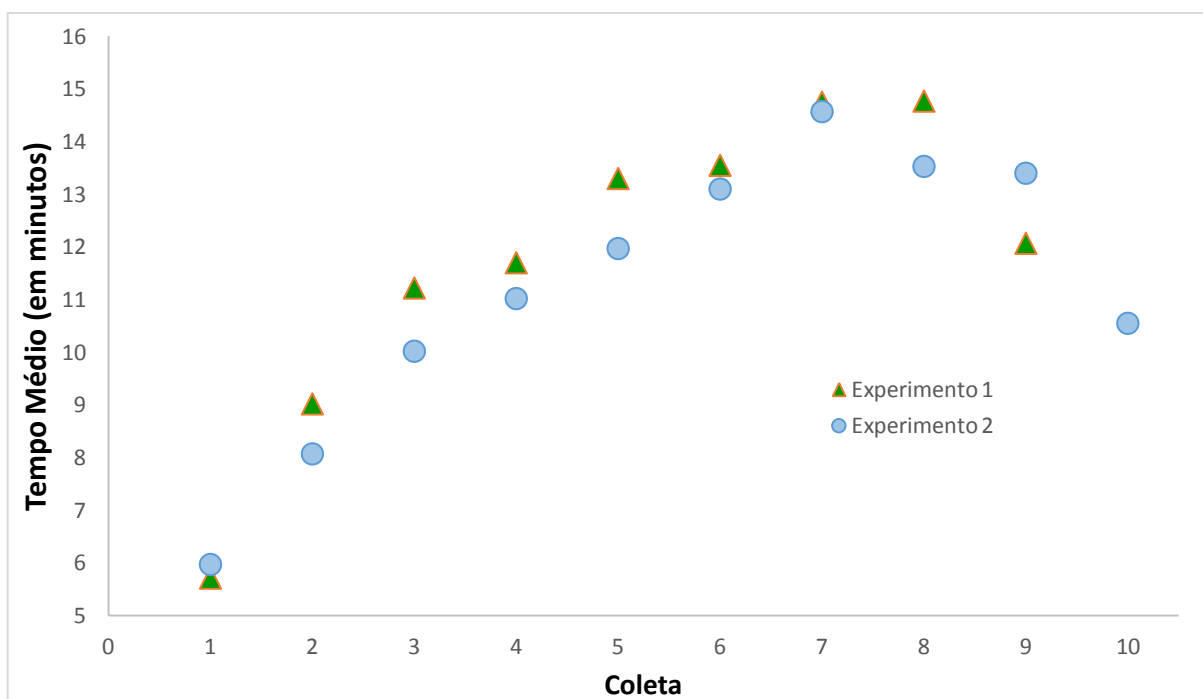


Figura 7: Tempo médio para reconhecimento de 11 indivíduos (captura ou recaptura) em: Experimento 1: 5 simulações onde a população é de 90 indivíduos e a percentagem de indivíduos marcados cresce 11% a cada evento de coleta; Experimento 2: 10 simulações onde a população é de 150 indivíduos e a percentagem de indivíduos marcados cresce 10% a cada evento de coleta.

O terceiro experimento foi realizado por dez observadores distintos, e cada qual realizou um teste com 10 eventos de coleta em que havia 11 imagens simulando indivíduos coletados em cada um destes, totalizando 110 indivíduos analisados. O número de erros registrados para cada observador variou entre zero e 11, com a predominância de erros do tipo falso negativo (Tabela 1). A maior parte dos erros registrados no experimento 3 foram ocorreram a partir do quinto evento de coleta (Figura 8).

Tabela 1: Valores de falsos negativos, falsos positivos, identificações cruzadas e as taxas de erro resultante, em simulações realizadas por 10 observadores distintos (A-J).

Observador	falso negativo	falso positivo	id. cruzada	taxa de erro
A	8	1	2	0,1
B	3	0	0	0,027
C	3	0	0	0,027
D	3	0	0	0,027
E	5	1	2	0,072
F	2	1	2	0,045
G	0	0	0	0
H	5	1	0	0,054
I	9	0	1	0,091
J	10	0	1	0,1

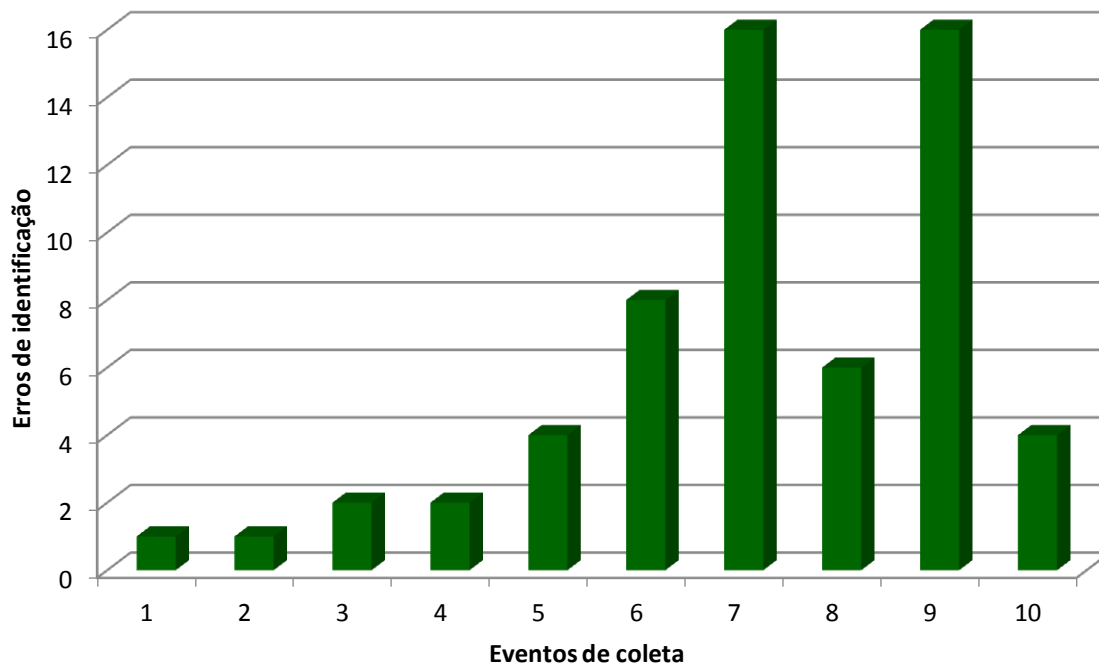


Figura 8: Número de erros de identificação registrados em cada evento de coleta das simulações realizadas por 10 observadores distintos (experimento 3).

O tempo dispensado para a avaliação dos 11 indivíduos em cada evento de coleta variou entre 7 minutos e 26 segundos (observador C, coleta 1) e 36 minutos e 01 segundo (observador J, coleta 10) (Tabela 2). O tempo dispensado para análise das imagens em cada um dos eventos de coleta variou muito entre cada observador (Figura 9), diferentemente do observado com os tempos médios nos experimentos 1 e 2, nos quais um padrão semelhante de distribuição dos valores ficou evidenciado.

Tabela 2: Menor e maior tempo despedido na identificação dos indivíduos de *H. infrataeniatus* pelos pesquisadores convidados, e respectivos eventos de coleta.

observador	menor tempo	nº coleta <	maior tempo	nº coleta >
A	00:10:51	1 ^a	00:20:19	4 ^a
B	00:14:15	2 ^a	00:31:40	10 ^a
C	00:07:26	1 ^a	00:22:39	5 ^a
D	00:09:42	1 ^a	00:18:12	3 ^a
E	00:10:01	8 ^o	00:23:40	7 ^a
F	00:10:13	9 ^a	00:32:13	4 ^a
G	00:15:51	10 ^a	00:30:16	3 ^a
H	00:12:58	10 ^a	00:32:26	5 ^a
I	00:14:21	4 ^a	00:27:11	10 ^a
J	00:08:16	1 ^a	00:36:01	10 ^a

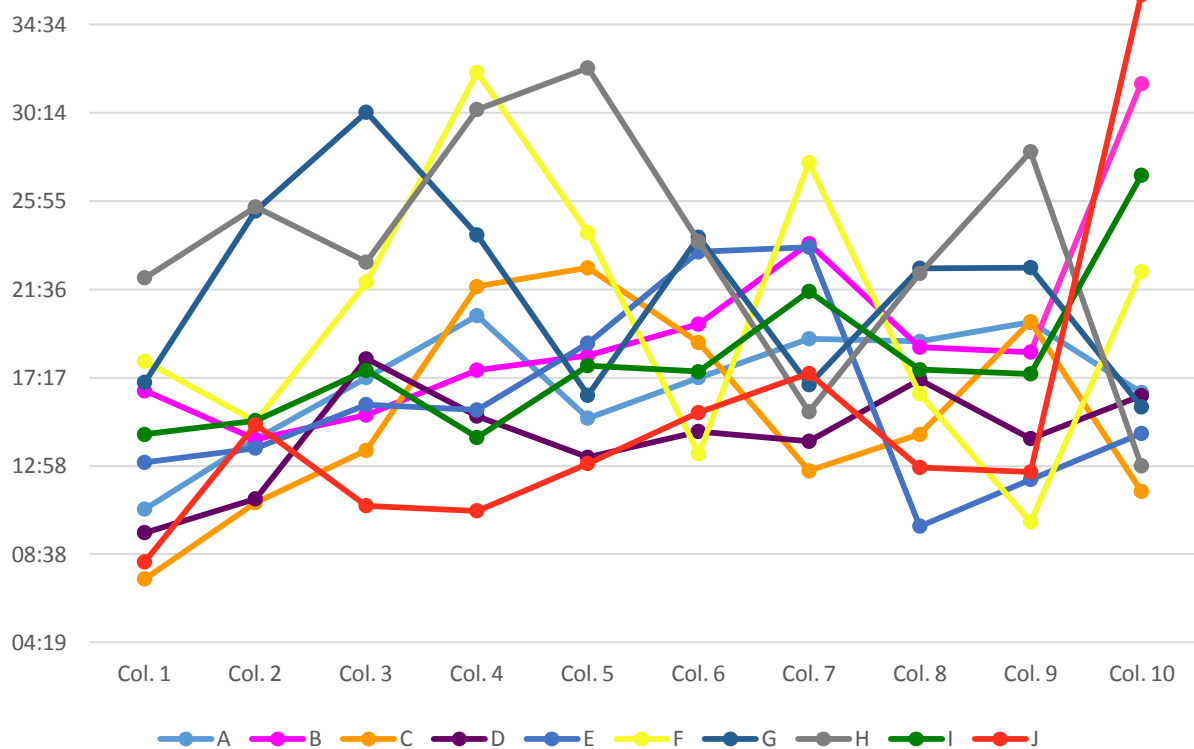


Figura 9: Tempo dispensado por 10 observadores distintos para reconhecimento de 11 indivíduos (captura ou recaptura) em simulação onde a população é de 100 indivíduos e a percentagem de indivíduos marcados cresce 10% a cada evento de coleta.

Discussão

Diversos testes realizados com a metodologia de foto identificação provaram que identificam pares de imagens correspondentes com confiabilidade aproximada de 90% (Bradfield, 2004; Arzoumanian et al, 2005; Anderson et al., 2010; Caorsi et al, 2012), e com um pequeno número de erros, que podem ser comparados a outros tipos de marcações mais utilizadas e consideradas mais invasivas. A quantidade de informações necessárias para atingir estes resultados depende da complexidade do padrão, bem como do tamanho da população. Geralmente é necessário que os indivíduos apresentem padrões com maior

complexidade para serem identificados em uma grande população (Pennycuick, 1978). *Helicops infrataeniatus* é uma espécie frequente no Rio Grande do Sul, sendo registradas em algumas localidades populações de grande tamanho (Lema, 1994; Regnet 2017), quando comparadas a outras espécies de serpentes, mas apresenta um padrão de coloração ventral bastante complexo e com grande variabilidade, o que contribui para a efetividade da utilização da foto identificação em estudos populacionais com a espécie, mesmo considerando grandes populações. O presente estudo foi realizado com base em espécimes colecionados, de forma que apenas o padrão das manchas ventrais foi utilizado para o reconhecimento dos indivíduos, certamente subestimando o potencial do método para espécimes vivos, para os quais outras características podem ser adicionadas ao processo de reconhecimento, permitindo maior efetividade não apenas em termos de precisão no reconhecimento, mas em termos de eficiência pelo tempo despendido. Num estudo real, por exemplo, os indivíduos podem ser divididos em categorias, de acordo com atributos como a cor das manchas (vermelhas vs amarelas), padrão de manchas (lineado vs difuso) e sexo, por exemplo, ou até em subcategorias combinando estes atributos (por exemplo, machos com padrão difuso e coloração amarela), reduzindo o número de comparações necessárias, já que cada indivíduo seria comparado apenas com aqueles da sua categoria.

Muitos fatores podem influenciar no desempenho do método de foto identificação, como a qualidade da imagem, a perspectiva fotográfica, a similaridade dos padrões encontrados (Anderson et al., 2007). Os resultados obtidos nos três experimentos em relação às taxas de erros registradas e ao tempo dispensado indicaram que a experiência prévia pode ser um fator importante influenciando a eficácia do método. Nos experimentos 1 e 2, por exemplo, tendo um dos autores como observador, a taxa de erro e o tempo dispensado foi inferior à média da taxa de erro e de tempo observados no experimento 3, o qual foi conduzido tendo estudantes de graduação e pós-graduação de diferentes áreas da biologia

como observadores, o que não mostrou ter significância, pois a maioria não tinham afinidade com a foto identificação e realizaram uma única simulação. Como foi feito apenas um teste com cada, e foi o primeiro contato que eles tiveram com aquelas imagens, a maioria não tinha familiaridade com o padrão de manchas da espécie nem com a técnica de marcação empregada. Mesmo considerando os experimentos 1 e 2, conduzidos pelo mesmo observador, verificou-se que todos os erros ocorreram nas cinco primeiras simulações (experimento 1) e o tempo dispensado foi similar, mesmo estas simulando populações menores que a do experimento 2, supostamente mais sujeitas a erros e demandando mais tempo devido ao maior número de comparações necessárias. Embora os resultados indiquem que a experiência prévia represente um fator importante influenciando a eficácia do método, não é exclusivo, pois mesmo sem nenhuma experiência prévia, um dos observadores do experimento 3 não registrou nenhum erro. Aparentemente a forma de condução dos experimentos e a condição dos observadores também influenciaram nos resultados. O Erro mais recorrente nos experimentos foi o falso negativo (80%), provavelmente devido à ansiedade gerada pelo fato do teste ser cronometrado e pela extenuação mental por causa das extensas comparações, o que possivelmente levou involuntariamente os observadores a passar mais rapidamente muitas imagens depois de algum tempo de experimento; sustentando esta hipótese está o fato de a maioria dos erros registrados no experimento 3 terem ocorrido a partir do quinto evento de coleta. Se as simulações do experimento 3 tivessem sido realizadas em momentos distintos para análise das imagens de cada evento de coleta, ao invés de toda a simulação em um único momento, como foi conduzido, possivelmente o efeito do cansaço e conseqüentemente as taxas de erro seriam reduzidas. No caso dos experimentos 1 e 2, o fato de ser cronometrando com certeza gerou um desconforto na hora de utilizar a metodologia nas primeiras simulações, e pode ter afetado o desempenho no tempo, pois ficava o ímpeto de parar o

cronômetro. Os 4 erros ocorreram no final do experimento, o que sugere que a causa possa ser devido ao cansaço do observador na hora de comparar as imagens.

O tempo médio para a análise dos eventos de coleta nos experimentos 1 e 2 foi similar, aumentando progressivamente nos eventos iniciais e reduzindo nos eventos finais. Isso provavelmente aconteceu devido ao maior número de recapturas, pois, depois de achar imagens de um mesmo indivíduo não precisa continuar comparando com as outras, isso ocorria da pasta "marcados" (se fosse no último evento de coleta do segundo experimento, por exemplo, indivíduo 25 de 150, não precisaria comparar com as outras 125 imagens restantes). O tempo médio das identificações não superou a marca de 15 minutos por evento de coleta, demonstrando ser um método com um tempo razoavelmente rápido.

Os resultados obtidos a partir dos três experimentos realizados permitem inferir que a utilização do método de foto identificação visual pode ser efetivo em estudos populacionais com a serpente *Helicops infrataeniatus*. Mesmo a taxa média de erro dos observadores sem experiência (experimento 3) ter sido de 5,4%, com as maiores taxas de erro chegando a 10% dos indivíduos analisados, estes valores são considerados dentro dos limites de taxa de erros aceitável para esse tipo de metodologia (Bradfield, 2004; Arzoumanian et al, 2005; Anderson et al., 2010; Caorsi et al, 2012). Embora tenham sido realizadas simulações com populações de até 150 indivíduos, a possibilidade de categorização dos exemplares em subgrupos, e os resultados obtidos em termos de taxa de erro e tempo necessário, sugerimos que populações substancialmente maiores podem ser estudadas a partir deste método, mesmo considerando a possibilidade de populações onde as coletas sejam bem mais efetivas, ou seja, o número de indivíduos capturados seja muito superior ao testados no presente estudo. Em um estudo com comunidade de serpentes realizado no litoral norte do Rio Grande do Sul, *H. infrataeniatus* foi a quarta mais frequentemente capturada, tendo sido marcados 112 indivíduos (entre 1544

capturas de indivíduos de 15 espécies) (Oliveira, 2005), número aproximado dos tamanhos populacionais dos experimentos realizados neste trabalho, comprovando que a metodologia de foto identificação visual poderia ser utilizada em uma população real.

Referências

- Anderson, C. J. R., Roth, J. D., and Waterman, J. M. 2007. Can whisker spot patterns be used to identify individual polar bears? *Journal of Zoology* 273:333–339.
- Arzoumanian, Z., Holmberg, J., and Norman, B. 2005. An astronomical pattern-matching algorithm for computer-aided identification of whale sharks *Rhincodon typus*. *Journal of Applied Ecology*, 42: 999-1011
- Blanchard, F. N. and E. B. Finster. 1933. A method of marking living snakes for future recognition, with a discussion of some problems and results. *Ecology* 14: 334–347
- Bradfield, K. S. 2004. Photographic identification of individual Archey's frogs, *Leiopelma archeyi*, from natural markings *Doc Science Internal Series* 191
- Breining, D. R., Mazerolle, M. J., Bolt, M. R., Legare, M. L., Dreese, J. H. and Hines, J. E. 2012. Habitat fragmentation effects on annual survival of the federally protected eastern indigo snake. *Animal Conservation*. Print ISSN 1367-9430
- Briggs, J. L. and Storm, R. M. 1970. Growth and Population Structure of the Cascade Frog, *Rana cascadae* Slater Reviewed. *Herpetologica*, Vol. 26, No. 3: 283-300
- Borges, M. M., Alves, M. L. M., Araujo, M. L. de, Oliveira, R.B. de and Anés, A.C.2007. Répteis p. 292-315. In: Becker, F. G., R. A. Ramos and L. A. Moura (orgs.) *Biodiversidade: Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapas, Planície Costeira do Rio Grande do Sul*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. 385
- Caorsi V. Z., Santos R. R., Grant T. 2012. Clip or Snap? An Evaluation of Toe-Clipping and Photo-Identification Methods for Identifying Individual Southern Red-Bellied Toads, *Melanophryniscus cambaraensis*. *South American Journal of Herpetology* 72: 79–84.
- Ekner, A., Sajkowska, Z., Dudek, K., & Tryjanowski, P. 2011. Medical cautery units as a permanent and non-invasive method of marking lizards. *Acta Herpetologica*, 6(2): 229-236.
- Ferner, J. W. 2007. A review of marking and individual recognition techniques for amphibian and reptiles. *Herpetological Circular* 35. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Atlanta, USA.
- Guimarães M, Munguía-Steyer R, Doherty PF Jr, Martins M, Sawaya RJ 2014. Population Dynamics of the Critically Endangered Golden Lancehead Pitviper, *Bothrops insularis*: Stability or Decline? *PLoS ONE* 9(4): e95203.

- Hyslop, N. L., Stevenson, D. J., Macey, J. N., Carlile, L. D., Jenkins, C. L., Hostetler, J. A., Oli, M. K. 2012. Survival and population growth of a long-lived threatened snake species, *Drymarchon couperi* (Eastern Indigo Snake) *Popul Ecol*, 54:145–156
- Kenyon, N., Phillott, A. D., & Alford, R. A. 2009. Evaluation of the photographic identification method (PIM) as a tool to identify adult *Litoria Genimaculata* (anura: hylidae). *Herpetological Conservation and Biology*, 4 (3): 403-410.
- Knox, C. D. , Cree, A., & Seddon, P.J. 2012. Accurate identification of individual geckos (*Naultinus gemmeus*) through dorsal pattern differentiation. *New Zealand Journal of Ecology*
- Mccarthy, M.A. & Parris, K.M. 2008. Optimal marking of threatened species to balance benefits of information with impacts of marking. *Conservation Biology*, 22: 1506–1512
- Mellor, D. J., Beausoleil, N. J. and Stafford, K. J. 2004. Marking amphibians, reptiles and marine mammals: animal welfare, practicalities and public perceptions in New Zealand Wellington, *Department of Conservation*. 147
- Mills, M. S., Hudson, C. J. and Berna H. J. 1995. Spatial Ecology and Movements of the Brown Water Snake (*Nerodia taxispilota*) *Herpetologica*, Vol. 51(4), *Papers from the Savannah River Ecology Laboratory*, 412-423
- Oliveira, R. B. 2005. História natural da comunidade de serpentes de uma região de dunas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. 118 f. Diss. Tese (Doutorado em Zoologia). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Biociências. Porto Alegre
- Sacchi, R., Scali, S., Fasola, M. and Galeotti, P. 2007. The numerical encoding of scale morphology highly improves photographic identification in lizards *Acta Herpetologica* 2(1): 27-35
- Sacchi, R., Scali, S., Pellitteri-Rosa, D., Pupin, F., Gentili, A., Tettamanti, S., Cavigioli, L., Racina, L., Maiocchi, V., Galeotti, P. & Fasola, M. 2010. Photographic identification in reptiles: a matter of scales. *Amphibia-Reptilia*, 31: 489–502.
- Speed, C.W., Meekan, M.G. & Bradshaw, C.J.A. 2007. Spot the match – wildlife photo-identification using information theory. *Frontiers in Zoology*, 4: 1–11
- Spellerberg, I. F. 1997. Marking Live Snakes for Identification of Individuals in Population Studies. *Journal of Applied Ecology*, Vol. 14, No. 1: 137-138
- Vasconcellos, M. A., Borges, M. M. 2012. Fotoidentificação como alternativa de marcação não invasiva para o sapinho microendêmico *Melanophryniscus admirabilis* (Anura: Bufonidae) Trabalho de Conclusão de Curso.
- Winne, C. T., Willson, J. D., Todd, B. D., Andrews, K. M., and Gibbons, J. W. 2007. Enigmatic Decline of a Protected Population of Eastern Kingsnakes, *Lampropeltis Getula*, in South Carolina *Copeia*, (3):507-519.
- Lema, T. 1994. Lista comentada dos répteis ocorrentes no Rio Grande do Sul, Brasil. *Comun. Mus. Cienc. Pucrs Ser. Zool.* 7: 41—150
- Regnet, R. A., Quintela, F. M., Entiauspe-Neto, O. M., Teixeira, V. H., Silveira, F. L. and Loebmann, D. 2017. Remarkable aggregation of squamates and caecilians associated with flood events during El Niño in southern Brazil. *Salamandra* 53(4): 537-540.

