

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA
ESCOLA NORMAL SUPERIOR – ENS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Aspectos ecológicos na determinação sexual de *Podocnemis unifilis* TROSCHEL,
1848, em diferentes tipos de solos nos arredores de Manaus**

Antônio Luíz Vieira de Oliveira

MANAUS-AM

2019

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA
ESCOLA NORMAL SUPERIOR – ENS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Aspectos ecológicos na determinação sexual de *Podocnemis unifilis* TROSCHEL,
1848, em diferentes tipos de solos nos arredores de Manaus**

Antônio Luíz Vieira de Oliveira

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cristina Motta Bührnheim (UEA)

Coorientador: P.hD Richard Carl Vogt, (INPA)

Colaboradora: Sabrina Menezes de Oliveira (INPA)

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Amazonas, para obtenção do título de Graduação em Biologia.

Orientadora: Prof.^a Dra. Cristina Motta Bührnheim

Coorientador: Ph.D. Richard Cal Vogt

MANAUS-AM

2019

Antônio Luiz Vieira de Oliveira

**Aspectos ecológicos na determinação sexual de *Podocnemis unifilis* TROSCHEL,
1848, em diferentes tipos de solos nos arredores de Manaus**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Amazonas, para obtenção do título de licenciatura em ciências Biológicas.
Orientadora: Prof.^a Dra. Cristina Motta Bührnheim
Coorientador: Ph.D. Richard Carl Vogt.

Banca examinadora.

Dr. Richard C. Vogt (Orientador)

Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia-INPA

Dr. Rônis da Silveira

Membro titular da Universidade Federal do Amazonas-UFAM

Dra. Marcela dos Santos Magalhães

Membro titular da Universidade Federal do Amazonas-UFAM

MANAUS-AM

2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

O48a Oliveira, Antônio Luiz Vieira
Aspectos ecológicos na determinação sexual de
Podocnemis unifilis TROSCHER, 1848, em diferentes
tipos de solos nos arredores de Manaus / Antônio Luiz
Vieira Oliveira. Manaus : [s.n], 2019.
52 f.: color.; 30 cm.

TCC - Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura
- Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019.
Inclui bibliografia
Orientador: Bührnheim, Cristina Motta
Coorientador: Vogt, Richard Carl

1. Tartarugas. 2. Bacia Amazônica. 3. Trópico. I.
Bührnheim, Cristina Motta (Orient.). II. Vogt, Richard
Carl (Coorient.). III. Universidade do Estado do
Amazonas. IV. Aspectos ecológicos na determinação sexual
de Podocnemis unifilis TROSCHER, 1848, em diferentes
tipos de solos nos arredores de Manaus

Elaborado por Jeane Macelino Galves - CRB-11/463

AGRADECIMENTOS

À Universidade do Estado do Amazonas (UEA), por contribuir com a minha total formação profissional durante a graduação;

Ao centro de estudos de Quelônios da Amazônia, (CEQUA), por todo apoio ao projeto de pesquisa;

Ao laboratório de solo e plantas, também do INPA, pelas as análises da granulometria dos substratos;

Ao Professor pesquisador, Dr. Richard Vogt, por me orientar e por me incentivar a trabalhar com quelônios na Amazônia;

A Professora Dra. Cristina Mota Bührnheim (UEA), pelo o apoio financeiro e credibilidade dada ao meu trabalho;

À banca examinadora, desde a qualificação e as análises críticas, Richard Cal Vogt, Dra. Marcela Magalhães, Dr. Rônis Silveira (UFAM), e a Sofia Eugénia Geraldes Malheiro Ponce de Leão pelas contribuições e comentários;

A Sabrina Menezes de Oliveira, por todo o apoio burocrático durante a pesquisa;

Kelly Caroline de Oliveira, por todo apoio durante a graduação e acreditara em mim nos momentos difíceis;

À equipe de campo por todo apoio e dedicação, Antônio Souza Vieira, Augusto Silva Inácio, Maissiane Souza Parente e Rômulo Vieira de Oliveira;

A professora Maria Clara Forsberg, da disciplina TCC-I, por todo o apoio e dedicação ao projeto de qualificação;

A Professora Dra. Marcela Magalhães, por toda consultoria científica durante a pesquisa;

Ao Professor Dr. Jair Max Furtado, por ter me dado as bases necessárias aos fatores externos em ecologia;

A toda equipe do centro de estudos da Amazônia, CEQUA;

A todos os meus amigos da UEA, que um dia me procuraram para falarmos de Quelônios da Amazônia: e que me transmitiram boas energias ao longo de toda a pesquisa

Gratidão imensa por fazerem parte de mim!

"Você não pode descobrir novos oceanos, a menos que tenha a coragem de perder de vista a sua praia."

Provérbio Tibetano

RESUMO

A proposta deste trabalho tem como objeto de pesquisa a investigação efeitos ecológicos de nidificação sobre a taxa de eclosão, a duração de incubação e a determinação sexual em filhotes de *Podocnemis unifilis*, no Lago do Puraquequara, área antropizada, margem esquerda do Rio Amazonas, leste da cidade de Manaus AM-Brasil, em 2018. Coletou-se ninhos de *P. unifilis*, nos meses de setembro e outubro de 2018 em ambas as margens do Rio Amazonas, mensurou as seguintes variáveis: dia da desova, profundidade dos ninhos, altura dos ninhos em relação ao nível da água no dia da desova a análises da granulometria em laboratório assim como a determinação sexual por análises macroscópicas dos órgão anatômicos e a temperatura de incubação. De acordo com os resultados do presente experimento verificou-se expressiva perda de prole, nos substratos areia grossa e latossolo amarelo, fenômeno este que leva ao declínio populacional de *P. unifilis*, aos longos dos anos. A pesquisa também apontou razão sexual de quase 90 % exclusivamente efeito das altas temperaturas, Diante do exposto recomenda-se o monitoramento continuado dos referidos parâmetros nas principais áreas onde se investe na proteção de sítios reprodutivos de quelônios.

Palavras chave: Tartarugas, Bacia Amazônica, Neotrópico

ABSTRACT

Proposition of this trauma to the object of investing and investing in ecologists of the ecclesiastics of a tax, a duração of incubation and determinato sexual and filhotes of Podocnemis unifilis, after the Lago do Puraquequara, in the area of Antarctica, cidade the Manaus AM-Brasil, in 2018.oletou-se ninhos de P. unifilis, nos meses de setembro e outubro de 2018 em ambas as margens do Rio Amazonas, mensurou as seguintes variáveis: dia da desova, profundidade dos ninhos, altura dos ninhos em relação ao nível da água no dia da desova and analyses of granulometry and laboratory assimilation and determinação sexual por análises macroscópicas dos órgãos anatómicos et tempura de incubação. The accordance and results of the experiment are verified by expressive perda de prole, which are subject to gross and latitudinal amarelo; 90% exclusive of all the temperatures, Diante do exposto recomenda-se or monitoramento continuous referros of the principles of our investment in the product of the reproduction of the quelônios.

Palavras chave: Tartarugas, Bacia Amazônica, Neotropico

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS	v
EPÍGRAFE	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
1.INTRODUÇÃO	14
1.1. Biologia de <i>Podocnemis unifilis</i> (Tracajá).....	17
2. REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Determinação sexual do lagarto <i>Agama agama</i>	20
2.2 Determinação sexual dependente da temperatura: DST, TSD e EDS.....	20
2.3 Primeiro trabalho realizado com Quelônios, DST.....	21
2.4 Período termo-sensitivo em Tartarugas.....	21
2.5 A temperatura pivotal.....	22
2.6 Característica fisiológicas.....	23
2.7 Efeito Hormonal.....	23
2.8 Conhecimento brasileiro dos mecanismos da determinação sexual.....	23
3. Objetivos	23
3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivos específicos.....	25
4. Marial e Método	25
4.1 Área de Estudos.....	24
5. Metodologia	26
5.1 Fase-I: Coleta de Campo.....	26
5.2 Transplantação dos ovos.....	27
5.3 Fase-II: Análises Granulometria.....	28
5.4 Coleta das Amostras de solo.....	28
5.5 Determinação do teor de umidade.....	28
5.6 Pré-tratamento, eliminação da Matéria Orgânica (M.O.)	28
5.7 Dispersão.....	29

5,8 Separação das frações de areia.....	29
5,9 Areia Grossa.....	30
5.9.1 Areia Fina.....	30
6.0 Determinação da Argila.....	30
6.1 Fração de Argila.....	31
6.2 Determinação do silte.....	31
6.3 Silte Grosso.....	31
6.4 Cálculo Matemático.....	31
7.0 Fase-III: Eutanásia.....	31
7.1 Biometria.....	31
7.2 Cálculo das Substâncias.....	32
7.3 Materiais e procedimentos.....	32
8. Resultado.....	34
8.1 Perda de ninhos por inundação.....	34
8. 2 Taxa de Eclosão.....	36
8. 3 Razão Sexual.....	39
9. Discussão.....	40
9.1 Perda de ninhos por inundação.....	40
9.2 Taxa de Eclosão.....	40
9.3 Razão Sexual.....	41
10. Conclusão.....	43
11. Referência.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela-1: Época de desova de <i>P. unifilis</i> , durante a estação seca, na Amazônia.....	17
Tabela-2: as inúmeras espécies, que foram encontradas a temperatura pivotal, no Brasil.....	19
Tabela 3: Valores da Biometria de filhotes <i>P. unifilis</i> , no Centro de estudos de Quelônios Amazonia, em 26/09/2019.....	34
Tabela-4: Dados dos ninhos de <i>P. unifilis</i> , encontrados no Lago do Puraquequara e Comunidade Terra Nova, em 02/09/18, 07/09/18 e 10/09/18 respectivamente.....	35
Tabela-5: valores de cota máxima e mínima, do Rio Amazonas, de 2010 há 2018.....	37
Tabela-6: Relação Sucesso de eclosão por substrato.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura-1: Filhotes de <i>Podocnemis unifilis</i> , <i>Podocnemis expansa</i> , <i>Podocnemis erythrocephala</i> e <i>Podocnemis sextuberculata</i>	15
Figura 2. –Distribuição geográfica de <i>Podocnemis unifilis</i> segundo Pritchard e Trebbau (1984)	15
Figura 3. – . Filhote de <i>Podocnemis unifilis</i> (tracajá), coletado na área de estudo Lago do Puraquequara Manaus (AM).....	16
Figura 4. – Dimorfismo sexual em adultos de <i>Podocnemis unifilis</i>	17
Figura-5: Locais de coletas ambas as margens do Rio Amazonas e margem direita do Rio Negro.....	24
Figura-6: Mostrando detalhes a distância e altura do ninho, de <i>P. unifilis</i> em relação a água do lago Puraquequara em 02/10/2018.....	25
Figura-7: Da esquerda para a direita, em (a) Substrato Areia, em (b) Lato-solo Amarelo e em (c) Terra Preta e Matéria Orgânica, experimento piloto no Lago do Puraquequara, em 2018.....	27
Figura-8: Em (a), adição do Pirofosfato de sódio, em (b), repouso após adição do Pirofosfato, por 12 horas.....	29
Figura-9: Em (a), peneira 0,053 mm, em (b), placa de petri, em numerada contendo amostras e em (c), balança de precisão.....	30
Figura-10: Em (c), agitação de amostras com bastão de madeira, em (b), estufas 105 °C, e em (c), desacador.....	31
Figura-11: Em (a), aplicação de Cetamina, em (b), aplicação do Petobarbital, em Juvenil <i>P. unifilis</i> (tracajá).....	32

Figura-12: Órgãos genitais femininos de <i>Punifilis</i> , jovem Pulmão direito (PD), mesovário (MO), ovário esquerdo (OE), (BC), intestino grosso (IG), vesícula urinária (VU).....	34
Figura-13: Projeção gráfica, expressando o total em (dias), relação cota máxima e mínima, nos de 2010 há 2018.....	34
Figura-14a Temperatura de incubação 73 (setenta e três) dias em substrato Poroso, em 10 b Temperatura de incubação substrato Lato solo e em 10 c Temperatura de incubação substrato Matéria Orgânica e Terra Preta.....	35
Figura-15: Comparação da posição dos órgãos anatômicos de <i>P. unifilis</i> jovem em (a) e <i>P unifilis</i> adulta em (b).....	44

1.INTRODUÇÃO

No Brasil, ocorrem 36 espécies de Quelônios inseridas na ordem Testudines, divididas nas subordens Pleurodira e Cryptodira, em diversos ecossistemas terrestres e aquáticos. Duas são terrestres, cinco são marinhas e 29 são de água doce, e destas, 18 se encontram na região amazônica (RUEDA-ALMONACIDR *et al.*, 2007, VOGT, 2008).

A subordem Pleurodira possui apenas representantes de água doce pertencentes às famílias Chelidae, Pelomedusidae e Podocnemididae (ELY, 2008). Na Amazônia brasileira estão presentes cinco espécies da família Podocnemididae: *Podocnemis expansa*, *Podocnemis unifilis*, *Podocnemis sextuberculata*, *Podocnemis erythrocephala* e *Peltocephalus dumerilianus* (RUEDA-ALMONACIDR *et al.*, 2007; VOGT, 2008), figura-1. Constatase que a determinação sexual de *P. unifilis* (Troschel, 1848, Podocnemididae) depende da temperatura de incubação do ovo (ALHO *et al.*, 1984). O ambiente de nidificação, assim como seu ambiente físico e características climáticas, determinam a temperatura dentro dos ninhos, o que revela a importância crucial da escolha dos locais de oviposição apropriados para o sucesso reprodutivo à espécie (VOGT, 1994).

Fêmeas de *P. unifilis* procuram as praias mais adequadas para nidificação e devem escolher os locais que são topograficamente altos o suficiente para evitar a inundação de ninhos no início da desova, que ocorre sempre no período da seca. No entanto, a *P. unifilis*, por ser uma espécie de alta plasticidade, nidifica em vários substratos, como: bancos arenosos, lacustres fluviais, áreas vegetadas ou campos arenosos abertos, entre folhas e restos vegetais de matas densas e substrato lamoso (VOGT, 2008).

Vivemos em um período de desenvolvimento, industrialização, expansão da pecuária e etc., estas ações vêm potencializando o aquecimento global de forma relevante e causando efeitos na biodiversidade e ecossistemas. Por conseguinte, nas últimas décadas, as alterações climáticas causaram impactos nos sistemas naturais de todos os continentes e oceanos. A prova do impacto das alterações climáticas é mais forte e mais abrangente para os sistemas naturais. Conseqüentemente, a reprodução de quelônios e crocodilianos, que tem determinação sexual dependente da temperatura, estão sendo fortemente afetados (IPCC, 2017).

Nesse sentido, muitas espécies terrestres, de água doce ou marinha, mudaram a sua distribuição geográfica, sazonalidade, padrões de migração, abundância e interações entre espécies como resposta às alterações climáticas em curso. Apesar de apenas algumas extinções recentes de espécies terem sido atribuídas às alterações climáticas globais naturais,

mais lentas do que as atuais alterações climáticas antropogênicas, provocaram mudanças significativas nos ecossistemas e a extinção de espécies durante os últimos milhões de anos (IPCC, 2017).

Outro fator relevante em relação aos quelônios da família Podocnemididae, que estão amplamente distribuídos pela bacia amazônica, é a predação natural expressiva por lagartos (VOGT et al., 1994; ESCALONA e FA, 1998; PIZZUTI et al., 2000), formigas e aves (FERREIRA JUNIOR e CASTRO, 2010; FÉLIX-SILVA, 2004). O alagamento é outro fator importante de perda de ninhos, pois as variações relacionadas ao ciclo hidrológico, como as enchentes antecipadas - conhecidas na região como "repiquetes", podem causar efeitos drásticos na sobrevivência dos quelônios, provocando a morte dos embriões por afogamento antes que eles concluam seu desenvolvimento (ALHO e PÁDUA, 1982; SOINI, 1997; PIZZUTI e VOGT, 1999; FERREIRA JÚNIOR e CASTRO, 2003). Além disso, os ovos dos quelônios Podocnemididae têm sido um importante recurso alimentar para as populações humanas da América do Sul desde o período pré-colonial (MITTERMEIER, 1978; JOHNS, 1987; THORBJARNARSON *et al.*, 1993). Essa intensa exploração dos quelônios amazônicos levou a uma drástica redução das populações nos últimos séculos (REBÊLO PEZZUTI, 2000).

Nessa perspectiva, faz-se necessário conhecer a influência da granulometria e a razão sexual dos embriões de *P. unifilis*, nascidos em solos heterogêneos, pois a sincronização das moléculas projeta temperaturas específicas no interior dos ninhos da espécie. Esse conhecimento é útil para a conservação da espécie e mapeamento de áreas de nidificação. Considerando estes fatos, o presente estudo avaliou a papel das características do local de incubação, o padrão de temperatura e a variação nos ninhos realocados de *P. unifilis* em diferentes substratos, ao longo da sua área de ocorrência (FERREIRA JÚNIOR E CASTRO, 2010). Além disso, as diversas formas de uso do solo acarretam intensas modificações da paisagem que podem influenciar direta ou indiretamente o sucesso reprodutivo desta espécie (MOLL E MOLL, 2004).

Assim, o estado de conservação da espécie em território brasileiro está quase ameaçado de extinção (NT) (ICMBIO, 2014). Uma das alternativas para essa problemática é entender a biologia reprodutiva da espécie (VOGT, 2004). Portanto, justifica-se o presente trabalho com base em quatro estudos principais, desenvolvidos ao longo de 32 anos - dois trabalhos com a espécie foram realizados em território brasileiro: i) Rio Trombeta Pará (VOGT, 1982), e ii) Rio Guaporé Rondônia (VOGT, 1994); iii) o aumento da temperatura de

1,5 até 4,8°C, até 2100 (IPCC, 2017); e iv) a forte pressão antrópica sobre a espécie, tanto no consumo de carne como em consumo de ovos (REBÊLO, G.; PIZZUTI, J. 2000)

O manejo da fauna silvestre e a manutenção de seus habitats constituem estratégias fundamentais para a conservação, sendo necessárias informações ecológicas básicas para subsidiar uma melhor gestão dos recursos naturais (ROBINSON e REDFORD, 1991). A conservação das espécies de quelônios amazônicos é importante não apenas por manter a diversidade biológica neste bioma, mas também pelo papel histórico e atual destes animais como recurso alimentar e fonte de proteína para as populações ribeirinhas (VOGT, 1994; REBÊLO e LUGLI, 1996). Assim sendo, o conhecimento dos fatores que influenciam as populações desses animais é necessário para subsidiar estratégias adequadas de conservação e manejo (VOGT, 1994; VOGT, 2001), e um dos aspectos mais importantes a ser levado em consideração no manejo de quelônios é a influência dos ambientes de nidificação sobre a sobrevivência e o desenvolvimento dos embriões (SOUZA e VOGT, 1994; PEZZUTI e VOGT, 1999; BATISTELLA e VOGT, 2008; FÉLIX-SILVA, 2009; PANTOJA-LIMA et al., 2009; PIGNATI e PEZZUTI, 2012).

De acordo com VOGT, 2008), a conservação da espécie de *P. unifilis* não pode ser meramente legislada: regulamentos lógicos devem ser tomados para promover o uso racional da espécie, sem a destruição de seus habitats. Nessa perspectiva, programas de conservação dos quelônios, na Amazônia, incluem transferências de ovos das áreas desprotegidas para locais seguros. Efetivamente, em programas de manejo, seria mais relevante a produção de fêmeas do que de machos, visto que as populações da espécie estão sendo exploradas de forma desleal por humanos, apesar de serem protegidos pela Lei 5.197 (IBAMA, 2013). Ocorre que em muitos lugares da Amazônia, essa lei é ignorada pela população, bem como outras leis de proteção (VOGT, 2008). Segundo o relato de Vogt (2008), a espécie se encontra na lista vermelha de animais ameaçados de extinção da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), está em situação de vulnerabilidade.

Figura-1 : Quatro indivíduos do gênero *Podocnemis* (da esquerda para a direita): tracajá, *Podocnemis unifilis*, *Podocnemis expansa*, *Podocnemis erythrocephala* e *Podocnemis sextuberculata*.



Fonte: Camila Ferrara, 2010.

1.1. Biologia de *Podocnemis unifilis* (Traçajá)

Podocnemis unifilis é uma espécie dos quelônios mais capturados para consumo na Amazônia brasileira, considerada vulnerável pela IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza) e catalogada pelo CITES (Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção) – Apêndice II. Popularmente conhecida como traçajá, é um quelônio Pleurodira, no qual o pescoço move-se para o lado horizontalmente (POUGH *et al.*, 2001), com ocorrência registrada para todos os tipos de águas (branca, preta e clara) nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco, incluídos no Brasil, Peru, Colômbia, Venezuela, Equador, Bolívia e Guianas e dos rios Tocantins e Araguaia (figura-2).

Figura-2: Distribuição Geográfica *Podocnemis unifilis*, em planícies tropicais no norte da América do Sul



Fonte: (ICMBIO, 2019)

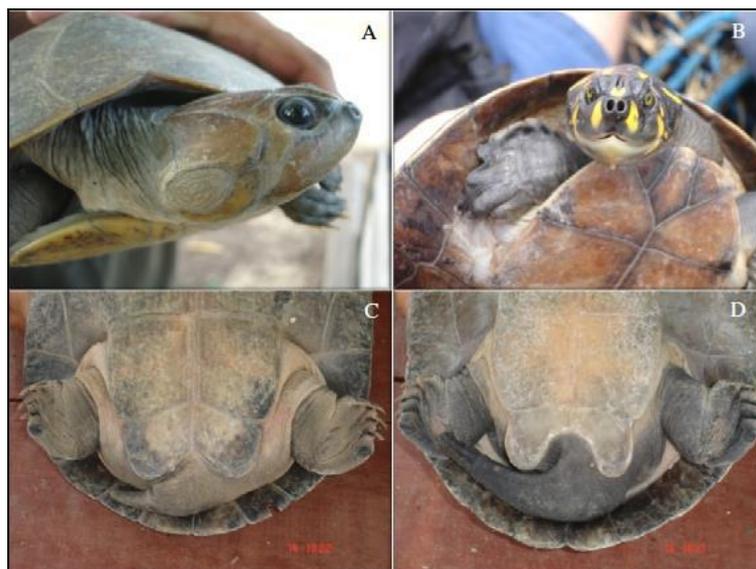
Uma das características que a diferencia das demais espécies de quelônios da região é o seu padrão de colorido. Filhotes juvenis e machos adultos exibem manchas amarelas na cabeça (figura-3), que em fêmeas adultas passam a ter coloração marrom. Os machos possuem cauda maior e são menores que as fêmeas (figura-4). Em geral, *P. unifilis* apresenta um único barbelo embaixo do queixo (PRITCHARD & TREBBAU, 1984; RUEDA-ALMONACID *et al.*, 2007), o que lhe confere o nome específico.

Figura-3. Filhote de *Podocnemis unifilis* (tracajá), coletado na área de estudo Lago do Puraquequara em Manaus (Brasil).



A dieta do tracajá no período de seca, em uma várzea do médio Solimões (AM) (BALENSIEFER, 2003), é constituída por 79,6% de matéria vegetal, 15,1% de sedimento e 0,8% de matéria animal. Em estudo realizado no rio Guaporé (RO), (FACHIN-TERAN *et al.*, 1995), encontraram resultado similar para matéria vegetal (89,5%) e matéria animal (1,2%), mas não encontraram diferença na porcentagem de cada categoria de alimento consumido entre as estações de seca e cheia. Os filhotes praticam neustofagia, que consiste na ingestão de material flutuante na superfície da água (RUEDA- ALMONACID *et al.*, 2007).

Figura-4: Dimorfismo sexual, *Podocnemis unifilis*, adulto Fêmea (A, C) e macho (B, D)



Fonte: adaptado de Rizzato (2010)

Considera-se que a *P. unifilis* desova em vários tipos de substratos - praias de areia ou argila, e/ou barrancos de barro, de acordo com Fachín-Terán e Von Mulhen (2006). Porém, diferentemente da tartaruga-da-Amazônia, esta espécie não desova em grupo. Na Amazônia, o período de nidificação coincide com o período de seca do ano em cada região (**tabela-1**), e em cada ninho (com 15 cm de profundidade média) são depositados de 11 a 35 ovos, podendo ocorrer até duas desovas por ano (RUEDA-ALMONACID *et al.*, 2007; VOGT, 2008).

O período de incubação dura cerca de 50 a 70 dias, e após quebrarem a casca dos ovos, os filhotes podem ficar até sete dias dentro dos ovos e permanecerem por até duas semanas dentro do ninho antes de emergir (RUEDA-ALMONACID *et al* 2007). A determinação sexual depende da temperatura de incubação dos ninhos, sendo que ninhos incubados em altas temperaturas (acima de 32°C em média) geram fêmeas e os que se desenvolvem sob temperaturas mais amenas (cerca de 28° C) originam machos (SOUZA & VOGT, 1994).

Tabela-1: Período de desova de *P. unifilis*, durante a estação seca, na Amazônia.

Espécie	Meses	Local/ Rios
<i>P. unifilis</i>	Junho a julho	Purus (Brasil)
<i>P. unifilis</i>	Outubro	Trombeta, Tapajós, Guaporé, Mortes (Brasil)
<i>P. unifilis</i>	Dezembro a janeiro	Branco, Negro e Juruá (Brasil)
<i>P. unifilis</i>	Julho, agosto e dezembro	Pacaya (Peru)
<i>P. unifilis</i>	Janeiro	Orinoco (Venezuela)

Fonte: Adaptado de VOGT, 2008.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Determinação sexual do lagarto *Agama agama*

Estudos originados na década de 1960 demonstraram que a vulnerabilidade de vários répteis antecede a eclosão e tem momentos críticos durante a incubação. A descoberta de que a determinação sexual do lagarto *Agama agama* é controlada pela temperatura de incubação dos ovos abriu um novo campo de pesquisas (CHARNIER, 1966). Uma determinada faixa de temperatura produz apenas machos e outra, exclusivamente fêmeas, existindo ainda um intervalo de transição onde são gerados ambos os sexos. Esta descoberta originou um novo e fascinante cenário de pesquisas que busca determinar os elementos físicos que afetam e influenciam o sexo dos embriões. Hoje, a temperatura é o elemento principal da determinação sexual de inúmeras espécies de tartarugas.

2.2 Determinação sexual dependente da temperatura: DST, TSD e EDS

A descoberta da determinação sexual dependente da temperatura de incubação (TSD) chamou a atenção para as condições em que ocorre a incubação. Em inglês são encontradas duas siglas: TSD (*temperature-dependent sex determination* (BULL, 1980) e EDS (*environmental sex determination* (BULL *et al.*, 1985) para o termo “determinação sexual dependente da temperatura de incubação”. Consequentemente, na DST uma determinada faixa de temperatura induz ao desenvolvimento de machos e outra faixa de temperatura ao desenvolvimento de fêmeas. Separando essas faixas termais, existe uma zona de transição onde são gerados machos e fêmeas. Neste caso, as condições físicas que regem a incubação terão um papel decisivo na proporção de indivíduos machos e fêmeas produzidos em cada ninho (razão sexual). Para espécies com DST a diferença na razão sexual é devida à influência da temperatura de incubação e não às taxas de mortalidade diferenciadas entre os sexos (BULL&VOGTV, 1979). Nesse sentido, a DST é o mecanismo mais frequente entre os quelônios, mas em algumas espécies a determinação sexual independe da temperatura de incubação, no entanto a DSG é menos frequente em quelônios, mas é comum em cobras e lagartos. Em inglês tem-se a sigla GDS que significa *genotypic sex determination* (BULL, 1980).

Além disso, já foram testadas 80 espécies quanto ao modo de reprodução. Destas, 64 apresentaram DST e 16 apresentaram DSG. Além das 49 espécies apresentadas, apontaram-se 15 espécies com DST sem informar a temperatura pivotal ou o local da coleta dos ovos (EWERT *et al.* 1994, 2004).

2.3 Primeiro trabalho realizado com Quelônios, DST.

Nota-se que o primeiro trabalho realizado com quelônios, descobrindo a DST em *Testudo graeca* e *Emys orbicularis*, foram realizados por Pieau (1971) e Yntema (1976) mostrou que para *Chelydra serpentina* há uma relação inversa entre a temperatura e a duração da incubação, e uma diminuição de 2°C na temperatura média aumenta em até 20 dias a duração da incubação. Novamente, três anos depois, Yntema (1979) manipulou a temperatura de incubação ao longo de vários estágios do desenvolvimento embrionário de *C. serpentina*, definindo o período termo-sensitivo, ou seja, o momento em que a temperatura age irreversivelmente sobre a diferenciação das gônadas.

2.4 Período termo-sensitivo em Tartarugas

O período termo-sensitivo em tartarugas de água doce (*Graptemys*, *Chrysemys picta* e *C. serpentina*) e em tartarugas marinhas (*Caretta caretta*) é o mesmo e localiza-se no segundo terço do desenvolvimento embrionário (BULL&VOGT, 1979, 1981; YNTEMA, 1979; YNTEMA & MROSOVKY, 1982; VOGT&BULL, 1982). Ao tomar como base os estágios do desenvolvimento (YNTEMA, 1968), e não a duração da incubação, (YNTEMA, 1979), criou uma metodologia que permite comparações entre diversas espécies de quelônios, independente da taxa do desenvolvimento embrionário.

Naturalmente, a determinação sexual depende do efeito cumulativo da temperatura. No estágio inicial, no primeiro terço da incubação, a temperatura influencia a determinação sexual, mas a reversibilidade é possível. No segundo terço da incubação, a determinação sexual é irreversível (BULL&VOGT, 1981). Neste estágio, a temperatura atua na síntese de enzimas envolvidas na diferenciação das gônadas (PIEAU, 1996). Entretanto, apesar da temperatura da incubação ser reconhecidamente um fator que afeta a determinação sexual dos embriões, a taxa de estrógeno é um elemento ainda mais importante, pois embriões tratados com estrógeno geram fêmeas em temperaturas apropriadas ao desenvolvimento de machos. E

machos se desenvolvem quando a síntese de estrógeno é bloqueada em uma temperatura que tipicamente produz fêmeas (WIBBELS *et al.*, 1994; PIEAU, 1996).

2.5 A temperatura pivotal

A temperatura pivotal, também denominada temperatura crítica ou *threshold*, define a produção de 50% de machos e 50% de fêmeas (BULL, 1980). Quando a embriogênese se processa às temperaturas próximas à pivotal, pequenas diferenças de 1°C a 2°C são suficientes para alterar a razão sexual dos embriões (YNTEMA & MROSOVSKY, 1982). A amplitude da zona de transição da temperatura, em que machos e fêmeas são gerados, é muito variável. Para as tartarugas marinhas *Natator depressus* e *Dermochelys coriacea* (MEWAVISENTHI & PARMENTER, 2000) é de menos de 1 °C. Já para *Chelonia mydas* fica em torno de 4°C (MROSOVSKY *et al.*, 1984). O efeito das variações da temperatura durante a incubação na razão sexual dos filhotes dependerá da amplitude da zona de transição da temperatura, nota-se algumas espécies no Brasil, com temperatura pivotal definida.

Tabela-2: Algumas espécies, que foram encontradas a temperatura pivotal, no Brasil.

Espécie	Temperatura Pivotal	Local	Autor
<i>Podocnemis unifilis</i> *	32	Rio Guaporé-RO(Brasil)	Souza & Vogt (1994)
<i>Podocnemis expansa</i>	< 34	Rio Trombetas – PA (Brasil)	Alho et al. (1984)
<i>Podocnemis Sextuberculatas</i> *		Rio Japurá-AM (Brasil)	Pezzuti & Vogt 1999

Fonte: Adaptado (FERREIRA JUNIOR, 2009)

2.6 Característica fisiológicas

Os estudos sobre DST em quelônios envolvem dificuldades inerentes às características fisiológicas dos animais recém-eclodidos. O dimorfismo sexual, na maioria das espécies, somente é visível após alguns anos de vida, sendo que nos embriões e filhotes recém-eclodidos o meio mais seguro para se aferir o sexo são estudos histológicos. A análise histológica de *C. serpentina* realizada por Yntema (1976) serve de orientação para outras

espécies. Trabalhos recentes mostraram que a partir da aplicação dos princípios da morfometria geométrica, foi possível correlacionar o sexo dos filhotes recém-eclodidos das tartarugas de água doce *Podocnemis expansa* e *Chrysemys picta* com a forma da carapaça.

2.7 Conhecimento Nacional sobre determinação sexual

Para as tartarugas brasileiras são identificadas duas situações distintas no que diz respeito ao conhecimento do mecanismo responsável pela determinação sexual. No primeiro grupo, situam-se as cinco espécies de tartarugas marinhas que desovam no litoral brasileiro e para as quais a temperatura pivotal já foi determinada. Destaque para os trabalhos com populações brasileiras de *Caretta caretta* (MARCOVALDI *et al.*, 1997; MAROSOVSKY *et al.*, 1999) e *Eretmochelys imbricata* (GODFREY *et al.*, 1999), que apresentam a duração pivotal da incubação que permite estimar a razão sexual com base no número de dias de incubação. Para as outras espécies (*Lepidochelys olivacea*, *Chelonia mydas* e *Dermochelys coriacea*) já foram calculadas as temperaturas pivotais em outras partes do mundo. Como a temperatura pivotal das tartarugas marinhas apresenta valores muito próximos ao longo de suas diversas áreas de desova (MROSOVSKY *et al.*, 1984; MARCOVALDI *et al.*, 1997; BINCKLEY *et al.*, 1998; CHEVALIER *et al.*, 1999; GODLEY *et al.*, 2002) a falta dessa informação, para o litoral brasileiro, aparentemente, não traz grandes problemas para as iniciativas de preservação das espécies.

No segundo grupo, enquadram-se as espécies terrestres e de água doce (SBH, 2007). Para os jabutis *Geochelone carbonaria* e *Geochelone denticulata* ainda não existem informações seguras acerca do modo de determinação do sexo ou da temperatura pivotal. Apenas *G. carbonaria* foi testado com indicações de que a determinação sexual é dependente da temperatura de incubação (FRANCO, 1994). Devido à ampla distribuição geográfica dessas espécies que ocupam diferentes biomas, é importante que se estabeleça o modo de reprodução e possíveis variações da temperatura pivotal, pois essas informações podem auxiliar no estabelecimento de áreas prioritárias de conservação e estratégias de manejo. Para as 29 espécies de tartaruga de água doce, oito já foram testadas, sendo que quatro apresentam determinação sexual dependente da temperatura de incubação (*Podocnemis sextuberculata*, *P. unifilis* e *P. expansa*, pertencentes à família Podocnemididae e *Kinosternon scorpioides*, da família Kinosternidae) e nas outras quatro, a definição do sexo independe da temperatura da incubação (*Phrynops geoffroanus*, *Mesoclemmys gibba*, *P. hilarii*, da família Chelidae e *Peltocephalus dumeriliana*, da família Podocnemididae). A família Podocnemididae é a

melhor estudada e a *P. expansa* apresenta a maior temperatura pivotal entre todos os répteis, superior a 3 °C para a população do Rio Trombetas (ALHO *et al.*, 1994).

A determinação do modo de reprodução deve ser realizada para todas as espécies, pois dentro de uma mesma família (e.g. Podocnemididae, Emydidae e Kinosternidae) podem conviver os dois modos de determinação sexual (JANZEN & KRENZ, 2004; EWERT *et al.*, 2004). O trabalho inicial mais apropriado para esse tipo de estudo é em laboratório, onde as condições de temperatura são controladas. A extensão para ninhos naturais também é essencial para que se conheça a influência que o local da desova exerce na temperatura pivotal.

Para as espécies com grande distribuição geográfica, a temperatura pivotal deve ser analisada em mais de uma região, pois podem ocorrer variações buscando manter o equilíbrio das populações (EWERT *et al.*, 1994, 2004). Essas informações são valiosas na elaboração de planos e estratégia de conservação e utilização racional dos quelônios brasileiros. O estabelecimento do modo de determinação sexual e da temperatura pivotal também possibilitam uma avaliação mais segura da efetividade de algumas práticas de manejo, principalmente aquelas que envolvem a transferência de ninhos (NARO-MACIEL *et al.*, 1999). Sempre que possível, é desejável que a transferência de ninhos se dê para locais que possuam características fisiográficas semelhantes ao local de origem para que a razão sexual seja mantida.

3. Objetivos

3.1. Geral:

Verificar os efeitos da temperatura e a influência granulométrica na reprodução de *Podocnemis unifilis*, em diferentes substratos nos arredores de Manaus.

3.2. Específicos:

- Verificar a perda de ninhos de *Podocnemis unifilis* por inundações naturais em áreas antropizadas;
- Analisar a granulometria dos diferentes substratos e sua influência na eclosão dos ovos de *Podocnemis unifilis*;
- Identificar o sexo dos filhotes por análises macroscópicas.

4. Material e Métodos

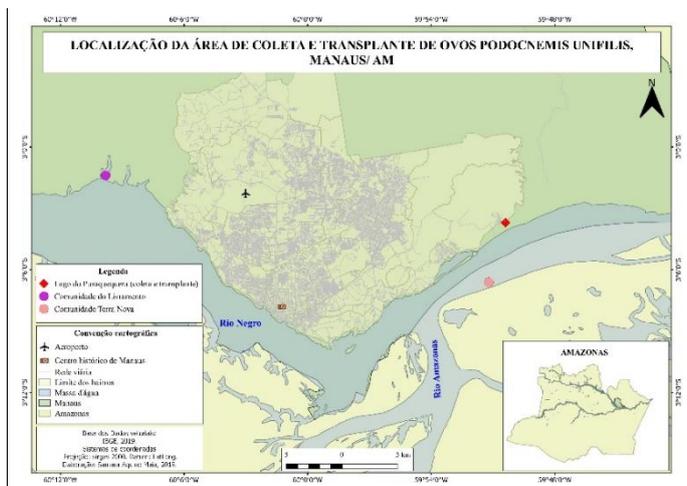
4.1 Área de Estudos

A área de coleta do presente trabalho concentrou-se no Lago do Puraquequara, margem esquerda do Rio Amazonas, Zona Leste de Manaus (figura-5): local totalmente antropizado, com grande fluxo logístico, pois existem ao menos 4 portos de embarque e desembarque e 3 balneários. No entanto, o Lago do Puraquequara, também chamado “baía” pelos os ribeirinhos, conta com um forte cenário ecológico, caracterizado por várzea e terra firme, onde há conexão com o rio Amazonas durante a cheia, com a presença de igapó e bastante macrófitas da espécie *Eichhornia crassipes*, cerca de 20cm de comprimento, e que nessa mesma época apresenta um grande tráfego marítimo de pequenas embarcações e canoas vindas das comunidades rurais próximas. Durante o período da seca, nos meses de setembro e outubro é bastante comum a nidificação de *P. unifilis* no local.

Ainda no Rio Amazonas, o outro local no qual concentraram-se as buscas por ninhos de *P. unifilis* foi na comunidade Terra Nova, margem direita do Rio Amazonas, A comunidade tem estrutura rural e urbana, dentro do município de Manaus. A principal atividade dos moradores é a agricultura familiar, que acontece de forma sazonal. A vegetação à margem do rio é principalmente de gramíneas e substratos arenosos, muito frequentes no local.

As buscas também se deram na comunidade do Livramento, localizada à margem direita do Rio Negro, um pouco abaixo da Praia da Lua. A comunidade é relativamente bem antropizada, com forte fluxo logístico envolvendo pequenas embarcações. A comunidade do Livramento é uma comunidade classificada como rural, com cenário ecológico significativo e vegetação sub-bosque, com gramíneas ao entorno.

Figura-5: Locais de coletas ambas as margens do Rio Amazonas e margem direita do Rio Negro.



Fonte: Laboratório de Geografia Escola Normal Superior-UEA.

5. Metodologia

5.1 Fase-I:

As buscas por ninhos de *P. unifilis* foram realizadas a partir do dia 05/09/2018, na margem direita do Rio Amazonas, na comunidade Terra Nova e na margem esquerda do Rio Negro, no Lago do Puraquequara, na comunidade Praia do Livramento. As buscas foram realizadas nos seguintes dias da semana: aos sábados e domingos, das 7:30 até às 11:00 horas, no Rio Amazonas, em ambas as margens, e nas quartas-feiras, no Rio Negro. O meio de transporte utilizado durante as buscas do dia 05/09/2018 até 10/10/2018 foi uma canoa, de 5 metros de comprimento, com capacidade para 6 pessoas. O primeiro ninho de *P. unifilis* foi encontrado no Lago do Puraquequara no dia 02/10/2018, por volta das 7:00 horas, em solo poroso (areia), com 22 ovos, do qual retirou-se os ovos, e obteve-se as seguintes medidas realizadas com fita métrica: diâmetro = 11 centímetros, e profundidade = 18 centímetros.

Para cada ninho encontrado, foi registrada a distância e altura do ninho em relação ao nível da água do Lago do Puraquequara/comunidade Terra Nova. A altura do ninho foi obtida com a utilização de mangueiras de nível d'água, usando-se a diferença vertical entre a superfície do ninho e o ponto mais baixo atingido pela água do Lago.

Figura-6: Mostrando detalhes a distância e altura do ninho, de *P. unifilis* em relação a água do lago Puraquequara em 02/10/2018



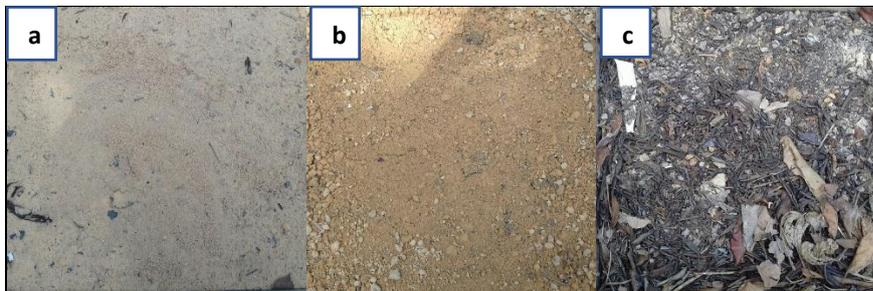
Em seguida, todos os ovos foram colocados dentro de uma caixa de isopor de dimensões de 20x30x15cm, junto com o substrato de origem e transportado por 20 minutos para um local seguro. Este procedimento foi aplicado para todos os ninhos envolvidos na pesquisa. O segundo ninho foi encontrado no Lago do Puraquequara em 05/10/2018 na margem esquerda do Rio Amazonas, em meio à vegetação sub-bosque em substrato, lato-solo amarelo, com 22 ovos, às 9:00 horas. Após a localização do ninho, seguiu-se os mesmos procedimentos aplicados ao ninho anterior. Os ovos foram retirados junto com o substrato para a realização do transporte para o local de transplantação. O terceiro ninho foi encontrado na comunidade Terra Nova, margem direita do Rio Amazonas, em meio à vegetação sub-bosque, composto por origem vegetal e terra preta. Foram encontrados 28 ovos em 07/10/2018, às 10:30 horas.

5.2 Transplantação

O primeiro passo foi a realização biométrica dos ovos de *P. uinifilis*, após 30 minutos de coleta no campo, com paquímetro graduado em mm, aferiu-se o comprimento e diâmetro dos 25 ovos. Na sequência, executou-se a pesagem dos ovos, em balança de precisão graduada em 100 g. Cavou-se um ninho, seguindo todas as medidas de campo em substrato poroso (areia grossa), com as seguintes dimensões: largura = 80 cm, comprimento = 80 cm e profundidade = 70 cm, o isolamento térmico entre os substratos foi realizado com placas de isopor, linhas vermelha (figura-7): depositou-se todos os ovos sobre a câmara dos mesmos, ao

centro colocou se 1 data-logger para armazenar a temperatura de incubação - processo aplicados a todos os ninhos.

Figura-7: Da esquerda para a direita, em (a) Substrato Areia, em (b) Lato-solo Amarelo e em (c) Terra Preta e Matéria Orgânica, experimento piloto no Lago do Puraquequara, em 2018.



5.3 Fase-II: Análise Granulometria

5.4 Coleta das Amostras de solo

Retirou-se 20g de solo após o nascimento dos filhotes de dentro dos ninhos, cada substrato com um cano de uma polegada, todas as amostras foram colocadas dentro de sacos plásticos, conforme recomendações técnicas, e foram transportados para as análises até o Laboratório de Solo e Plantas do V8, INPA-1, Aleixo.

5.5 Determinação do teor de umidade

Pesou-se a cápsula de alumínio, anotou-se o peso da tara = 10 g de TFSA, seguindo para a estufa a 105°C durante 24 horas. Retirou-se da estufa e colocou-se no dessecador para esfriar; em seguida realizou-se a pesagem da cápsula de alumínio e solo seco, anotou-se os valores no manual de anotações do laboratório.

5.6 Pré-tratamento, eliminação da matéria orgânica

Pesou-se Erlenmeyer de 500ml 10g de TFSA; adicionou-se 10ml de peróxido de hidrogênio na amostra para reação por 12 horas. Acessou-se a reação para a queima da matéria orgânica, adicionando 100ml de água destilada e colocou-se novamente para a estufa a 105°C, para eliminar o peróxido de hidrogênio, por 4 horas, em seguida ficou em temperatura ambiente para o resfriamento.

5.7 Dispersão

Completou-se o volume para 200ml em cada amostra pipeta com 20 ml (figura-8a), do dispersante pirofosfato de sódio; agitou-se e deixou em contato com o pirofosfato por 12 horas (figura-8b), em seguida agitou-se por 15 minutos para os solos argilosos e 5 minutos para solos arenosos e terra preta, respectivamente.

Figura-8: Em (a), adição do pirofosfato de sódio, em (b), repouso após adição do pirofosfato, por 12 horas.

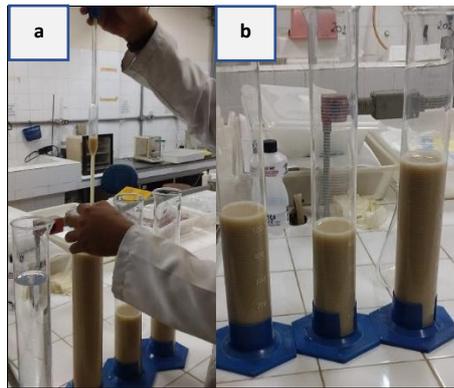
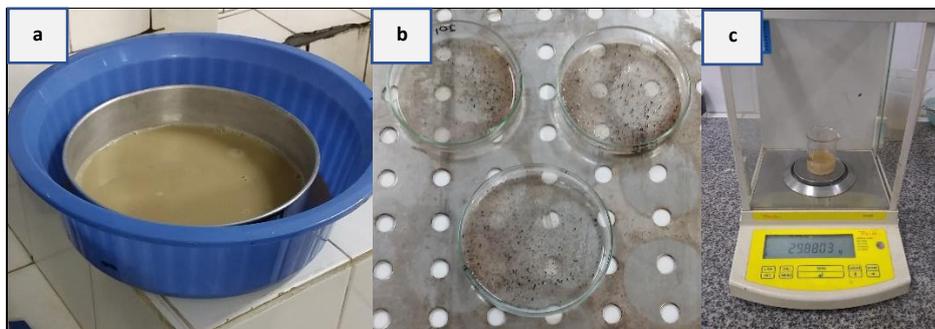


Foto: Gomes (2019).

5.8 Separação das frações de areia.

Areia Total: Passaram-se as amostras pela peneira de malha 0.053mm (figura-9a), em seguida as amostras foram armazenadas em proveta de 1000ml, para continuar o processo da granulometria para argila e silte. Lavou-se a areia retida na peneira com bastante água destilada, passou-se a areia retida na peneira para uma placa de petri (figura-9b), devidamente numerada: 1, 2 e 3. Colocou-se a areia para secar em estufa a 105°C, por 24 horas (figura-9c), na sequência retirou-se da estufa para esfriar em dessecador; em seguida pesou-se e anotou-se os valores da areia total.

Figura-9: Em (a), peneira 0,053 mm, em (b), placa de petri, em numerada contendo amostras e em (c), balança de precisão.

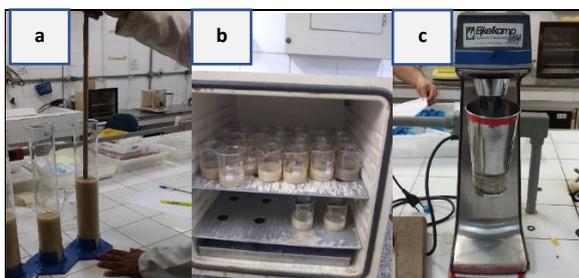


5.9 Areia Grossa: Após o termino do processo da areia total; usou-se novamente uma peneira de malha maior (0,212mm) para pesar o conteúdo de areia grossa retida na peneira e anotou-se os respectivos valores.

5.9.1 Areia Fina: Obteve-se o valor da areia fina por diferença de peso entre areia total e areia grossa.

6.0 Determinação da Argila: Após ter colocado a amostra na proveta de 1000ml e completar com água destilada o volume da proveta para 1000ml, realizou-se uma prova em branco: adicionou-se em proveta de 1000ml, 20ml do dispersante pirofosfato de sódio e completou-se com água destilada até chegar a 1000ml. Mediu-se a temperatura da prova em branco e anotou-se em seguida, agitaram-se todas as amostras 40 vezes com bastão de madeira (figura-10a), anotando-se a hora na bancada no final da agitação. Conferiu-se na tabela o tempo necessário para queda de 5cm de partículas de $20\mu\text{m}$. Introduziu-se a pipeta de 20ml na proveta até uma profundidade de 5cm, pipetou-se 20ml de cada amostra, incluindo a prova em branco. Transferiu-se para o béquer de 50ml e em seguida colocou-se para secar em estufa, a 105°C (figura-10b) por 24 horas. Passado esse tempo, colocou-se para esfriar em dessecador. Em seguida pesou-se e anotou-se os valores do béquer mais a argila, após isso lavou-se o béquer. Novamente, foi levado para a secagem na estufa a 105°C , em seguida colocou-se para esfriar em dessecador (figura-10c) e em seguida pesou o béquer vazio e anotou-se os valores.

Figura-10: Agitação de amostras com bastão de madeira em (a), em (b) estufas 105°C , e em (c), dessecador.



6.1 Determinação do silte: O silte foi determinado pela diferença entre argila e areia, as frações silte e argila realizaram-se usando o método da pipeta. Anotou-se a hora quando a sedimentação das frações de siltes finos e argila foram realizados, em seguida introduziu-se a pipeta de 100ml na proveta até uma profundidade de 10cm, pipetou-se 100ml de cada

amostra, incluindo a prova em branco. Transferiu-se a amostra pipetada (100 ml) para béquer de 250ml e colocou-se para secar em estufa a 105°C por 24 horas, retirou-se da estufa e esfriou-se em dessecador. Em seguida pesou-se o béquer mais a argila e o silte fino, os valores foram anotados, lavou-se o béquer e colocou-se para secar em estufa a 105°C, retirou-se o béquer da estufa para esfriar em dessecador, em seguida pesou-se o béquer vazio e anotou-se os respectivos valores.

6.2 Fração argila: Conferiu-se na tabela o tempo necessário para a queda de 10cm de partículas de 2 μ m e realizou-se todo procedimento acima indicado, para as frações de siltes finos e argila.

6.3 Silte Grosso: Passou-se o restante do material que ficou na proveta em peneira de 20 μ m e colocou-se em placa de petri numerada para secar em estufa a 105°C, durante 24 horas, em seguida esfriou-se em dessecador e pesaram-se as amostras e anotou-se os valor do silte grosso.

6.4 Cálculos

Cálculou-se os valores para %Silte, %Argila, %Areia Grossa e %Areia Fina. Para substrato areia grossa, latossolo amarelo e terra preta e matéria orgânica.

Onde:

%U= Porcentagem de Umidade

PU= Peso Úmido

PS = Peso Seco

MAG= Massa de areia grossa

MAF= Massa de areia fina

Todos os cálculos foram realizados no programa Excel, 2019.

Fase III

7.0 Biometria

Realizou-se a biometria dos 16 juvenis de *P. unifilis*, (CC), comprimento da carapaça, (LC), largura da carapaça, (CP) comprimento do plastrão, (LP), largura do plastrão, (G) peso (tabela-3). Usou-se equipamentos graduados em (mm) e balança de precisão digital, graduada em 1000 gramas.

Tabela-3: Valores da biometria de filhotes de *P. unifilis*, no Centro de estudos de Quelônios Amazonia, em 26/09/2019

N	CC(cm)	LC(cm)	CP(cm)	LC(cm)	Peso/Média(g)	Idade/Meses
1	8,2	7,7	7,0	3,0	39,05	11
2	8,3	7,3	6,9	3,3	39,05	11
3	8,2	7,2	7,0	3,6	36,05	11
4	8,4	7,3	7,0	3,6	38,05	11
5	8,2	7,5	7,0	3,7	39,05	11
6	8,4	7,7	7,0	3,6	38,05	11
7	8,2	7,5	6,5	3,6	39,05	11
8	8,3	7,4	6,4	3,7	38,05	11
9	8,4	7,3	6,5	3,6	38,06	11
10	8,4	6,4	7,0	3,6	39,05	11
11	8,3	7,3	7,0	3,6	38,05	11
12	8,3	7,3	6,3	3,7	39,05	11
13	8,3	7,7	6,9	3,7	39,05	11
14	8,2	7,4	6,5	3,7	39,05	11
15	8,3	6,9	6,7	3,6	38,05	11
16	8,2	7,4	6,3	3,6	39,05	11

7.1 Cálculos das Substâncias

As concentrações das substâncias (Cetamina/Pentobarbital) foram determinadas através de cálculos matemáticos. Considerando a média de peso dos animais, arredondou-se o resultado para mais, na intenção de não ocorrer subdosagem e acarretar sofrimentos durante o procedimento. Peso para cálculo de 40 gramas: Cetamina - 2,2mg/kg, 0,040ml por animal; Pentobarbital - 0,040ml por animal.

7.3 Materiais e procedimentos

No procedimento utilizou-se os seguintes materiais: seringa de insulina 3ml com agulha, anestésico: (Cetamina), anestésico (Pentobarbital), luvas de procedimento cirúrgico e jaleco. Primeira dose: sedação com a medicação Cetamina (anestésico dissociativo), na quantidade de 100ml/kg por via intramuscular (IM) (figura-11a). Deu-se um intervalo de 10 minutos para a segunda dose. Segunda dose: aplicação da medicação Pentobarbital (barbitúrico, anticonvulsivante), na dose de 1ml/kg por via intracelomática (IC) (figura-11b), observou-se por 30 minutos para verificarmos o óbito de cada animal.

Figura-11: Em (a), aplicação de Cetamina, em (b), aplicação do Petobarbital, em Juvenil *P. unifilis* (tracajá)

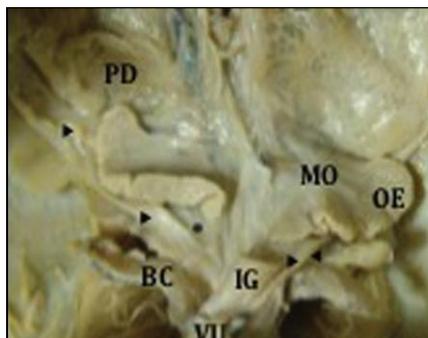


Foto: Tinoco, 2019.

7,4 Identificação sexual

Tirou-se o plastrão de todos os indivíduos de *P. unifilis*, fixou-se os espécimes por imersão em solução de formol a 10%. Os órgãos genitais das fêmeas foram dissecados sob lupa circular de luz branca e estereomicroscópio, respectivamente, para evidenciação de suas particularidades da anatomia externa (forma e sintopia dos diferentes segmentos) e interna (padrão de mucosa do oviduto e cloaca). Os espécimes foram agrupados em fêmeas jovens, sem ovos, de acordo com as características macroscópicas dos órgãos genitais, a documentação dos achados foi realizada por meio de câmera digital e estereomicroscópio, do Laboratório da Empresa Brasileira e Agropecuária (EMBRAPA), Manaus-AM.

Figura-12: Órgãos genitais femininos de *P. unifilis* jovem. Pulmão direito (PD), mesovário (MO), ovário esquerdo (OE), (BC), intestino grosso (IG), vesícula urinária (VU).



8.0 RESULTADO DISCUSSÃO

8.1 Perda de ninhos por inundação natural

Verificou-se a noção morfoclimática (morfo=forma e clima=conjunto de condições atmosférica) de *P. unifilis* em relação à distância, altura em relação ao nível da água e incidência solar em 100% dos ninhos encontrados no Lago do Puraquequara e comunidade Terra Nova, em setembro e outubro 2018, no início da vazante, a 1,30m (um metro e trinta) da cota máxima de 2018, conforme as medidas mensuradas durante a coletas dos ovos, no mesmo ano, conforme abaixo (tabela-4).

Tabela-4: Dados dos ninhos de *P. unifilis*, encontrados no Lago do Puraquequara e Comunidade Terra Nova, em 02/09/18, 07/09/18 e 10/09/18 respectivamente

Ninho	Distância (m)	Altura (m)	Incidência Solar(h)
1	2,50	1,15	10:00-14:00
2	7,60	0,47	09:00-15:00
3	7,00	0,80	09:30-15:00

Comparou-se os dados da Tabela-5 com os dados de Literatura, em relação aos períodos de nidificação de *P. unifilis*, com os dados das cotas do Rio Amazonas, dos últimos 8 anos (Tabela-5). Não se registrou perda de ninhos por inundação natural nas áreas de coleta nas margens do Rio Amazonas.

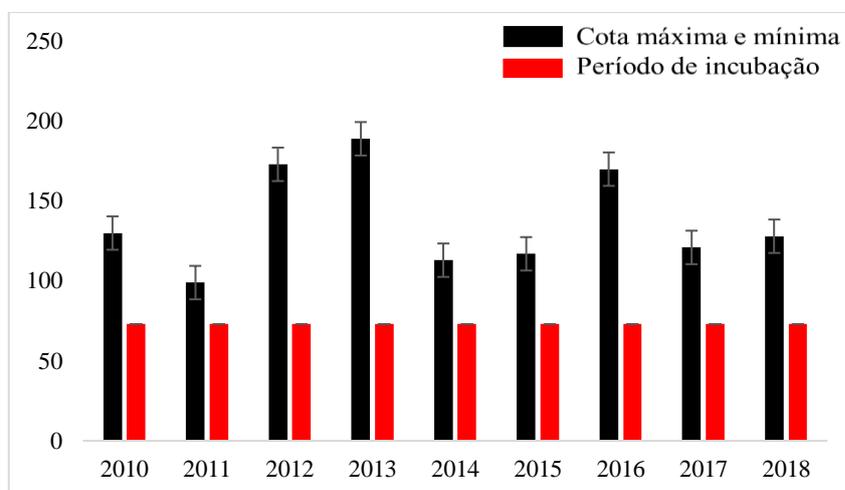
Tabela-5: Valores de cota máxima e mínima, em diferentes datas ao longo de 9 anos.

Ano	C. Máxima	Data	C. Mínima	Data
2010	2796	11-Jun	1663	24-Out
2011	2862	28-Jun	1676	10-Out
2012	2997	29-Mai	1596	27-Nov
2013	2933	14-Jun	1883	01-Jan
2014	2950	03-Jul	1990	28-Out
2015	2966	29-Jun	1592	28-Out
2016	2719	15-Jun	1720	13-Dez
2017	2900	03-Jun	1734	06-Out
2018	2883	23-Jun	1704	05-Nov

Fonte: Dados fornecidos (SERVIÇO GEOLÓGICO DO BRASIL, 2019)

Com base nos dados consultados no relatório do Serviço Geológico do Brasil (2019), verificou-se que a seleção dos locais de ninhos de *P. unifilis* foram relativamente seguros (figura-15), quando comparados ao período de incubação, 45-73, média = 59 dias. Esses valores podem variar de acordo com a textura do solo, (VOGT, 2008). Portanto, quando relacionamos o período máximo de incubação (N=73) com o total de dias (N=73), durante cota máxima e mínima do ano de 2010, ainda assim vemos sucesso de eclosão, pois a diferença das cotas máxima e mínima é referente a descida das águas do rio, também chamada pelos ribeirinhos de vazante.

Figura-13: Projeção gráfica, expressando o total (em dias) da relação entre cota máxima e mínima nos de 2010 a 2018 e o total em dias do período de incubação de *P. unifilis*.



8. 2 Taxa de Eclosão

Objetivo II

Nidificação da tartaruga (*Podocnemis unifilis*) em diferentes substratos do Lago Puraquequara, margem esquerda do Rio Amazonas

Resumo aceito na Tropical Diversity (2019) 1(Suplemento): 2-62. ISSN: 2596-2388.

Título

Nidificação da tartaruga (*Podocnemis unifilis*) em diferentes substratos do Lago Puraquequara, margem esquerda do Rio Amazonas

Resumo

Nidificação da tartaruga (*Podocnemis unifilis*)

Autores

Antônio Luiz Vieira de Oliveira¹; Richard Cal Vogt² & Cristina Motta Buhnheim³

¹Universidade do Estado do Amazonas (UEA); graduando em Ciências Biológicas, Manaus-AM. E-mail: alvo.bio@uea.edu.br

² Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), Centro de Estudos de Quelônios da Amazônia, Manaus-AM. E-mail: vogt@inpa.gov.br

³ Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Laboratório Paulo Buhnheim, Manaus-AM. E-mail: cmb.bio@uea.edu.br

Resumo

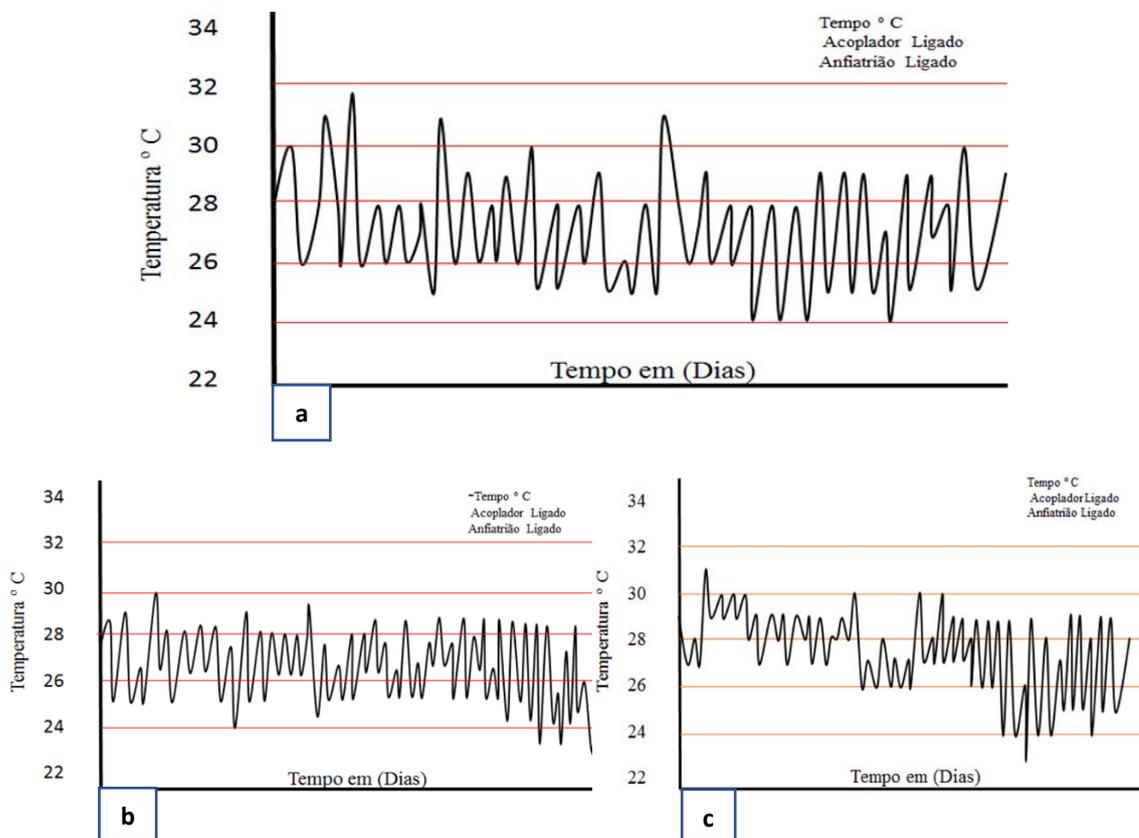
Podocnemis unifilis é uma das espécies de tartarugas de água doce, de tamanho médio, com determinação sexual influenciada por fatores externos. Faixas de temperaturas baixas geram machos, temperaturas altas geram gêmeas. O aquecimento global vem gerando problemas sérios na reprodução de quelônios. Assim, nosso objetivo foi de verificar as diferenças na nidificação de *P. unifilis* em diferentes substratos do Lago Puraquequara, localizado na margem esquerda do Rio Amazonas, Manaus (AM). Três ninhos de *P. unifilis* foram encontrados nos dias 2, 5 e 15 de setembro de 2018 em diferentes substratos. O ninho 1 na areia grossa, com 22 ovos; o ninho 2 em lato-solo amarelo, com 28 ovos; e o ninho 3 na terra preta e matéria orgânica, com 18 ovos. Os ovos foram retirados dos ninhos e colocados dentro de caixas de isopor de 20x30x15cm³ junto com o substrato de origem e transportados até um local seguro, onde foram transplantados com os mesmos substratos. Colocou-se dentro de cada ninho um data-logger para armazenamento da temperatura durante o período de incubação, que durou 73 dias. Verificou-se no ninho a composição granulométrica: Argila=2,96 %; Silte=0,79% e Areia= 96,25%, com sucesso de eclosão de 57%; no ninho 2: Argila=17,73%; Silte=11,63% e Areia= 70,64%, sucesso de eclosão 0,0%; e ninho 3: Argila=90,43%; Silte=4,46%; Areia=54,61, sucesso de eclosão 0,0%. Nossos resultados indicaram que a granulometria tem forte influência na reprodução de *P. unifilis*, sendo que solos porosos retém menos água e projetam faixas de temperaturas entre 25°C a 37°C, garantido maior sucesso de eclosão e desenvolvimento gonadal do embrião.

Palavras-chave: Granulometria, Temperatura, Sexo

8. 2 Taxa de Eclosão

A taxa de eclosão deu-se após 73 dias, em solo poroso (areia) nas faixas de temperaturas média $\pm 27,169$ e DP $\pm 1,978$ (figura-14a), enquanto que no segundo substrato, (Lato-solo), não houve sucesso de eclosão, com temperatura média $\pm 27,236$ e DP $\pm 1,707$ (figura-14b), o mesmo ocorreu no terceiro substrato (matéria orgânica e terra preta), com temperatura média $\pm 27,410$ e DP $\pm 1,778$ (figura-14c).

Figura-14a Temperatura de incubação 73 (setenta e três) dias em substrato poroso. Em 14b, temperatura de incubação substrato lato-solo e em 14c, temperatura de incubação substrato matéria orgânica e terra preta.



Fonte: Oliveira 2018.

De acordo com Vogt (2008), o sucesso de eclosão depende de algumas variáveis como: profundidade do ninho, incidência solar, cobertura vegetal, e a dinâmica das moléculas do substrato. Nossos achados corroboram com o relato do teórico em relação ao sucesso de eclosão em três tipos de substratos (tabela-6).

Tabela-6: Relação Sucesso de eclosão por substrato.

Substrato	Silte (%)	Areia (%)	Argila (%)	S. Eclosão (%)
Lato-solo	11,63	70,64	17,73	-
Areia Grossa	0,79	96,25	2,96	57
Terra preta M. O	4,46	54,61	40,93	-

8. 3 Razão Sexual

A razão sexual de *P. unifilis* foi de 85,7%, composto exclusivamente por fêmeas em substrato poroso (areia grossa), a proporção 1/7 aqui referida, diz respeito ao total de juvenis machos (N=2) dividido pelo total de juvenis fêmeas (N=14).

Os órgãos genitais de fêmeas jovens de *P. unifilis*, são constituídos por pares de ovários e ovidutos que desembocam, juntamente com os ureteres, na parede dorsolateral da cloaca por meio de evidente projeção na mucosa cloacal denominada de papila urogenital. Dentre as fêmeas jovens, cinco (2, 3, 4, 5 e 7) apresentam órgãos genitais de tamanhos semelhantes e duas outras (1 e 9) maior tamanho, quando observado à proporção que esses órgãos ocupam na cavidade celomática. As demais características são semelhantes entre os 9 espécimes.

Os ovários são alongados craniocaudalmente, sendo a extremidade cranial mais larga e a caudal afunilada localizada mais próxima à linha mediana, posicionando o maior eixo dos ovários de forma oblíqua. Eles ocupam a superfície ventral dos respectivos rins (e seu revestimento celomático), fazendo sintopia aos pulmões (cranialmente), ao oviduto (lateralmente) e ventralmente ao jejuno e cólon descendente, respectivamente, para os ovários direito e esquerdo, a maior parte da superfície externa desse órgão tem aspecto rugoso devido a presença de folículos ovarianos de dimensões semelhantes, constituídos por conteúdo e invólucro esbranquiçado. A secção longitudinal do ovário, evidencia uma pequena área em sua margem medial, de aspecto esponjoso, a medula ovariana.

9.0 DISCUSSÃO

9.1 Perda de ninhos por Inundação natural

O presente trabalho corrobora com os achados de Pantoja (2007), na REBIO, Abufari no médio Purus, Amazonas - Brasil, que relatam perda de ninhos de *P. unifilis*, em uma proporção 0,0% no total. O mesmo não ocorreu com os achados de Vismara (2010), na REBIO, Trombeta, Para – Brasil, em que relata perda de ninhos por inundação natural em proporção de 40% também para *P. unifilis*, algo similar relatado por Vogt (2008), que encontrou de 15-40% de perda de ninhos por inundações naturais no Rio Pacaya (Peru).

9.2 Taxa de Eclosão

Na física, o conceito de temperatura é grau de agitação das moléculas, mas não apenas a temperatura é responsável pelo o sucesso de eclosão, assim como a Granulometria de cada substrato, que tem influência significativa na eclosão dos filhotes de *P. unifilis*.

O solo argiloso tem forte retenção de água, acumulam carga negativa em suas superfícies que atraem íons positivos carregados, denominados *cátions* (ECONOMIA DA NATUREZA, 2012). Assim sendo, conforme a análise feita em laboratório, observou-se a concentração de argila, em substrato lato-solo, de 17,73% e 40,93% substrato terra preta e matéria orgânica (tabela-6). Efetivamente, ainda que a *P. unifilis*, seja uma espécie de quelônios generalista, que se ajusta em diferentes habitats ecológicos, observa-se a sobrevivência de fêmeas adultas, tolerando-se a faixa de Ph e salinidade em diferentes rios na Amazônia, mas o mesmo não ocorre na reprodução, visto que o sucesso de eclosão ocorreu apenas em um substrato (solo poroso), enquanto nos demais substratos a perda de prole foi de 100%.

Segundo Hewavisenthi e Parmenter (2000), o sucesso da eclosão independe da umidade. Em areias muito secas ocorre a desidratação do embrião, reduzindo o sucesso da eclosão, por outro lado níveis muito elevados de umidade podem reduzir o sucesso da eclosão, possivelmente porque as trocas gasosas são prejudicadas no ambiente saturado (PLUMMER, 1976). A duração da incubação é fortemente influenciada pelo ambiente gasoso e quanto maior as trocas gasosas, menor a duração da incubação e maior o sucesso da eclosão (ACKERMAN, 1980, 1981).

Nessa perspectiva, o consumo de O₂ é maior sob maiores temperaturas (BOOTH, 1999, 2000). Alterações nas concentrações de O₂ e CO₂ influenciaram na duração da

incubação, o sucesso da eclosão e a determinação sexual de *T. scripta*. Baixas concentrações de O₂ aumentaram substancialmente a mortalidade dos embriões (ETCHBERGER *et al.*, 1991).

A pressão parcial de O₂ e CO₂ nos ninhos naturais é determinada pela condutância de gás da areia, geometria e estrutura do ninho (ACKERMAN, 1980). O microambiente da câmara dos ovos é fortemente dependente do substrato no qual os ovos são incubados e a presença de água poderá afetar as trocas respiratórias dos ovos (ACKERMAN *et al.*, 1985). O sucesso da eclosão e a taxa de desenvolvimento correlacionaram-se positivamente com a condutância do meio, apontando para a importância que as características do local de desova selecionados por fêmeas do gênero Podocnemididae.

9.3 Razão Sexual

Os diferentes substratos usados neste estudo foram os mesmos encontrados em vida livre, selecionado pela fêmea adulta de *P. unifilis*, para assim simularmos melhor o ambiente natural. A razão sexual dos filhotes de *P. unifilis* foi determinada pelas variáveis que afetam este processo. Estes resultados indicam que a combinação de características do ambiente e variações climáticas anuais podem influenciar a determinação do sexo em um dado ano (SOUZA & VOGT, 1994; FERREIRA JÚNIOR & CASTRO, 2003).

Alguns fatores, posteriormente, descritos afetam a temperatura dos ninhos e, conseqüentemente, a razão sexual de espécies com o sexo depende das características do ambiente, como: o comportamento materno, a profundidade do ninho, o sombreamento, o tipo de sedimento, a precipitação, a data da postura e mudanças sazonais da temperatura (BULL *et al.*, 1982; VOGT & FLORES-VILLELA, 1986; VALENZUELA *et al.*, 1997; PEZZUTI & VOGT, 1999; VALENZUELA, 2001; GODLEY *et al.*, 2002; HOUGHTON *et al.*, 2007; PIGNATI, 2011).

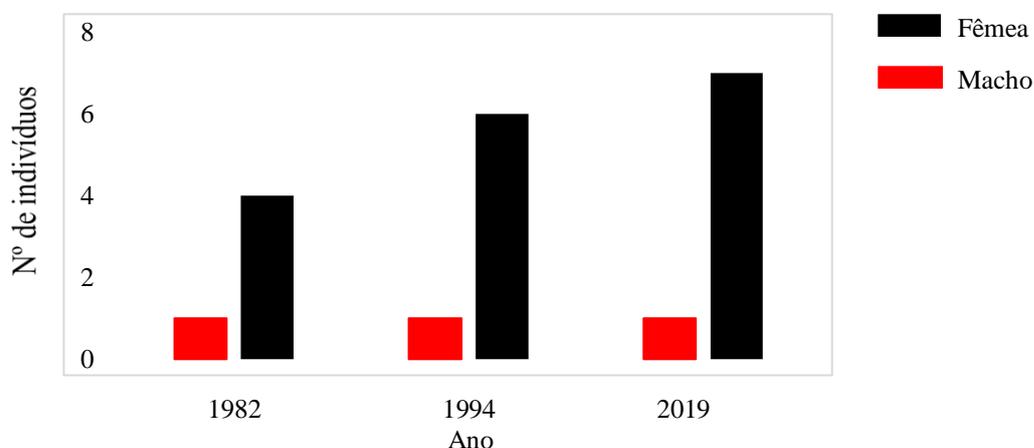
Desta forma, nossos resultados corroboram com as relações entre granulometria de sedimento, temperatura de incubação e razão sexual, sugerida por diversos autores (MORTIMER, 1990; SOUZA & VOGT, 1994; NARO-MACIEL *et al.*, 1999; MALVASIO *et al.*, 2002a; FERREIRA JUNIOR, 2003a; FÉLIX-SILVA, 2009). Em nosso estudo, todos os ninhos ficaram expostos a luz solar por 6 horas e a temperaturas dentro dos ninhos nos 10 primeiros dias não ultrapassaram 28°C no substrato areia grossa, 30°C no substrato Lato-solo e 31°C substrato matéria orgânica e terra preta.

Em um cenário natural, onde as temperaturas oscilam diariamente, a temperatura média de incubação não é um bom fator de predição para determinação do sexo, conforme sugerido por alguns autores (GEORGES et al., 1994; VALENZUELA et al., 1997; VALENZUELA, 2001). Além do mais, a proporção entre os sexos é influenciada pelas oscilações na temperatura, já que a taxa de desenvolvimento embrionário é diretamente correlacionada com a temperatura de incubação (BULL e VOGT, 1981; MROSOVSKY et al., 1984, 2009; MARCOVALDI et al., 1997). Nessa perspectiva, a alta porcentagem observada de fêmeas pode levar a um desequilíbrio na razão sexual, portanto, sombreamentos de ninhos é recomendado para aumentar o número de machos produzidos, conforme relatado por Alho *et al.* (1984) e VALENZUELA (2001).

Como vimos, novos estudos sobre a estrutura populacional de *P. unifilis*, devem ser conduzidos, principalmente para avaliar a razão sexual das espécies. Além disso, os resultados obtidos no presente estudo apontam para a necessidade de desenvolver novas alternativas para reduzir a temperatura do ninho e aumentar o sucesso de incubação de ninhos em áreas antropizadas.

Nas últimas décadas, as alterações climáticas causaram impactos nos sistemas natural de todos os continentes e oceanos e a prova do impacto das alterações climáticas é mais forte e mais abrangente para os sistemas naturais (IPPC, 2017), fato expressivo nos trabalhos com determinação sexual de *P. unifilis*, durante 37 anos (figura-15).

Figura-15: Demonstrando o desequilíbrio na população de *P. unifilis* aos longos dos anos com os trabalhos de VOGT, 1982 Rio Trombeta Para (Brasil), VOGT E SOUZA, 1994 Rio Guaporé Rondônia (Brasil) e por último o presente estudo 2019 dados não publicado.



10 Conclusões

Em virtude da amostra ser relativamente pequena, comparada aos trabalhos da Literatura, deixa-se aberto para futuros estudos com amostras superiores. Justifica-se o volume amostral pequeno por alguns motivos: falta de recursos, área antropizada e também à falta de tempo, em decorrência de outras atribuições e compromissos acadêmicos primordiais para a graduação.

1. A não perda de ninhos por inundações naturais, em áreas antropizadas está relacionado ao baixo número de indivíduos por metro quadrado de superfície;

2. A Granulometria tem forte influência na reprodução de *P. unifilis*, sendo que solos porosos retém menos água e projetam faixas de temperaturas entre 25°C a 37°C, conferindo maior sucesso de eclosão e desenvolvimento gonadal do embrião.

3. Populações de *P. unifilis*, em lagos e baías, tende a declinar por conta da perda de prole expressiva em substratos como Lato-solo amarelo e Matéria Orgânica úmida.

4. Taxas elevadas de fêmeas, tendem a desequilibrar as populações de quelônios no futuro.

11. Referências Bibliográficas

- ACKERMAN, R.A. **Physiological and ecological aspects of gas exchange by sea turtle eggs.** *Am. Zool.*, 1980(5): 575-583.
- ACKERMAN, R.A.; SEAGRAVE, R.C.; DMI'EL.; AR, A. **Water and heat exchange between parchment-shelled reptile eggs and their surroundings.** *Copeia*, 1985(3): 703-711.
- _____. 1980b. **Physiological and ecological aspects of gas exchange by sea turtle eggs.** *Am. Zool.*, 1980(5): 575-583.
- ACKERMAN, R.A. 1981. **Growth and gas exchange of embryonic sea turtles (*Chelonia*, *Caretta*).** *Copeia*, 1981(4): 757-765.
- ALHO, C. J. R.; PÁDUA, L. F. M. 1982. **Reproductive parameters and behavior of the Amazon turtle *Podocnemis expansa* (Testudinata, Pelomedusidae) in Brazil.** *Canadian Journal of Zoology*, 60: 97-103.
- ALHO, C.J.R.; DANNI, T.M.S.; PÁDUA, L.F.M. 1984. **Influência da temperatura de incubação na determinação do sexo da tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, *Testudinata: Pelomedusidae*).** *Rev. Bras. Biol.*, 44(3): 305-311.
- _____. 1984b. **Influência da temperatura de incubação na determinação do sexo da tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, *Testudinata: Pelomedusidae*).** *Rev. Bras. Biol.*, 44(3): 305-311.
- _____. 1984c. **Influência da temperatura de incubação na determinação do sexo da tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, *Testudinata: Pelomedusidae*).** *Rev. Bras. Biol.*, 44(3): 305-311.
- BALENSIEFER D. C. 2003. **Dieta de *Podocnemis unifilis* (Testudines, Pelomedusidae) no período de seca numa Várzea do Médio Solimões, Amazonas.** Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas. Manaus, Amazonas, Brasil.
- BINCKLEY, C.A.; SPOTILA, J.R.; WILSON, K.S.; PALADINO, F.V. 1998. **Sex determination and sex ratios of Pacific leatherback turtles, *Dermochelys coriacea*.** *Copeia*, 1998(2): 291-300.
- BULL, J.J.; VOGT, R.C. 1979. **Temperature-dependent sex determination in turtles.** *Science*, 206(7): 1186-1188.
- BULL, J.J. 1980. **Sex determination in reptiles.** *Q. Rev. Biol.*, 53(1): 3-20.
- BULL, J.J.; LEGLER, J.M.; VOGTT, R.C. 1985. **Non-temperature dependent sex determination in two suborders of turtles.** *Copeia*, 1985(3): 784-786.
- _____. 1979b. **Temperature-dependent sex determination in turtles.** *Science*, 206(7): 1186-1188.
- _____. 1980b. **Sex determination in reptiles.** *Q. Rev. Biol.*, 53(1): 3-20

BULL, J.J.; VOGT, R.C. 1981. **Temperature-sensitive periods of sex determination in Emydid turtles.** *J. Exp. Zool.*, 218: 435-440.

BULL, J.J.; VOGT, R.C.; BULMER, M.G. 1982. **Heritability of sex ratio in turtles with environmental sex determination.** *Evolution*, 36(2): 333-341.

BULL, J.J.; VOGT, R.C. 1981. **Temperature-sensitive periods of sex determination in Emydid turtles.** *J. Exp. Zool.*, 218: 435-440

_____. 1979c. **Temperature-dependent sex determination in turtles.** *Science*, 206(7): 1186-1188.

_____. 1980b. **Sex determination in reptiles.** *Q. Rev. Biol.*, 53(1): 3-20.

CHARNIER, M. 1966. **Action de la temperature sur la sex-ratio chez l'embryon d'*Agama agama* (Agamidae, Lacertilien).** *Soc. Biol. Ouest Afric.*, 160: 620-622.

CHEVALIER, J.; GODFREY, M.H.; GIRONDOT, M. 1999. **Significant difference of temperature-dependent sex determination between French Guiana (Atlantic) and Playa Grande (Costa Rica, Pacific) leatherbacks (*Dermochelys coriacea*).** *Ann. Sci. Nat. Zool.*, 20: 147-152.

ELY, I. 2008. *Área de vida, Movimento e Hábitat utilizado por Trachemys adiutrix Vanzolini, 1995 (Testudines, Emydidae) na região dos Pequenos Lençóis Maranhenses.* Dissertação de mestrado, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

ETCHBERGER, C. R.; PHILLIPS, J.B.; EWERT, M.A.; NELSON, C.E.; PRANGE, H.D. 1991. **Effects of oxygen concentration and clutch on sex determination and physiology in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta*).** *J. Exp. Zool.*, 258(3): 394-403.

_____. 1991b **Effects of oxygen concentration and clutch on sex determination and physiology in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta*).** *J. Exp. Zool.*, 258(3): 394-403.

EWERT, M.A.; ETCHEBERGER, C.R.; NELSON, C.E. 2004. **Turtle sex-determination modes and TSD patterns, and some TSD patterns correlates.** *In: Valenzuela, N.; Lance, V.A. Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates* (Eds). Smithsonian Books, Washington. p. 21-32.

_____. 2004b. **Turtle sex-determination modes and TSD patterns, and some TSD patterns correlates.** *In: Valenzuela, N.; Lance, V.A. Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates* (Eds). Smithsonian Books, Washington. p. 21-32.

EWERT, M.A.; ETCHEBERGER, C.R.; NELSON, 2004. **Turtle sex-determination modes and TSD patterns, and some TSD patterns correlates.** *In: Valenzuela, N.; Lance, V.A. Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates* (Eds). Smithsonian Books, Washington. p. 21-32.

_____. 2004b. **Turtle sex-determination modes and TSD patterns, and some TSD patterns correlates.** *In: Valenzuela, N.; Lance, V.A. Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates* (Eds). Smithsonian Books, Washington. p. 21-32.

ESCALONA, T.; FA, J. E. Survival of nests of the terecay turtle (*Podocnemis unifilis*) in the Nichare-Tawadu Rivers, Venezuela. *J. Zool., Lond.* 244, 303-312, 1998.

FACHIN-TERAN, A.; VOGT, R. C.; GOMES, M. F. S. 1995. Food habits of na assemblage of five species of turtles in the Rio Guapore, Rondonia, Brazil. *Journal of Herpetology*, 29(4): 536-547.

FACHINF-TERAN, A.; VON MULHER. 2006. Período de Desova e Sucesso Reprodutivo do Tracajá *Podocnemis unifilis* TROSCHEL 1848 (Testudines: Podocnemididae) na Várzea da RDSM - Médio Solimões, Brasil. *Uakari*, 2: 63- 75.

FÉLIX-SILVA, D. 2004. **Ecologia Reprodutiva do cabeçudo (*Peltocephalus dumerilianus*) (Testudines: Podocnemididae) no Parque Nacional do Jaú, 7 Amazonas – Brasil.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

FÉLIX-SILVA, D.; PEZZUTI, J.C.B.; PANTOJA-LIMA, J.; MONJELÓ, L.A.S. 2003. **Reproduction of the Cabeçudo, *Peltocephalus dumerilianus* at the Jaú National Park, Amazonas, Brazil.** Joint Meeting of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH), the American Elasmobranch Society (AES), the Herpetologists League (HL), and the Society for the Study of Amphibians and Reptiles. June 26 – July 1, Manaus, Brazil

FERREIRA JUNIOR, P. D.; CASTRO, P. T. A. 2010. Nesting ecology of *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) and *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines, Podocnemididae) in the Javaés River, Brazil. *Braz. J. Biol.* [online], v. 70, n.1, p. 8594

FERREIRA JUNIOR, P. D. 2003. **Influência dos processos sedimentológicos e geomorfológicos na escolha das áreas de nidificação de *Podocnemis expansa* (tartarugada-amazônia) e *Podocnemis unifilis* (tracajá), na bacia do rio Araguaia.** 296f. Tese de Doutorado em Ciências Naturais, Universidade Federal de Ouro Preto.

_____. 2010b. Nesting ecology of *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) and *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines, Podocnemididae) in the Javaés River, Brazil. *Braz. J. Biol.* [online], v. 70, n.1, p. 85-94

_____. 2003b. **Geological control of *Podocnemis expansa* and *Podocnemis unifilis* nesting areas in Rio Javaés, Bananal Island, Brazil.** *Acta Amazonica*, vol. 33, no. 3, p. 445-468.

40. FERREIRA JR., PH. AND CASTRO, PTA., 2003. **Geological control of *Podocnemis expansa* and *Podocnemis unifilis* nesting areas in Rio Javaés, Bananal Island, Brazil.** *Acta Amazonica*, vol. 33, no. 3, p. 445-468.

FRANCO, M.T.O. 1994. **Influência da temperatura de incubação na determinação sexual de *Geochelone carbonaria* (Spix, 1824) (Reptilia, Testudines, Testudinidae).** Dissertação de Mestrado, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GODLEY, B.J.; BRODERICK, A.C.; HAYS, G.C. 2002. Temperature-dependent sex determination of Ascension Island green turtles. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 226: 115-124.

_____. 2002b. **Temperature-dependent sex determination of Ascension Island green turtles.** *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 226: 115-124

GODFREY, M.H.; D' AMATO, A.F; MARCOVALDI, M.; MROSOVSKY, N. 1999. **Pivotal temperature and predicted sex ratios for hatchling hawksbill turtles from Brazil.** *Can. J. Zool.*, 74(9): 1465-1473.

GEORGES, A.; LIMPUS, C.; STOUTJESDIJK, R. 1994. **Hatchling sex in the marine turtle *Caretta caretta* is determined by proportion of development at a temperature, not daily duration of exposure.** *J. Exp. Zool.*, 270(3): 432-444.

HEWASISENTHI, S.; PARMENTER, J. 2000. **Hydric environment and sex determination in the flatback turtle (*Natator depressus Garman*) (Chelonia: Cheloniidae).** *Aust. J. Zool.*, 48(6): 653-659.

_____. 2000b. **Hydric environment and sex determination in the flatback turtle (*Natator depressus Garman*) (Chelonia: Cheloniidae).** *Aust. J. Zool.*, 48(6): 653-659.

HOUGHTON et al, 2007. **Comparison of the effects of salmeterol/fluticasone propionate with fluticasone propionate on airway physiology in adults with mild persistent asthma,** *Respiratory Research* , 8:52 doi:10.1186/1465-9921-8-52.

ICMBIO, 2014 Diagnóstico da Fauna – Avaliação científica do risco de extinção da fauna brasileira. Coordenação de Avaliação do Estado de Conservação da Biodiversidade – Coabio /CGESP/ ICMBio. Brasília: ICMBio, 40p. (Biodiversidade Brasileira)

IPCC, 2017. **Intergovernmental Panel on Climate Change. eds. *Climate change*** The physical science basis. Contribution of working group I

IPCC, 2014. **Intergovernmental Panel on Climate Change. eds. *Climate change*** The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 996p.

_____. 2014b **Intergovernmental Panel on Climate Change. eds. *Climate change*** The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 996p.

_____. 2014c. **Intergovernmental Panel on Climate Change. Eds.2 *Climate change* :** The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 996p

JANZEN, F. J.; KRENZ, J.G. 2004. **Phylogenetics: which was first, TSD or GSD? In: Valenzuela, N.; Lance, V.A. *Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates* (Eds). Smithsonian Books, Washington. p. 121-130.**

JOHNS, A. D. **Continuing problems for Amazon river turtles.** *Oryx*, 21(1):25-28, 1987.

MITTERMEIER, R. A. 1978. **South America's river turtles: saving them by use.** *Oryx*, 14(3):222-230

MROSOVSKY, N.; DUTTON, P.H.; WHITMORE, C.P. 1984. **Sex ratio of two species of sea turtle nesting in Suriname.** *Can. J. Zool.*, 62(11): 2227-2239.

MARCOVALDI, M.A.; GODFREY, M.H.; MROSOVSKY, 1997. **Estimating sex ratios of loggerhead turtles in Brazil from pivotal incubation durations.** *Can. J. Zool.*, 75: 755-770.

MORTIMER, J.A. 1990. **The influence of beach sand characteristics on the nesting behavior and clutch survival of green turtle (*Chelonia mydas*).** *Copeia*, 1990: 802-817.

MALVASIO, A., SOUZA, A.M., FERREIRA JUNIOR, P. D., REIS, E. S., SAMPAIO, F. A. A. 2000. **Temperatura de incubação dos ovos e granulometria dos sedimentos das covas relacionadas à determinação sexual em *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) e *P. unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines, Pelomedusidae).** *Publicações Avulsas do Instituto Pau Brasil de História Natural*. São Paulo, 5(1): 11-25.

_____. 1984b. **Validation of incubation duration as an index of the sex ratio of hatchling sea turtles.** *Canadian Journal of Zoology*, vol. 77, no. 5, p. 831- 835.

MROSOVSKY, N.; YNTEMA, C.L, 1982. **Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices.** *Biol. Conserv.*, 18: 271-280.

_____. 1982b. **Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices.** *Biol. Conserv.*, 18: 271-280.

_____. 1984b. **Sex ratio of two species of sea turtle nesting in Suriname.** *Can. J. Zool.*, 62(11): 2227-2239.

_____. 1997b. **Estimating sex ratios of loggerhead turtles in Brazil from pivotal incubation durations.** *Canadian Journal of Zoology* 75:755-770.

_____. 1997c. **Estimating sex ratios of loggerhead turtles in Brazil from pivotal incubation durations.** *Can. J. Zool.*, 75: 755-770.

MROSOVSKY, N.; BASS, A.; CORLISS, L. A.; RICHARDSON, J. I. RICHARDSON, T.H. 1999. **Pivotal and beach temperatures for hawksbill turtles nesting in Antigua.** *Can. J. Zool.*, 70(10): 1920-1925.

MROSOVSKY, N.; YNTEMA, C.L. 1982. **Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices.** *Biol. Conserv.*, 18: 271-280.36

NARO-MACIEL, E.; MROSOVSKY, N.; MARCOVALDI, M.A. 1999. **Thermal profiles of sea turtle hatcheries and nesting areas at Praia do Forte, Brazil.** *Chel. Conserv. Biol.*, 3(3): 407-413.

_____. 1999b. **Thermal profiles of sea turtle hatcheries and nesting areas at Praia do Forte, Brazil.** *Chel. Conserv. Biol.*, 3(3): 407-413.

_____. 1999c. **Thermal profiles of sea turtle hatcheries and nesting areas at Praia do Forte, Brazil.** *Chel. Conserv. Biol.*, 3(3): 407-413.

PANTOJA-LIMA, J.,PEZZUTI, J.C.B., TEIXEIRA, A.S., FÉLIX-SILVA, D., REBÊLO, G.H., MONJELÓ, L.A.S., KEMENES, A. 2009. **Seleção de locais de desova e**

sobrevivência de ninhos de quelônios *Podocnemis* no baixo Rio Purus, Amazonas, Brasil. Revista Colombiana de Ciencia Animal 1:37-59.

PEZZUTI, J.C.B., VOGT, R. 1999. **Nesting ecology of *Podocnemis sextuberculata* (Testudines, Pelomedusidae) in the Japurá River, Amazonas, Brazil.** Chelonian Conservation Biology 3:419-424.

PEZZUTI, J. C. B.; VOGT, R. C.; KEMENES, A.; FÉLIX-SILVA, D.; SALVESTRINI, F.; PANTOJA-LIMA, J. 2000. **Nesting ecology of pelomedusid turtles in the Purus River, Amazonas, Brazil.** P. 294-294. In: Annual meeting American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH), the American Elasmobranch Society (AES), the Herpetologists League (HL), and the Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, B. C. S.

_____. 1996c. **Temperature variation and sex determination in reptiles.** *BioEssays*, 18(1): 19-26.

PIEAU, C. 1971. **Sur la proportion sexuelle chez les embryons de deux chéloniens (*Testudo graeca* L. et *Emys orbicularis* L.) issus d'oeufs incubés artificiellement.** *C. R. Hebd. Séanc. Acad. Sci Paris*, 272D: 3071-3074.

PIGNATI, M. T., 2011. **Ecologia reprodutiva de *Podocnemis unifilis* troschel, 1848 (Testudines: Podocnemididae) em uma área de várzea do baixo rio Amazonas, Santarém, Pará, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Universidade Federal do Pará.

PIGNATI, M. T., PEZZUTI, J. C. B., 2012. **Alometria reprodutiva de *Podocnemis unifilis* (TESTUDINES, PODOCNEMIDIDAE) na várzea do baixo rio Amazonas, Santarém, Pará, Brasil.** *Ilheringia*, Série Zoologia, Porto Alegre, 102(1):48-55

_____. 1996c. **Temperature variation and sex determination in reptiles.** *BioEssays*, 18(1): 19-26.

POUGH, F. H.; ANDREWS, R. M.; CADLE, J. E.; CRUMO, M. L.; SAVITZKY, A. H.; WELLS, K. D. 2001. ***Herpetology*. Prentice Hall, Inc.** Upper Saddle River, New Jersey. 612pp.

PRITCHARD, P.C.; H. E. TREBBAU, P. 1984. **The Turtles of Venezuela.** *Society for the Study of Amphibians and Reptiles*, Oxford, Ohio. 414pp

REBÊLO, G.; PEZZUTI, J. 2000. **Percepções sobre o consumo de Quelônios na Amazônia.** *Ambiente & Sociedade*. 6(7):85-104.

_____. 2000b. **Percepções sobre o consumo de Quelônios na Amazônia.** *Ambiente & Sociedade*. 6(7):85-104, D.; MOLL, E. O. **The ecology, exploitation, and conservation of river turtles.** 2004. 393f22. MOLL. Oxford University Press. New York.

REBÊLO, G.H., LUGLI, L., 1996. **The Conservation of Freshwater Turtles and the Dwellers of the Amazonian Jaú National Park (Brazil).** In: Jain, S. K. (Ed.). *Etnobiology in Human Welfare*. Lucknow: Deep Publications, p. 253-258

RICKLEFS, R.E. 2016. **A Economia da Natureza/ Robert Ricklefs, Rick Relyea; revisão técnica Cecilia Bueno; Tradução Ana Claudia de Macêdo Vieira ...[et al].-7.ed-Rio de Janeiro : Guanabara Koogan**

ROBINSON, J.G., REDFORD, K.H. **The use and conservation of wildlife.** In: **Robinson, J.G., Redford, K.H. (Eds.). Neotropical Wildlife Use and Conservation.** Chicago: The University of Chicago Press, p. 3-5, 1991.

RUEDA-ALMONACID, J. V.; CARR, J.; MITTERMEIER, R.A.; RODRIGUEZ-MAHECHA, J. V.; MAST, R.B.; VOGT, R. C.; RHODIN, A. G. J.; OSSA-VELÁSQUEZ, J.; RUEDA, J.N.; MITTERMEIER, C.G. 2007. *Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos Del trópico. Serie de guías tropicales de campo No 6. Conservación Internacional, Editorial Panamericana, Formas e Impresos.* Bogotá, Colombia. 538pp.

_____. 2007b. *Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos Del trópico. Serie de guías tropicales de campo No 6. Conservación Internacional, Editorial Panamericana, Formas e Impresos.* Bogotá, Colombia. 538pp.

_____. 2007c. *Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos Del trópico. Serie de guías tropicales de campo No 6. Conservación Internacional, Editorial Panamericana, Formas e Impresos.* Bogotá, Colombia. 538pp.

SERVIÇO GEOLÓGICO BRASIL, CPRM, 2019 . **Agência Nacional das Águas ANA e Sistema de Proteção da Amazônia SIPAM.**

SOUZA, R.R.; VOGT, R.C. 1994. **Incubation temperature influences sex and hatchling size in the neotropical turtle *Podocnemis unifilis*.** *J. Herpetol.*, 28(4): 453-464.

_____. 1994b. **Incubation temperature influences sex and hatchling size in the neotropical turtle *Podocnemis unifilis*.** *Journal of Herpetology*, v. 28, n. 4, p. 453-464.

THORBJARNARSON, J. B; PEREZ, N.; ESCALONA, T, 1993. **Nesting of *Podocnemis unifilis* in the Capanaparo River, Venezuela.** *Journal of Herpetology*, v. 27, p. 347-351

_____. THORBJARNARSON, J. B; PEREZ, N.; ESCALONA, T, 1993b. **Nesting of *Podocnemis unifilis* in the Capanaparo River, Venezuela.** *Journal of Herpetology*, v. 27, p. 347-351

VALENZUELA, N.; DEAN, C.A.; BOWDEN, R.M.; GAUGER, A.C. 2001. **Geometric morphometric sex estimation for hatchling turtles: a powerful alternative for detecting subtle sexual shape dimorphism.** *Copeia*, 2004(4): 735-742.

VALENZUELA, N. 2004. **Evolution and maintenance of temperature-dependent sex determination.** In: Valenzuela, N.; Lance, V.A. *Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates* (Eds). Smithsonian Books, Washington. p. 131-147.

VALENZUELA, N.; BOTERO, R. MARTÍNEZ, E. 1997. **Field study of sex determination in *Podocnemis expansa* from Colombian Amazonia.** *Herpetologica* 53(3):390-398.

_____. VALENZUELA, N. 2001. **Evolution and maintenance of temperature-dependent sex determination.** In: Valenzuela, N.; Lance, V.A. *Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates* (Eds). Smithsonian Books, Washington. p. 131-147.

VALENZUELA, N., BOTERO, R. AND MARTINEZ, E., 1997. **Field study of sex determination in *Podocnemis expansa* from Colombian Amazonian.** *Herpetologica*, vol. 53, no. 3, p. 390-398.

VALENZUELA, N.; DEAN, C.A.; BOWDEN, R.M.; GAUGER, A.C 2004. **Geometric morphometric sex estimation for hatchling turtles: a powerful alternative for detecting subtle sexual shape dimorphism.** *Copeia*, 2004(4): 735-742.

VISMARA, M.R.; 2010 **Influência do manejo de ninhos de *Podocnemis unifilis* sobre o desenvolvimento de embriões no Lago Erepecu, REBIO Trombetas.** Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil.

VOGT, R.C.;V.H.; CARVALHO, A.G 1994. **Reproduction of the cabeçudo, *Peltocephalus dumerilianus*, in the Biological Reserve of Rio Trombetas, Pará, Brazil.** *Chel. Conserv. Biol.*, 1(2): 145-148.

VOGT, R. C. 2008. **Tartarugas da Amazônia.** *Gráfica Biblos*, Lima, Peru. 104pp. VOGT, R. C.1994. **Temperature controlled sex-determination as a tool for turtle conservation.** *Chelonian Conservation and Biology*, 1(2): 159-162.

_____. 1994b. **Reproduction of the Cabeçudo, *Peltocephalus dumerilianus*, in the Biological Reserve of Rio Trombetas, Pará, Brazil.** *Chelonian Conservation and Biology*, 1(2):145-148

_____. 1994c **Reproduction of the Cabeçudo, *Peltocephalus dumerilianus*, in the Biological Reserve of Rio Trombetas, Pará, Brazil.** *Chelonian Conservation and Biology*, 1(2):145-148

VOGT, R. C. TURTLES OF THE RIO NEGRO. 2001 IN: **Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro Basin, Amazonia, Brazil.** Chao, N.L.; Petry, P.P.; Prang, G.; Sonneschien, L.; Tlusty, M. (Eds.) Universidade do Amazonas Press, 309

_____. 1994d. **Reproduction of the Cabeçudo, *Peltocephalus dumerilianus*, in the Biological Reserve of Rio Trombetas, Pará, Brazil.** *Chelonian Conservation and Biology*, 1(2):145-148, 1994

VOGT, R. C. 2008. **Tartarugas da Amazônia.** *Gráfica Biblos*, Lima, Peru. 104pp

_____. 2008b. **Tartarugas da Amazônia.** *Gráfica Biblos*, Lima, Peru. 104pp

WIBBELS, T.; BULL, J.J.; CREWS, D. 1994. **Temperature-dependent sex determination: a mechanistic approach.** *J. Exp. Zool.*, 270(1): 71-78.

_____. 1994b. **Temperature-dependent sex determination: a mechanistic approach.** *J. Exp. Zool.*, 270(1): 71-78.

YNTEMA, C.L, 1976. **Effects of incubation temperatures on sexual differentiation in the turtle, *Chelydra serpentina*.** *J. Morphol.*, 150(2): 453-462.

YNTEMA, C.L, 1979. **Temperature levels and periods of sex determination during incubation of eggs of *Chelydra serpentina*.** *J. Morphol.*, 159(1): 17-28.

YNTEMA, C.L, 1968. **A series of stages in the embryonic development of *Chelydra serpentina*. *J. Morphol.*, 125: 219-251.**

_____. 1979b. **Temperature levels and periods of sex determination during incubation of eggs of *Chelydra serpentina*. *J. Morphol.*, 159(1): 17-28.**

_____. 1968b. **A series of stages in the embryonic development of *Chelydra serpentina*. *J. Morphol.*, 125: 219-251.**

_____. 1979c. **Temperature levels and periods of sex determination during incubation of eggs of *Chelydra serpentina*. *J. Morphol.*, 159(1): 17-28.**

YNTEMA, C.L, 1976. **Effects of incubation temperatures on sexual differentiation in the turtle, *Chelydra serpentina*. *J. Morphol.*, 150(2): 453-462**