



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica

Laboratório de Evolução e Genética Animal (LEGAL)

Padrões genético-populacionais do “tracajá” *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE) na Amazônia brasileira

MARIA AUGUSTA PAES AGOSTINI

MANAUS – AMAZONAS

AGOSTO, 2016

MARIA AUGUSTA PAES AGOSTINI

Padrões genético-populacionais do “tracajá” *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE) na Amazônia brasileira

Orientador (a): Dra. Izeni Pires Farias

Co-orientador: Dr Waldesse Piragé de Oliveira Junior

Dissertação apresentada a Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Diversidade Biológica.

Apoio: Laboratório de Evolução e Genética Animal – LEGAL
Financiamento: CAPES

MANAUS – AMAZONAS

AGOSTO, 2016

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A275p Agostini, Maria Augusta Paes
Padrões genético-populacionais do “tracajá” *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE) na Amazônia brasileira / Maria Augusta Paes Agostini. 2016
41 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Izeni Pires Farias
Coorientador: Waldesse Piragé de Oliveira Junior
Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas.

1. *Podocnemis unifilis*. 2. Genética de populações. 3. Hidrelétricas. 4. tracajá. I. Farias, Izeni Pires II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), especialmente, à professora Maria Gracimar (Gal) pelo carinho e atenção a toda nossa turma;

A CAPES (e novamente à Gal) pela concessão de bolsa de estudos;

Aos meus amigos e colegas da última turma do curso de mestrado em Diversidade Biológica da UFAM Jhenny, Neto, Marlus, Serginho, Gi, Rafa, Pedro e Jonas;

À minha família e razão de viver: minha mãe Goretti, meu pai Renato e minha irmã e melhor amiga da vida - Gabi, às minhas avós Maria e Terezoca, meu avô Alaor, meus Tios, tias, primos e primas do Paraná, São Paulo e Rio Grande do Sul e os de coração do Tocantins. Um agradecimento especial para minha tia Marta pelo presente de formatura da graduação que ajudou na minha qualidade de vida ao longo do mestrado, e especialmente pela ajuda nos últimos meses da minha escrita que me ajudou a focar e escrever mais tranquila.

Aos meus grandes amigos e colegas do LABIOTEC-UFT que me iniciaram na ciência: Julio Bigueli, Nati cumpadi, Luan, Jaque, Alana, Emmyle doidinha (*in memorian*), Vanessa, Taynara, etc. Especialmente ao meu “pai na ciência” e co-orientador do mestrado o DrSc. Waldesse Piragé de Oliveira Junior;

Aos meus amigos e colegas do LEGAL-UFAM: Luceia cumadinha, Vini, Zamora (em especial, pela atenção e paciência com os mapas), Ale, Ingrid caboquinha, às lindas Sandra e Beta, Erickson, Senna (em especial, pelas análises do barrier), Cleuton, Rodrigo, Igor, Enzo, Luana e Lucas, Rupert gringo, Robson Mário, Fabinho, Jessica dos Anjos, Gabriel Leite, José, Ju, Luciana, Igor, Israela, Sarah, Robertinha, Rejane, Bruna, prof Tomas, Priscila, Victor, Maria Doris, Jessica, Aline, Val, Anas Paulas, Wal, Adriano, Emmanuel, Ed, Etc. Especialmente a minha “mãezinha na ciência” a Dra. Izeni Pires Farias, que se não fosse por ela eu jamais teria vindo morar em Manaus, nem continuado no mestrado e nem terminado (rs);

À minha primeira família em Manaus que me recebeu com muito carinho desde a primeira vez que vim a Manaus: Paulinha (minha prima linda e meu porto seguro amazonense), Yuri cabeça, Layon princesa, Jack dengão, Vê e Bariri;

Aos amigos que me ajudaram de diversas formas: Ju Araújo, as eternas seringueiras (Pati, Carlinha, Vivi e Daia), meu xará Guto, Eveni minha anjinha, Bia arquiteta, Jaspion, Panchito, McCrate, Sasá, Dé Ornelas, Diego Brandão, Tibs maridinho, Bicudo, Carol Lara e Paulinho, pessoal do CEQUA e agregados (Fábio, Virgínia, Cléo, Andréia, Sabrina, Arica, Neves, Dick, Camilas, Sofia, Sabrinhas, etc), ao Chato e aos meus grandes amigos de Palmas (Perna, Lucídio, Gabiru, Pavão, Trenzim, Beto, Gabe, Garrafa, André, Amandita, Loris, Dry, Bah, Ana Laura, Dodow, Crys, Jana, Saiuri, Alberto, Cris mami, Sandro papi, Kaio Costa, Viuller, Val e Angela, pessoal da NeoFauna e Engetec– Luds, Liliam, Rodrigo, Wlainer, gui, Adrian, Geraldo, Junior, Mizu, Léo, etc.);

Aos amigos que me deram a honra de serem recebidos na minha casa em Manaus: Miriam, Amanda “Queen”, Dalua, Tia Moema, Rafael “Boi”, etc.

E por fim, mas não menos importante, a minha nova família em Manaus do Museu da Amazônia (MUSA) que me adotou na reta final e vai ajudar a continuar minha jornada na Amazônia: Ennio Candotti, Antonia, Regininha, Roberto, Susi, , Felippo Bambino, Carla, Jeff, etc.

“Dai diamante non nasce niente, dal letame nascono i Fiori”

RESUMO

O tracajá (*Podocnemis unifilis*) é a tartaruga de água doce com maior distribuição, podendo ser encontrada nos mais diversos habitats. Associada a características naturais dos quelônios, a ação humana provoca um declínio acentuado das populações, fazendo com que espécies como *P. unifilis* esteja na lista de animais a serem protegidos pelo IBAMA. Muitos aspectos da biologia das espécies podem ser determinados usando análises genéticas. Em alguns rios da bacia Amazônica, corredeiras e cachoeiras limitam o fluxo gênico de vários grupos aquáticos e semiaquáticos, portanto, é necessário estudar os padrões genéticos das espécies principalmente em locais que são visados para empreendimentos hidrelétricos. Com isso, analisamos a região *D-Loop* do DNA mitocondrial de 300 tracajás adultos de diferentes rios da drenagem da Amazônia brasileira, determinando padrões de organização da variabilidade genética e avaliando a interferência de barreiras naturais aos indivíduos. Foram medidos o número de haplótipos, número de sítios segregantes, a diversidade haplotípica, diversidade nucleotídica, testes de neutralidade, AMOVA e foi construída uma rede de haplótipos. Para medir os níveis de estruturação entre as localidades inferimos o índice de fixação Φ_{ST} , a quantidade de grupos biológicos na amostra, nível de fluxo genético, teste de Mantel, e por fim, foram estimadas as barreiras naturais ao fluxo gênico usando o programa Barrier. Encontramos altos valores de diversidade genética e um fluxo genético restrito com altos níveis de estruturação entre as localidades. As diferenças dentro dos rios Madeira, Tapajós, Trombetas, Xingu e Tocantins-Araguaia possivelmente são causadas pelas cachoeiras e corredeiras. Sugerimos 8 Unidades de Manejo distintas: Barreirinha, Médio rio Trombetas, rio Tapajós, montante da cachoeira da Volta Grande do Xingu, jusante da cachoeira da Volta Grande do Xingu, rio Guaporé, bacia Tocantins-Araguaia e um grupo da região da várzea amazônica com as demais localidades. Indicamos a utilização de nossos dados na tomada de decisão de locais de soltura de filhotes em projetos de manejo participativo de quelônios amazônicos, nas decisões sobre implantação de empreendimentos e na fiscalização e apreensão do comércio ilegal de tracajás, além de ressaltar a importância do estudo da espécie através de outros marcadores moleculares, a fim de auxiliar na conservação dos tracajás.

Palavras-chave: tracajá, genética de populações, *D-loop*, conservação, hidrelétricas.

ABSTRACT

The yellow-spotted river turtle *Podocnemis unifilis* is the most widely distributed freshwater river turtle and is found in a diversity of habitats. Associated with natural characteristics of turtles, human action causes a sharp population declines, causing species like *P. unifilis* to be on the list of animals to be protected by IBAMA. Many aspects of the biology of the species can be determined using molecular genetic analyses. In some rivers of the Amazon basin, rapids and waterfalls limit gene flow of various aquatic and semiaquatic groups, so it is necessary to study the patterns of species especially in places that are targeted for hydroelectric projects. Thus, we analyzed the *D-loop* region of mitochondrial DNA of 300 adult turtles of different rivers in the Brazilian Amazon basin, determining organizational patterns of genetic variability and evaluating the interference of natural barriers. We measured the number of haplotypes, the number of segregating sites, haplotype diversity, nucleotide diversity, neutrality tests, AMOVA and we constructed a haplotype network. To measure levels of structuring among populations, we inferred the Φ_{ST} fixation index, the number of biological groups in the sample, level of gene flow, Mantel's test, and finally, we estimated natural barriers to gene flow using Barrier program. We found high genetic diversity and restricted gene flow with high levels of structuring between locations. The differences within the Madeira, Tapajós, Trombetas, Xingu and Tocantins-Araguaia rivers are possibly caused by waterfalls and rapids. We define 8 different Management Units: Barreirinha, middle Trombetas River, Tapajós River, upstream of the waterfall of Volta Grande do Xingu River, downstream of the waterfall of Volta Grande do Xingu River, Guaporé River, Tocantins-Araguaia basin and a group of the Amazon floodplain area with other populations. We indicate the use of our data in making decisions to release young in participatory management of project sites of Amazon turtles, in decisions on implementation of construction projects and inspection and seizure of illegal trade in turtles, and underline the importance of studying the species through other molecular markers to assist in the conservation of turtles.

Keywords: tracajá, population genetics, *D-loop*, conservation, hydroelectric.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1. <i>Podocnemis unifilis</i>	1
1.2.Genética de população de quelônios do gênero <i>Podocnemis</i>	3
1.3.Problemática e propósito do presente estudo	5
2. OBJETIVOS	8
1.4.Objetivo Geral	8
1.5.Objetivos Específicos	8
3.MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1. Área de estudo.....	9
3.2. Procedimentos de captura e coleta do material biológico	11
3.3. Procedimentos em Laboratório	14
3.3.1. Extração de DNA	14
3.3.2. Amplificação <i>in vitro</i> do DNA via reação em cadeia da polimerase (PCR)	14
3.3.3. Purificação do Produto Amplificado e Reação de Sequenciamento	14
3.4. Análises dos dados	15
3.4.1 Edição e organização das matrizes de dados	15
3.4.2. Diversidade genética, testes de neutralidade e distribuição dos haplótipos	15
3.4.3. Estruturação populacional e fluxo gênico	16
3.4.4. Análises de barreiras naturais	17
4.RESULTADOS	18
4.1. Diversidade genética, testes de neutralidade e distribuição dos haplótipos	18
4.2. Estruturação populacional e fluxo gênico	20
4.3. Análises de barreiras naturais	25
5.DISSCUSSÃO	26

5.1. Padrões diversidade genética em <i>Podocnemis unifilis</i>	26
5.2. Fatores causais da estrutura genética.....	27
5.3. Implicações para a conservação.....	30
6.CONCLUSÃO	33
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXO I	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Informação sobre o número amostral usado para a obtenção dos dados genéticos.....	10
Tabela 02 – Índices de diversidade genética e testes de neutralidade das populações de <i>P. unifilis</i>	17
Tabela 03 - Comparação par a par dos valores de Φ_{st} das populações (abaixo), e número de fêmeas migrantes de tracajá por geração entre as populações amostradas (acima).....	22

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Indivíduo imaturo de <i>Podocnemis unifilis</i>	1
Figura 02 - Distribuição geográfica de <i>Podocnemis unifilis</i>	2
Figura 03 – Empreendimentos hidrelétricos planejados (vermelho) e em construção/operação (branco) na bacia Amazônica.....	6
Figura 04 – Mapa da amostragem do presente estudo.....	10
Figura 05 – Metodologias de captura de tracajás.....	11
Figura 06 – Coleta de sangue pela veia caudal.....	12
Figura 07 – Rede de haplótipos baseada nas sequências da região <i>D-loop</i> do DNAm.....	20
Figura 08 – Mapa com a amostragem do presente estudo e o gráfico gerado no BAPS mostrando os níveis de estruturação para <i>P. unifilis</i> baseado na região controle do DNA mitocondrial.....	24
Figura 09 – Distribuição dos pontos geográficos amostrados e as possíveis barreiras naturais inferidas pelo Barrier.....	25
Figura 10 – Unidades de Manejo consideradas no presente estudo.....	31

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Podocnemis unifilis*

Popularmente conhecida como “tracajá”, ou “zé prego” para os machos, *Podocnemis unifilis* é um quelônio semiaquático que se diferencia das demais espécies do gênero principalmente pelas manchas alaranjadas puxando para um tom amarelo luminoso na cabeça dos juvenis e machos adultos (Figura 01). As fêmeas possuem cabeça marrom ferrugem de maneira uniforme, são maiores que os machos e, geralmente, com 31,3 cm estão prontas para se reproduzir, podendo chegar até 46,5 cm (VOGT, 2008).

Figura 01 – Indivíduo imaturo de *Podocnemis unifilis*.



O tracajá se alimenta de material animal e vegetal, como sementes, caules e pequenos crustáceos, e é comumente visualizado tomando sol em grandes grupos sobre troncos (comportamento de *basking*). É a tartaruga de água doce com maior distribuição, ocorrendo na Bolívia, Colômbia, Equador, Guianas, Peru, Suriname, Venezuela e no Brasil principalmente nos estados da Amazônia Legal: Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Maranhão, Rondônia, Roraima e Tocantins, além de Goiás e Mato Grosso (Figura 02) (VAN DIJK et al., 2014; VOGT, 2008).

Figura 02 - Distribuição geográfica de *Podocnemis unifilis* (evidenciado em cor).



Fonte: Van Dijk et al., 2014.

Essa espécie pode ser encontrada nos mais diversos habitats: grandes rios, lagos, lagos de meandro, pântanos, brejos e lagoas, em locais de águas pretas, claras e brancas. Grande parte das fêmeas que ficam em lagos de meandros e lagoas migram para os rios para desovarem, algumas vezes atravessando centenas de metros por terra, enquanto os juvenis são mais comuns em pequenas lagoas ou enseadas, e os machos em grandes rios (VOGT, 2008).

A estação de desova varia ao longo da sua distribuição, ocorrendo duas vezes: a primeira cerca de 2 a 3 semanas antes da “tartaruga-da-Amazônia” (*Podocnemis expansa*), próximo ao mês de novembro, e a segunda duas semanas depois. As fêmeas postam de 16 a 33 ovos por ninhada, aparentemente sem seleção do local de postura dos ovos, pois, ninhos podem ser encontrados em praias abertas, altas, baixas, declinadas, em áreas com plantas herbáceas ou em sombras na borda da floresta em solo argiloso, com isso, alguns ninhos não são detectados por predadores como o gavião-preto, o mais importante, além de larvas de moscas (VOGT, 2008).

Devido à alta taxa de predação dos filhotes no momento em que saem do ninho, alguns projetos de manejo participativo de quelônios amazônicos foram criados, como o projeto “Pé-de-Pincha”, que em alguns lugares, transporta ninhos de quelônios para incubadoras artificiais até a eclosão. Os filhotes são criados por meses até se desenvolverem o suficiente para diminuir o risco de predação natural e, somente assim, soltos na natureza pelos participantes do projeto, juntamente com os comunitários das regiões. Essas ações

visam aumentar a conscientização da preservação da espécie e diminuir o consumo em ambientes naturais, tendo em vista que os maiores predadores das populações de tracajá ainda são os humanos (ANDRADE, 2007; VOGT, 2008).

Atualmente, *P. unifilis* necessita de atenção, pois está classificada como vulnerável na lista vermelha da IUCN (*IUCN Red List of Threatened Species*) e incluída no Apêndice II da CITES. Segundo a CITES, é permitido criar tracajás para a venda como alimento no Brasil, porém é proibido enviar sua carne para o exterior (<http://www.cites.org/eng/app/appendices.php>; IUCN, 2016). A lista vermelha da IUCN possui critérios biológicos em sua elaboração, entre eles parâmetros de diversidade genética. Com isso, vários estudos estão sendo realizados com técnicas moleculares, pois, para que um programa de manejo e conservação tenha sucesso para organismos que possuem um ciclo de vida longo, como os quelônios, é necessário proteger todos os estágios de vida da espécie (FRANKHAM et al., 2008; CONGDON et al., 1993).

1.2 Genética populacional de quelônios do gênero *Podocnemis*

A ordem TESTUDINES ou CHELONIA, que engloba os quelônios terrestres, marinhos e de água doce, é tida como a mais antiga entre os répteis. Os quelônios são organismos longevos, possuem maturação sexual tardia e alta taxa de mortalidade de filhotes e embriões, fatores que geram uma baixa taxa de substituição de indivíduos (ALFINITO, 1973; PRITCHARD, 1979; ERNST e BARBOUR, 1989; IBAMA, 1989; FERRI, 2002). Associado às características naturais das tartarugas, o consumo indiscriminado como alimento, da carne, vísceras e ovos, e a utilização de seus cascos como adorno e utensílios domésticos pelas comunidades locais (PRITCHARD e TREBBAU, 1984), somados à destruição ou ocupação desordenada de seu ambiente natural provocaram um declínio acentuado das populações de quelônios. Por isso, *P. expansa* e *P. unifilis* animais protegidos pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis-IBAMA.

No Brasil estão registradas 36 espécies de quelônios distribuídas em oito famílias: Chelidae, Cheloniidae, Dermochelyidae, Emydidae, Geoemydidae, Kinosternidae, Podocnemididae e Testudinidae. A família Podocnemididae é representada por três gêneros: *Erymnochelys* (Baur 1888), *Peltocephalus* (Duméril e Bibron 1835) e *Podocnemis* (Wagler 1830), o mais representativo da família, com seis espécies: *P. erythrocephala* (Spix, 1824), *P. expansa* (Schweigger, 1812), *P. lewyana* (Duméril, 1852), *P. sextuberculata* (Cornalia, 1849), *P. vogli* (Müller, 1935) e *P. unifilis* (Troschel, 1948). Todas as espécies do

gênero ocorrem na América do Sul, principalmente na região norte do Brasil (BÉRNILS e COSTA, 2012; VAN DIJK et al., 2014). Apesar dessas espécies serem bastante estudadas, a maioria dos trabalhos está relacionada à ecologia e reprodução (FACHÍN-TERÁN e VOGT, 2004; FANTIN et al., 2007).

Muitos aspectos da biologia das espécies podem ser determinados usando análises genéticas moleculares (FRANKHAM et al., 2008). Essas análises são importantes pois, cada espécie do gênero *Podocnemis* possui um comportamento diferente quanto a movimentação para alimentação e reprodução. *P. expansa*, por exemplo, é o maior quelônio de água doce, adaptada para nadar centenas de quilômetros acima nos cursos do rio, podendo migrar até 45km em dois dias (VOGT, 2008). Em ambiente natural foi observado, através do DNA mitocondrial, que apesar da capacidade de migração de *Podocnemis expansa*, existem diferenças genético-populacionais entre bacias, possivelmente pelo fato de ambos os sexos voltarem todos os anos para o mesmo local de nidificação (SITES et al., 1999; PEARSE et al., 2006). Pearse e colaboradores (2006), quando utilizaram o DNA nuclear (de herança biparental) conseguiram encontrar estrutura entre populações de *P. expansa* no alto rio Madeira e no rio Araguaia, com populações limitadas pelas cachoeiras desses rios.

Em um estudo com *Podocnemis lewyana* foi verificado que mesmo pequenas diferenciações genéticas em marcadores mitocondriais podem ser informativas, mas bacias hidrográficas diferentes não mostraram padrões distintos. Isso indica que existem altos níveis de fluxo gênico entre bacias hidrográficas ou que a separação das populações é recente (ou muito lenta) de modo que ainda não deixou um sinal genético na região mitocondrial citocromo b (VARGAS-RAMÍREZ et al., 2007). Utilizando a região controle mitocondrial e marcadores microssatélites, que são mais variáveis, Vargas-Ramírez e colaboradores (2012), verificaram que a história genética de *P. lewyana* tem sido impactada por vários eventos de efeito gargalo (*bottleneck*) e expansão populacional desde o Pleistoceno, resultado de baixa variação genética devido a distribuição geográfica restrita, e agravada por fatores antropogênicos recentes.

A “irapuça” (*P. erythrocephala*), que possui padrão de coloração vermelho na cabeça, é a menor em tamanho e distribuição entre as brasileiras do gênero, ocorrendo basicamente na bacia do rio Negro (VOGT, 2008; VAN DIJK et al., 2014). Possivelmente devido a sua baixa migração, Santos e colaboradores (2016) verificaram que cachoeiras e corredeiras presentes no alto rio Negro e no rio Jaú podem causar diferenciação genética entre as populações.

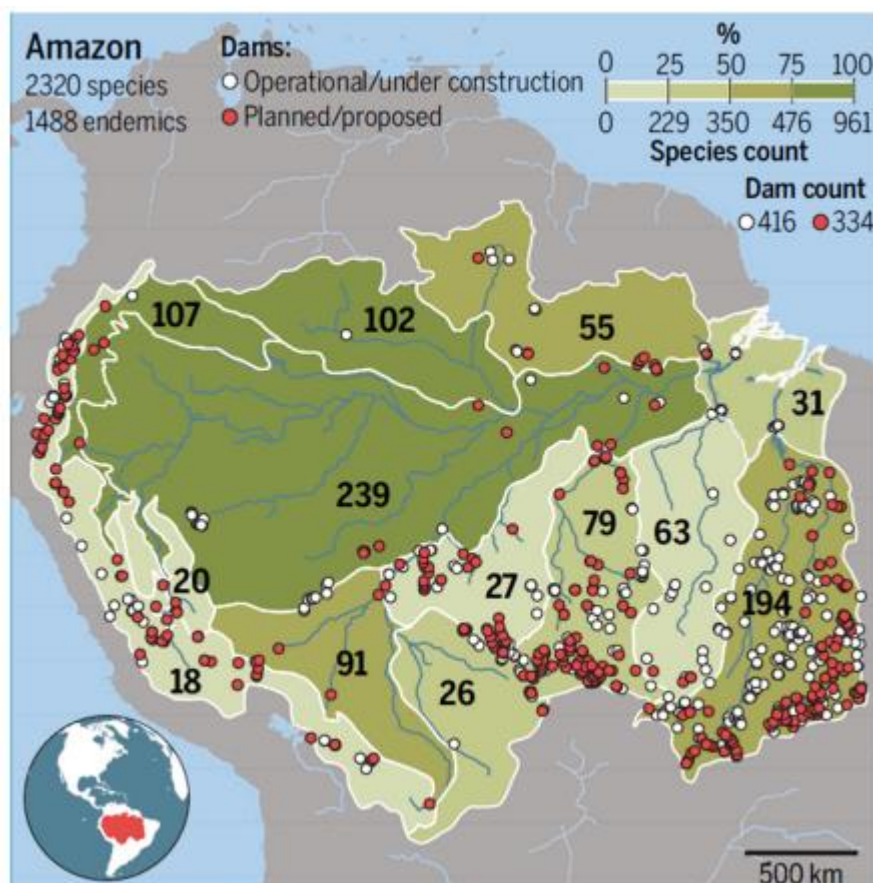
Podocnemis sextuberculata, conhecida como “iaçá” ou “pitiú”, é um pouco maior que a irapuca e vive em lagos e canais laterais dos rios na cheia e no canal principal do rio na seca. Os machos migram para as praias de desova antes das fêmeas, e assim como *P. expansa*, possui potencial migratório maior que as demais, cerca de 15,5 a 44,5 km em um ano (VOGT, 2008; VAN DIJK et al., 2014). Essa alta capacidade migratória é corroborada por estudos genético-populacionais no rio Juruá analisando a região controle mitocondrial (VIANA, 2008) e em rios da Amazônia central com a região ND1 do DNA mitocondrial (SILVA et al., 2011), os quais verificaram ausência de estruturação genética com intenso fluxo gênico entre as localidades amostradas.

O tracajá, objeto de estudo do presente trabalho, apesar de não necessitar migrar muito para conseguir recursos, um estudo com o DNA nuclear verificou que indivíduos de *Podocnemis unifilis* conseguem manter o fluxo gênico migrando áreas alagadas e pequenos cursos d'água. Entre corredeiras da Amazônia ocidental os autores não encontraram uma queda drástica de diversidade gênica das populações, mas foram encontrados sinais de vulnerabilidade genética devido a gargalos populacionais, que podem prejudicar a futura integridade das populações se a exploração antrópica persistir (ESCALONA et al., 2009). Desta forma, é possível que estruturas geomorfológicas (cachoeiras e corredeiras) também possam ser responsáveis pelos padrões populacionais de *P. unifilis*, como já foi visto nas espécies próximas, na Amazônia brasileira (SITES et al., 1999; PEARSE et al., 2006; SANTOS et al., 2016).

1.3. Problemática e propósito do presente estudo

A transição abrupta os escudos cristalinos do Brasil Central e das Guianas marcam a paisagem na forma de cachoeiras e trechos de fortes corredeiras nos maiores afluentes do rio Solimões–Amazonas (AYRES, 1995), sendo áreas com alto potencial de geração de energia. Com isso, rios como o Tapajós, Trombetas, Xingu e Madeira, assim como a bacia do Tocantins-Araguaia, estão passando por um momento de avaliação em relação a implantação de aproveitamentos hidrelétricos, com grandes implicações sobre os impactos ambientais relacionados a construção destas. Atualmente existem 416 empreendimentos em operação ou construção e 334 em planejamento ou propostos em toda bacia Amazônica (Figura 03) (WINEMILLER et al., 2016).

Figura 03 – Empreendimentos hidrelétricos planejados (vermelho) e em construção/operação (branco) na bacia Amazônica.



Fonte: WINEMILLER et al., 2016

*As ecorregiões de água-doce de acordo com ABELL et al., 2008 estão separadas por bordas brancas.

** As diferentes cores indicam um gradiente de diferenças na riqueza de espécies dentro das sub-bacias.

***Valores em preto indicam o número de espécies endêmicas para cada ecorregião.

As maiores implicações da implantação desse tipo de empreendimento vêm da fragmentação dos rios com a perda de conectividade, o desmatamento devido à construção de rodovias e o alagamento de áreas florestais para a criação de reservatórios (FINER e JENKINS, 2012) que inundam praias de desova de algumas espécies de quelônios (ALHO, 2011) e locais utilizados para o *basking* (termorregulação).

Apesar de toda a problemática neste tema, pouco se conhece sobre o papel das cachoeiras e corredeiras como barreiras ao fluxo gênico e/ou como agentes da diversificação das espécies aquáticas e semiaquáticas da Amazônia. Em alguns lugares, corredeiras e cachoeiras são vistas como elementos importantes nos processos históricos de especiação alopátrica e de estrutura populacional, limitando o fluxo gênico em vários grupos aquáticos e semiaquáticos como anuros (SIMÕES et al., 2010), quelônios (PEARSE et al., 2006), peixes (FARIAS et al., 2010; TORRENTE-VILARA et al. 2011; WILLIS et al.,

2012a; OCHOA et al. 2015), jacarés (HRBEK et al., 2008; MUNIZ, 2012; RANGEL, 2015) e botos (BANGUERA-HINESTROZA et al., 2002; HRBEK et al. 2014; GRAVENA et al., 2014, 2015).

No rio Madeira por exemplo, foi possível identificar o isolamento de uma população de botos híbridos de *Inia boliviensis* e *Inia geoffrensis*, entre as corredeiras e cachoeiras de Santo Antônio e Jirau (GRAVENA et al. 2015). Porém, como quelônios podem passar por barreiras onde botos não passam, é comum encontrar fluxo gênico, mesmo que restrito, como observado para *Podocnemis expansa* nessas corredeiras do Madeira (PEARSE et al. 2006). Portanto, é necessário estudar os padrões de cada espécie principalmente em regiões visadas para empreendimentos afim de se obter informações dos padrões genético-populacionais antes da construção destes, que provavelmente terão um efeito nas populações de organismos aquáticos.

Ainda há uma grande escassez de informações sobre a genética de *P. unifilis*, com apenas dois trabalhos de genética de populações, com foco no extremo oeste da Amazônia (ESCALONA et al., 2009 e PIÑEDA-CATALAN et al., 2012). Com isso, o presente trabalho se propôs a caracterizar a genética de populações de tracajá na Amazônia brasileira, determinando padrões de organização da variabilidade genética e avaliando a interferência de barreiras naturais para a espécie. Esperamos que os resultados sejam utilizados para planos de manejo a fim de mitigar os efeitos de construções de empreendimentos sobre os atuais padrões genéticos das populações de *P. unifilis*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a diversidade genética, a estrutura populacional e o efeito de barreiras naturais para *Podocnemis unifilis* em rios da Amazônia brasileira.

2.2. Objetivos Específicos

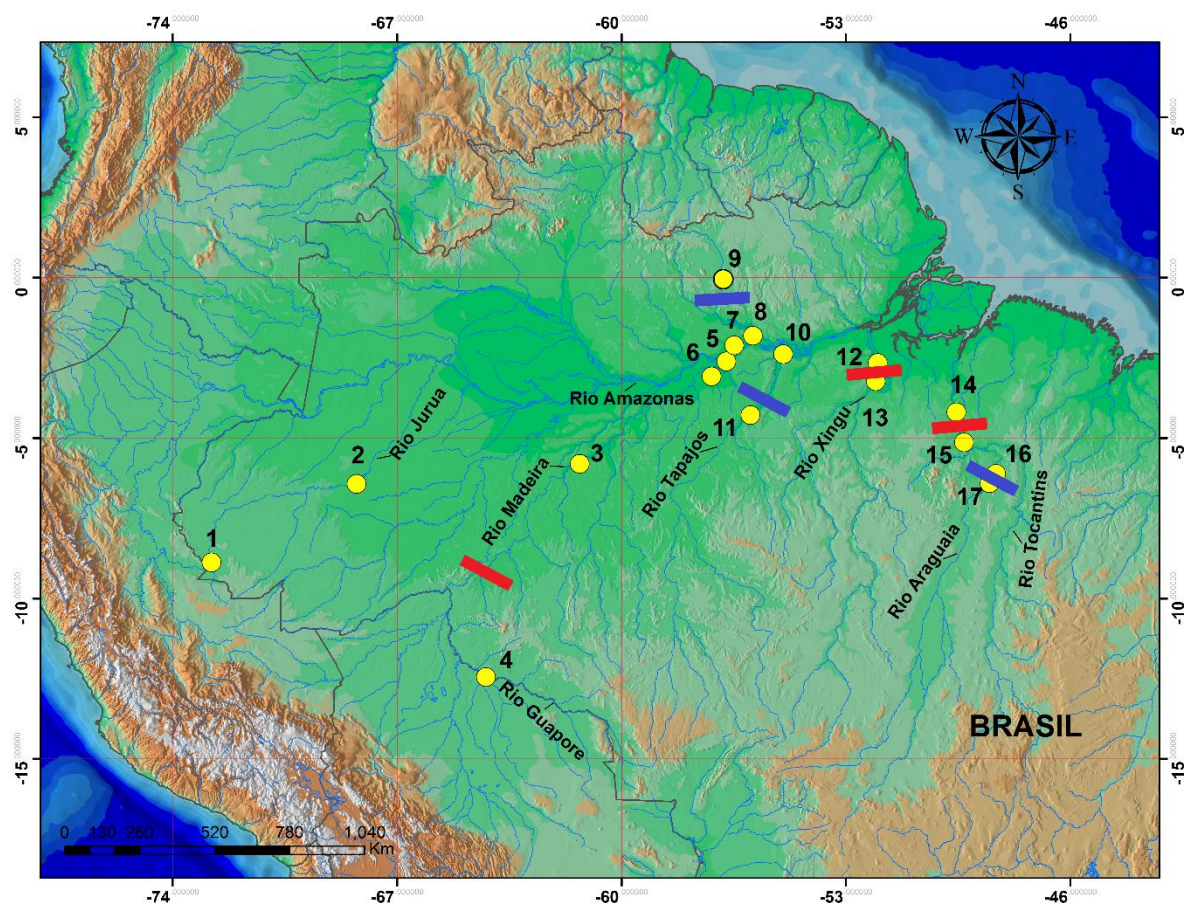
- Avaliar os níveis de diversidade genética dos indivíduos de *P. unifilis* nas localidades amostradas;
- Estimar o fluxo gênico entre e dentro das localidades estudadas;
- Avaliar o efeito de barreiras naturais nas populações de tracajás;
- Sugerir Unidades de Manejo para a espécie.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo e Amostragem

Foi amostrado um total de 300 indivíduos adultos de diferentes rios da drenagem da Amazônia brasileira. Várias sequências foram obtidas do banco de dados de *P. unifilis* dos laboratórios de Evolução e Genética Animal e de Bioquímica Molecular, ambos da UFAM, em Manaus-AM. Para o presente estudo foi coletado indivíduos a montante e a jusante de cachoeiras e corredeiras sob influência de hidrelétricas dos rios Tocantins-Araguaia e Xingu entre os anos de 2009, 2012 e 2013. Dentre elas estão as corredeiras de Santa Izabel no rio Araguaia (onde foi aprovada a construção de uma UHE), as cachoeiras e corredeiras de Itaboca (submersas pela UHE de Tucuruí-PA) no rio Tocantins e as corredeiras da volta grande do Xingu (onde está sendo construída a UHE Belo Monte). Todas as coletas seguiram recomendações e autorizações do ICMBio nºs 12388-4 de 06/11/2009 e 49695-1 de 03/08/2015. Para o presente estudo também amostramos o rio Tapajós, onde está sendo estudada a implantação da UHE São Luiz do Tapajós e o rio Madeira, onde estão construindo as UHEs Jirau e Santo Antônio. O resumo da amostragem total pode ser observado na Tabela 01 e na Figura 04.

Figura 04 – Mapa da amostragem do presente estudo.



*Os círculos amarelos são os pontos amostrados e os valores em preto representam os números das localidades de acordo com a Tabela 01.

**As barras representam as regiões de corredeiras e/ou cachoeiras amostradas, em vermelho representam onde estão construindo ou já estão construídos empreendimentos hidrelétricos e em azul onde ainda não foram construídos.

Tabela 01 - Informação sobre o número amostral usado para a obtenção dos dados genéticos. Os códigos das localidades serão usados ao longo do texto.

Ponto no mapa (Figura 04)	Município	Estado	Localização no rio	Código	Número amostral
1	Tarauacá	Acre	Alto rio Juruá	JuruTara	12
2	Itamarati	Amazonas	Médio rio Juruá	Jurultam	12
3	Manicoré	Amazonas	Rio Madeira	MadeMani	16
4	Costa Marques	Roraima	Rio Guaporé	MadeGuap	19
5	Parintins	Amazonas	Rio Amazonas	AmazPari	22
6	Barreirinha	Amazonas	Rio Amazonas	AmazBarr	17
7	Terra Santa	Pará	Rio Nhamundá	NhamTerr	21
8	Oriximiná (Lago Sapucuá)	Pará	Rio Trombetas	TromSapu	10

9	Oriximiná (Lago Jarauacá)	Pará	Rio Trombetas	TromJara	15
10	Santarém	Pará	Rio Tapajós	TapaJusa	8
11	Itaituba	Pará	Rio Tapajós	TapaMont	9
12	Altamira (Jusante)	Pará	Rio Xingu	XingJusa	27
13	Altamira (Montante)	Pará	Rio Xingu	XingMont	21
14	Tucuruí	Pará	Rio Tocantins	TocaTucu	22
15	Itupiranga	Pará	Rio Tocantins	Tocaltup	6
16	Antonina	Tocantins	Rio Araguaia	AragAnto	28
17	Xambioá	Tocantins	Rio Araguaia	AragXamb	35
Total					300

*Em negrito - localidades amostradas no presente trabalho.

3.2. Procedimentos de captura e coleta do material biológico

Para a captura dos indivíduos (Figura 05) foram utilizadas as metodologias de mergulho (a), batção (b), pesca com linha sem anzol (c) e redes de pesca do tipo malhadeira especial para quelônios (*trammel nets*) (d), variando em cada localidade de acordo com particularidades de cada região. Cada tartaruga foi marcada com um código único, que consiste em um furo nos escudos marginais da carapaça para evitar a re-amostragem dos indivíduos (CAGLE, 1939). Coordenadas geográficas foram tomadas nos locais de captura.

Figura 05 – Metodologias de captura de tracajás.

(a)



(b)



Fonte: CROQUE-UFT

(c)



(d)



As amostras de material biológico foram obtidas através da punção de sangue da veia caudal de indivíduos adultos de *Podocnemis unifilis* (Figura 06) e estocadas em álcool a 96% em caixa térmica e em geladeira a 4°C até o processamento no Laboratório de Evolução e Genética Animal (LEGAL), localizado na Universidade Federal do Amazonas (UFAM) em Manaus-AM.

Figura 06 – Coleta de sangue pela veia caudal



3.3. Procedimentos em Laboratório

3.3.1 Extração de DNA

O DNA genômico total foi extraído das amostras de sangue usando o kit *QIAGEN DNeasy Blood and Tissue* (Qiagen, Inc., Valencia, CA), de acordo com as recomendações do fabricante. Após a extração, as amostras de DNA foram analisadas por eletroforese horizontal, em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio, com tampão TBE de corrida, com a finalidade de verificar a integridade do DNA obtido. A quantidade de DNA por amostra foi medida no NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) por espectrofotometria.

3.3.2. Amplificação *in vitro* do DNA via reação em cadeia da polimerase (PCR)

O marcador genético utilizado foi a alça *D-Loop* da região controle do DNA mitocondrial, por ter se mostrado bastante variável em espécies do gênero *Podocnemis*, inclusive em trabalhos de genética de populações (VIANA, 2008; PEARSE et al., 2006; VARGAS-RAMIREZ 2012; SANTOS 2016).

As amostras de DNA total foram amplificadas por PCR (INNIS et al., 1990) usando um par de primers externos PRO (5'-CCCATCACCCACTCCCAAAGC-3') (PEARSE et al., 2006) e 12SR5 (5'-GGCGGATACTTGCATGT-3') (HRBEK e FARIAS, 2008). Cada tubo conteve 4mM de MgCl₂ (Fermentas), 0,8 mM dNTPs (Fermentas), 1,5x tampão da enzima Taq polimerase (100 mM Tris-HCl, pH 8,5, 500 mM KCl) (Fermentas), 1pMol de cada primer, 1,5 U da enzima Taq DNA polimerase (Fermentas) e de 50ng de DNA, completando com água para um volume final de 15 µL. Os ciclos de amplificação foram de 94 °C por 1 minuto para a desnaturação inicial da fita de DNA, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1min, anelamento dos *primers* a 57°C por 1min e extensão a 72 °C por 1 minuto e 30 segundos, além da extensão final das fitas de DNA a 72°C por 5min.

3.3.3. Purificação do Produto Amplificado e Reação de Sequenciamento

As amostras amplificadas foram purificadas utilizando as enzimas Thermo Scientific Exonuclease I e Thermo Scientific FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase (Thermo Scientific) por 30 min a 37°C seguido de 15 min a 80°C no termociclador. As amplificações foram submetidas a reação de sequenciamento utilizando o do Kit *Big Dye Terminator Cycle Sequencing* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), em placas contendo o DNA amplificado e purificado, o *primer forward* PRO e o *primer* interno DLSex (5'-AGTGCTCTTCCCATATTATG-3'), 1x do tampão de reação do Big Dye, com volume final

de 10 μ L para cada amostra. As amostras foram submetidas ao termociclador conforme protocolo do fabricante.

Em seguida, as amostras resultantes desta PCR foram submetidas ao protocolo EtOH/EDTA de precipitação e submetidas a eletro-injeção para leitura das sequências nucleotídicas determinadas pelo sequenciador automático ABI PRISM® 3500 seguindo instruções do fabricante.

3.4. Análises dos dados

3.4.1 Edição e organização das matrizes de dados

As sequências foram editadas e alinhadas no programa Geneious (KEARSE et al., 2012) por meio do programa de alinhamento múltiplo Clustal W (THOMPSON et al., 1994), sendo a base para a construção de uma matriz de dados contendo todas as sequências nucleotídicas, revisadas manualmente.

3.4.2. Diversidade genética, testes de neutralidade e distribuição dos haplótipos

Para cada localidade, foram analisados o número de haplótipos (nH) - quantidade de cópias gênicas diferentes em cada localidade; o número de sítios segregantes (S) - as mutações que separam cada haplótipo; a diversidade genética estimada a partir da diversidade haplotípica ($\hat{H}$) - a probabilidade de duas sequências escolhidas aleatoriamente serem diferentes (equivalente a heterozigotidade esperada em marcadores diploides); e a diversidade nucleotídica (Π) - número de nucleotídeos diferentes por sítio entre sequências escolhidas ao acaso em uma população (TAJIMA, 1983; LI, 1987; NEI, 1987).

Os testes de neutralidade D (TAJIMA, 1989) e F_s (FU, 1997), análogos aos testes de equilíbrio de Hardy-Weinberg utilizados em marcadores de origem biparental, são baseados nas frequências dos haplótipos através do modelo de sítios infinitos sem recombinação, apropriados para sequências curtas de DNA como a região *D-Loop*, considerando que as mutações nesse fragmento são independentes e irregulares e que a probabilidade de um mesmo sítio sofrer mutações duas vezes é extremamente pequena (KIMURA, 1969). Valores significantes para estes testes podem indicar que as sequências nucleotídicas mitocondriais não estão evoluindo segundo a hipótese de neutralidade seletiva (ausência de equilíbrio em relação à mutação e à deriva genética) ou que as populações foram anteriormente subdivididas e/ou experimentaram flutuações no passado (não estão em equilíbrio quanto à migração e à deriva genética) (HARTL e CLARK, 1989).

O teste *D* de Tajima correlaciona o número de sítios segregantes e o número médio de diferenças nucleotídicas estimado pela comparação em pares de bases, onde valores negativos estão relacionados com eventos fundadores e expansão demográfica (depois de um gargalo populacional recente, por exemplo) e valores positivos podem estar relacionados com subdivisão populacional (TAJIMA, 1989). Já o *F_s* de *F_u* tende a ser negativo quando existe um excesso de mutações recentes (refletido no número de alelos raros), fornecendo evidências contra a neutralidade das mutações, indicando crescimento populacional (FU, 1997). As análises de diversidade genética e os testes de neutralidade foram estimados no programa Arlequin versão 3.5 (EXCOFFIER e LISCHER 2010).

Para construir a rede haplotípica foi gerada uma árvore de máxima verossimilhança entre as sequências usando o modelo de substituição mais apropriado determinado pela ferramenta *propose model* (HKY[3,1,1,1,1,3], Empirical]) do programa *TreeFinder* v.2011 (JOBBO et al., 2004), que estima a árvore que melhor explica a evolução das sequências através de reconstrução filogenética tradicional. Esta árvore é convertida em genealogias de haplótipos possibilitando a visualização bidimensional das relações, através do programa *HaploViewer* (SALZBURGER et al., 2011).

3.4.3. Estruturação populacional e fluxo gênico

As proporções de diferenciação genética entre as áreas amostradas foram calculadas usando-se a análise de variância molecular – AMOVA (EXCOFFIER et al., 1992) com índices análogos aos índices da estatística *F* de Wright, entre cada localidade amostrada (Φ_{sc}), entre grupos encontrados nas análises genéticas dentro das localidades (Φ_{st}) e entre os indivíduos dentro desses grupos encontrados (Φ_{ct}), com níveis de significância estimados a partir de 10.000 permutações, realizados no programa Arlequin versão 3.5 (EXCOFFIER e LISCHER 2010).

Para medir os níveis de estruturação entre as populações pode-se usar a comparação dos pares de localidades através do índice de fixação Φ_{ST} (análogo ao F_{ST} utilizado em marcadores biparentais) (HUDSON et al., 1992). Esses valores geralmente são inversamente relacionados à habilidade de dispersão, variam de 0 (sem diferenciação entre as populações) a 1 (FRANKHAM et al., 2008), e são estimados no programa Arlequin versão 3.5 (EXCOFFIER e LISCHER 2010). Por se tratar de múltiplas comparações, foi realizada a correção de Bonferroni para inferir o grau de significância do valor *P* (RICE, 1989).

Adicionalmente, o programa BAPS (*Bayesian Analysis of Population Structure*) (CORANDER et al., 2007) foi utilizado para a inferência Bayesiana de estrutura genética das populações. Este *software* trata tanto das frequências nucleotídicas quanto do número de grupos geneticamente diferentes na amostragem. Utilizamos um número fixo de populações especificadas *a priori* de acordo com as localidades amostradas, a fim de encontrar o melhor agrupamento dos indivíduos em *clusters* (K). O número de *clusters* é identificado como o de maior probabilidade. Indivíduos agrupados no mesmo *cluster* possuem o mesmo padrão de cores no gráfico de barras gerado pelo programa, independentemente da localidade de origem.

Os valores do Φ_{ST} foram usados para estimar indiretamente o número efetivo de fêmeas migrantes (equivalente ao fluxo gênico) através da equação $N_{efm} = ((1/F_{ST}) - 1)$ (WEIR e COCKERHAM, 1984) para marcadores mitocondriais, onde N_e é o tamanho efetivo de fêmeas na população e fm é a taxa individual de fêmeas migrantes. O fluxo gênico impõe um limite à diferenciação genética pois quanto maior o número de migrantes, mais intenso é o fluxo gênico entre populações e menor é o nível de estruturação populacional. Desta forma, um número de migrantes maior do que 1 indica que a divergência genética está sendo refreada e a população não está totalmente estruturada (HARTL e CLARK, 1989).

3.4.4. Análises de barreiras naturais

Para testar a hipótese de isolamento por distância foi realizado o teste de Mantel (1967) no programa Arlequin versão 3.5 (EXCOFFIER e LISCHER 2010), com correlação de Spearman através de 10.000 permutações para avaliar a significância (SPEARMAN, 1904). Esse teste avalia a correlação entre as matrizes de diferenças genéticas (Φ_{ST}) e a de distâncias geográficas (dadas em Km, medidas pelo Google Earth seguindo o curso do rio entre cada par de localidades).

Por fim, foram estimadas as barreiras naturais ao fluxo gênico usando o programa Barrier 2.2 (MANNI et al., 2004), que considera a matriz de distâncias genéticas (Φ_{ST}) entre os pares de localidades e o arranjo espacial dos pontos amostrados em um mapa geográfico. Para tanto, são criadas 100 matrizes de *bootstrap* para avaliar os cenários mais prováveis considerando a ocorrência de quatro a 10 barreiras dentro da área amostral. O programa utiliza o algoritmo de máxima diferença de Monmonier (MONMONIER 1973) que é aplicado a uma rede geométrica que liga todas as localidades por uma triangulação de Delaunay (BRASSEL & REIF 1973), testando a significância das fronteiras pelas análises das matrizes com *bootstrap* (MANNI et al., 2004).

4. RESULTADOS

4.1. Diversidade genética, testes de neutralidade e distribuição dos haplótipos

Foram analisados 508pb da alça *D-loop* da região controle do DNA mitocondrial de 300 indivíduos de *P. unifilis*, totalizando 80 haplótipos, 87 sítios polimórficos e altos níveis de diversidade, com 0,92 de diversidade haplotípica ($\hat{H}$) e 0,013 de diversidade nucleotídica (Π).

Analisando cada localidade separadamente (Tabela 2), encontraram-se altos níveis de diversidade haplotípica ($\hat{H}$) em dez populações: 3 - MadeMani, 5 - AmazPari, 7 - NhamTerr, 8 - TromSapu, 9 - TromJara, 10 - TapaJusa, 11 - TapaMont, 12 - XingJusa, 13 - XingMont, 14 - TocaTucu com valores entre 0,74 e 0,97; média diversidade em cinco: 1 - JuruTara, 4 - MadeGuap, 6 - AmazBarr, 15 - Tocaltup e 16 - AragAnto, com valores entre 0,43 e 0,60; e baixa em 2 - Jurultam e 17 - AragXamb com 0,32 e 0,40 respectivamente.

Os níveis de diversidades nucleotídicas (Π) foram altos nas populações 3 - MadeMani, 5 - AmazPari, 7 - NhamTerr, 8 - TromSapu, 9 - TromJara, 10 - TapaJusa, 11 - TapaMont, 12 - XingJusa entre 0,007 e 0,02, onde 11 - TapaMont apresentou o maior índice; e baixas nas populações 1 - JuruTara, 2 - Jurultam, 4 - MadeGuap, 6 - AmazBarr, 13 - XingMont, 14 - TocaTucu, 15 - Tocaltup, 16 - AragAnto e 17 - AragXamb entre 0,001 e 0,005, sendo 2 - Jurultam com menor índice.

Apenas o teste *D* de Tajima foi significativo e somente em 2 - Jurultam, 15 - Tocaltup e 16 - AragAnto, indicando que as demais populações estão evoluindo segundo a hipótese de neutralidade seletiva em relação aos haplótipos da região *D-loop* do DNA mitocondrial. Quando analisadas todas as localidades juntas ambos os testes mostraram valores negativos significativos ($D = -1,57$ ($P < 0,03$); $F_s = -24,51571$ ($P < 0,00$)). O resumo das medidas por população pode ser visualizado na Tabela 02 abaixo.

Tabela 02 – Índices de diversidade genética e testes de neutralidade das populações de *P. unifilis*.

Região	<i>N</i>	<i>nH</i>	<i>S</i>	$\hat{H}$	Π	<i>D</i>	<i>F_s</i>
1 - JuruTara	12	3	3	0,4394 +/- 0,1581	0,001470 +/- 0,001314	-0,82879	0,10495
2 - Jurultam	12	3	3	0,3182 +/- 0,1637	0,000990 +/- 0,001017	-1,62929	-0,61396
3 - MadeMani	16	7	12	0,7750 +/- 0,0876	0,007360 +/- 0,004393	0,10593	0,08084
4 - MadeGuap	19	3	6	0,4327 +/- 0,1167	0,004400 +/- 0,002837	0,95327	3,50430
5 - AmazPari	22	6	10	0,7359 +/- 0,0704	0,007458 +/- 0,004360	1,27174	1,88124
6 - AmazBarr	17	4	8	0,5000 +/- 0,1355	0,005242 +/- 0,003291	0,41953	2,37282

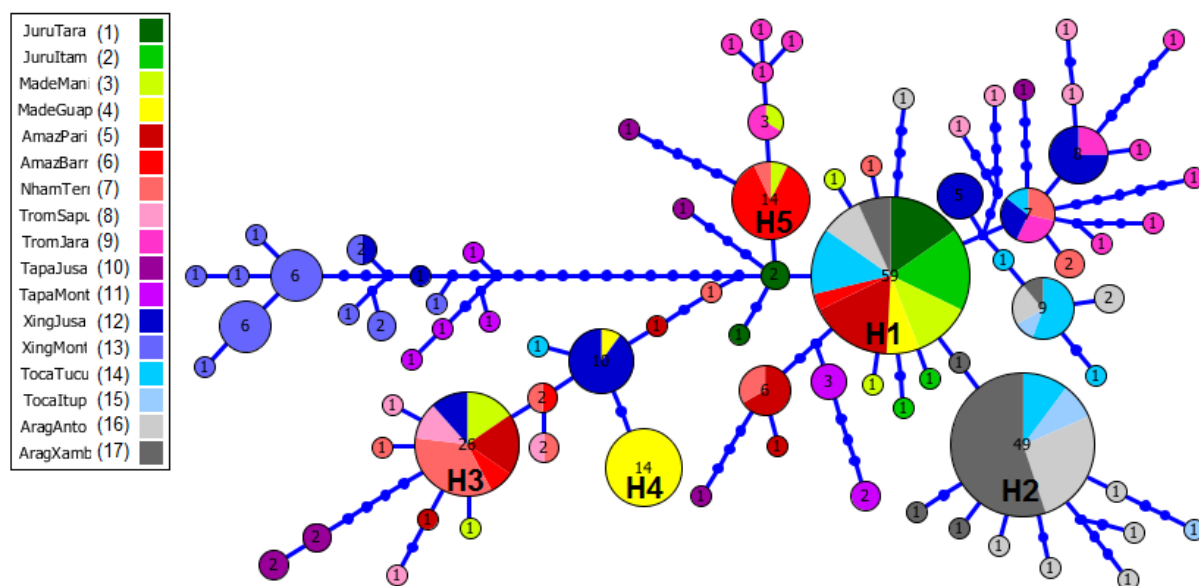
7 - NhamTerr	21	10	14	0,8143 +/- 0,0809	0,009128 +/- 0,005208	0,66743	-0,96699
8 - TromSapu	10	8	16	0,9333 +/- 0,0773	0,012717 +/- 0,007442	0,62733	-1,133709
9 - TromJara	15	12	21	0,9714 +/- 0,0327	0,009335 +/- 0,005427	-1,11037	-5,08318
10 - TapaJusa	8	6	15	0,9286 +/- 0,0844	0,011952 +/- 0,007257	0,22163	-0,09629
11 - TapaMont	9	6	21	0,889 +/- 0,0910	0,020669 +/- 0,011814	1,97481	1,68338
12 - XingJusa	27	7	23	0,8148 +/- 0,0434	0,011463 +/- 0,006300	0,05169	3,30947
13 - XingMont	21	10	11	0,8524 +/- 0,0552	0,004743 +/- 0,002993	-0,69332	-3,50627
14 - TocaTucu	22	7	11	0,7922 +/- 0,0544	0,004020 +/- 0,002620	-1,13209	-0,96356
15 - Tocaltup	6	3	7	0,6000 +/- 0,2152	0,004620 +/- 0,003374	-1,39031	1,31156
16 - AragAnto	28	10	18	0,7619 +/- 0,0743	0,004772 +/- 0,002973	-1,67261	-2,5324
17 - AragXamb	35	6	6	0,4000 +/- 0,1001	0,001531 +/- 0,001274	-1,29082	-2,24367
Total	300	80	87				

Legenda: N = número de indivíduos; nH = número de haplótipos; S = número de sítios segregantes (polimórficos); $\hat{H}$ = diversidade haplotípica de Nei; π = diversidade nucleotídica de Nei; D = teste D de Tajima (valores significativos de $P < 0.05$ em negrito) e F_s = teste F_s de Fu (valores significativos de $P < 0.02$ em negrito).

Dos 80 haplótipos amostrados, 55 são únicos e 3 mais frequentes, com indivíduos de várias localidades (Figura 07). O haplótipo mais abundante (H1), com 59 indivíduos provenientes dos rios Juruá, Madeira, Amazonas, Tocantins e Araguaia. O segundo (H2) com 49 indivíduos apenas da bacia Tocantins-Araguaia. O terceiro mais frequente (H3) foi representado por 28 indivíduos das localidades 3 - MadeMani, 5 - AmazPari, 6 - AmazBarr, 7 - NhamTerr, 8 - TromSapu e 12 - XingJusa. Podemos destacar o haplótipo com 14 indivíduos de 4 - MadeGuap (H4) e alguns haplótipos pouco amostrados com mais de 10 passos mutacionais em relação aos demais, que são provenientes do 11 - TapaMont, 13 - XingMont e 12 - XingJusa.

A distribuição dos haplótipos evidencia alguns haplogrupos formados por indivíduos a montante do Xingu e Tapajós, indivíduos a montante do rio Araguaia, indivíduos a montante do Madeira (Guaporé). Os outros haplótipos apresentam uma distribuição com maior compartilhamento dos indivíduos entre as localidades.

Figura 07 – Rede de haplótipos baseada nas sequências da região *D-loop* do DNAm.



*Os círculos azuis menores representam os passos mutacionais entre os haplótipos.

**Os demais círculos representam haplótipos diferentes, os valores dentro dos círculos indicam quantos indivíduos foram amostrados em tal haplótipo.

4.2. Estruturação populacional e fluxo gênico

A análise de variância molecular (AMOVA) mostrou que 53,92% da variação está distribuída entre as populações e 46,08% dentro de cada população, indicando um alto grau de subdivisão genética populacional entre as localidades amostradas ($\Phi_{st} = 0.54$, $p < 0.0000$), o que também é verificado quando analisados os valores pareados de Φ_{st} , onde cerca de 77% das comparações foram significativas (parte inferior da Tabela 03). As localidades 13 - XingMont, 4 - MadeGuap e 9 - TromJara separadamente, apresentam diferenciação em relação as demais (valores significativos de Φ_{st} em todas as comparações). 10 - TapaJusa só não é diferente de 11 - TapaMont; 17 - AragXamb é diferente de todas, exceto 15 - Tocaltup e 16 - AragAnto; e 16 - AragAnto só não é diferente de 14 - TocaTucu, 15 - Tocaltup e 17 - AragXamb.

Analisando a estimativa do número de fêmeas migrantes (Nefm) por geração entre as localidades estudadas, a maioria apresentou valores menores que 1. Apesar disso, algumas comparações sugerem um número alto ou moderado de migrantes como entre 7 - NhamTerr e 8 - TromSapu (com 12,64 migrantes) e 16 - AragAnto e 17 - AragXamb (com 10,04), os demais foram menores que 6,83 (entre 1 - JuruTara e 2 - Jurultam) (parte superior da Tabela 03). Observou-se mais de uma fêmea migrante entre as localidades com diferenciação encontrada na comparação do Φ_{st} , como em 4 - MadeGuap que possui pouco mais de um migrante entre 7 - NhamTerr e entre 12 - XingJusa. O mesmo foi

observado entre 9 - TromJara com 3 - MadeMani e com 6 - AmazBarr. Dentre as populações sem diferenciação, foi observado um fluxo gênico infinito apenas entre 15 - Tocaltup e 16 - AragAnto, já entre 7 - NhamTerr e 8 - TromSapu, também sem diferenças, possuem 12,64 migrantes por geração. Entre 3 - MadeMani e 5 - AmazPari, com média diferenciação, existem 230,76. Dentre as populações com alta diferenciação, 12 comparações apresentaram pelo menos uma fêmea migrante por geração.

Tabela 03 - Comparação par a par dos valores de Φ_{st} das populações (abaixo), e número de fêmeas migrantes de tracajá por geração entre as populações amostradas (acima).

	Juru Tara	Juru Itam	Made Mani	Made Guap	Amaz Pari	Amaz Barr	Nham Terr	Trom Sapu	Trom Jara	Tapa Jusa	Tapa Mont	Xing Jusa	Xing Mont	Toca Tucu	Toca Itup	Arag Anto	Arag Xamb
Juru Tara	-	6,83	2,63	0,23	2,44	1,24	0,83	0,65	0,95	0,26	0,77	1,79	0,06	3,42	0,43	1,15	0,26
Juru Itam	0,06818	-	2,44	0,22	2,6	0,84	0,83	0,62	0,85	0,42	0,7	1,78	0,06	4,13	0,38	1,18	0,25
Made Mani	0,15977	0,16981	-	0,70	230,76	2,52	7,04	3,17	1,09	0,54	0,97	6,26	0,11	3,21	1,01	1,12	0,43
Made Guap	0,6808	0,69006	0,4165	-	0,69	0,35	1,00	0,69	0,32	0,28	0,42	1,22	0,08	0,36	0,24	0,28	0,13
Amaz Pari	0,16983	0,1611	0,00216	0,421	-	1,53	4,65	2,13	0,9	0,51	0,09	4,22	0,12	2,88	1,01	1,12	0,48
Amaz Barr	0,28792	0,37446	0,1658	0,5907	0,24662	-	1,06	0,86	1,02	0,36	0,75	1,52	0,09	1,02	0,55	0,67	0,27
Nham Terr	0,37366	0,37678	0,06633	0,3329	0,09713	0,32131	-	12,64	0,77	0,62	0,78	6	0,12	1,05	0,7	0,63	0,32
Trom Sapu	0,43448	0,44529	0,13618	0,4215	0,19017	0,36876	0,03807	-	0,87	0,70	0,93	3,61	0,12	0,75	0,71	0,52	0,24
Trom Jara	0,34374	0,36907	0,31381	0,6131	0,35597	0,32899	0,39298	0,36506	-	0,40	0,72	1,62	0,11	0,89	0,70	0,62	0,3
Tapa Jusa	0,65821	0,67377	0,48058	0,6406	0,49576	0,58058	0,44562	0,41527	0,55544	-	1,23	0,7	0,12	0,29	0,35	0,25	0,12
Tapa Mont	0,39449	0,41493	0,34121	0,5384	0,35651	0,40132	0,3895	0,34855	0,41021	0,28818	-	1,12	0,36	0,6	0,86	0,5	0,26
Xing Jusa	0,21858	0,21944	0,07393	0,2892	0,10575	0,24805	0,0769	0,12142	0,23537	0,4171	0,30846	-	0,17	2,19	1,16	1,01	0,54
Xing Mont	0,88761	0,89528	0,82358	0,8585	0,81121	0,84598	0,79861	0,80431	0,82545	0,8056	0,58062	0,7413	-	0,07	0,07	0,08	0,04
Toca Tucu	0,1277	0,10805	0,13468	0,58147	0,14778	0,32937	0,3223	0,39923	0,36066	0,62967	0,45071	0,1856	0,87037	-	1,52	3,21	0,73
Toca Itup	0,53898	0,56866	0,33132	0,6718	0,33056	0,47688	0,41794	0,41428	0,41648	0,58905	0,36792	0,3017	0,87104	0,24717	-	inf	12,72

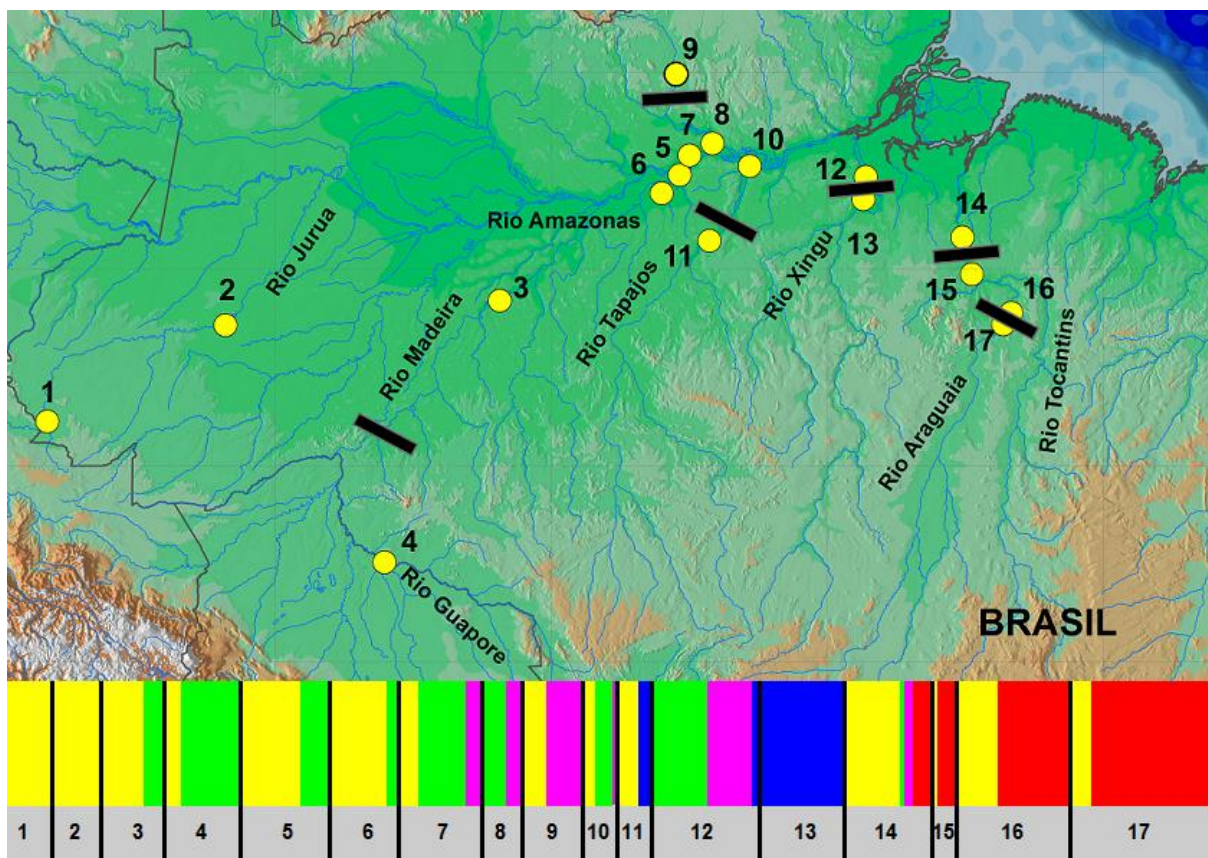
Arag Anto	0,30238	0,29684	0,30727	0,6385	0,30707	0,424826	0,44305	0,49228	0,44538	0,66306	0,50095	0,3303	0,86568	0,13472	0,0236 7	-	10,04
Arag Xamb	0,6557	0,66558	0,53973	0,7938	0,51011	0,6474	0,60772	0,67601	0,62437	0,80728	0,65651	0,4797	0,92187	0,40398	0,0377 9	0,04743	-

***Em negrito** valores de Φ_{st} significativos (com $P < 0.0003$ após correção de Bonferroni).

A análise Bayesiana de estrutura populacional indicou a ocorrência de cinco grupos biológicos (K=5) entre os indivíduos (Figura 08). O grupo em amarelo, tem sua distribuição desde a amostragem do rio Juruá, sendo encontrado em quase todas as localidades até o leste da Amazônia, com exceção dos grupos dos indivíduos do Lago Sapucaá, no rio Trombetas (8 - TromSapu), e os indivíduos a jusante e a montante do rio Xingu (12 - XingJusa e 13 - XingMont). O grupo verde surge a partir da bacia do rio Madeira (3 - MadeMani e 4 - MadeGuap), sendo encontrado até Tucuruí-PA (14 - TocaTucu), no rio Tocantins. O grupo rosa, inicia a partir da área central da bacia do rio Amazonas (7 a 12), aparentemente mais restrito aos rios Nhamundá, Trombetas, baixo rio Xingu sendo encontrada também na população de Tucuruí-PA (14 - TocaTucu). O grupo azul, surge a partir da bacia do rio Tapajós (11 - TapaMont) e Jusante do Xingu (12 - XingJusa). O grupo vermelho é restrito às localidades da bacia do rio Tocantins-Araguaia (14 - TocaTucu, 15 - Tocaltup, 16 - AragAnto e 17 - AragXamb), não tendo sido observado em nenhuma população da bacia do rio Amazonas.

A população a montante do Xingu (13 - XingMont) aparece como um grupo representado pela cor azul, que também apresenta indivíduos das localidades a montante do Tapajós (11 - TapaMont) e Jusante do Xingu (12 - XingJusa). O grupo vermelho é restrito às localidades da bacia do rio Tocantins-Araguaia (14 - TocaTucu, 15 - Tocaltup, 16 - AragAnto e 17 - AragXamb), não tendo sido observado em nenhuma população da bacia do rio Amazonas.

Figura 08 – Mapa com a amostragem do presente estudo e o gráfico gerado no BAPS mostrando os níveis de estruturação para *P. unifilis* baseado na região controle do DNA mitocondrial.



*Os círculos amarelos são os pontos amostrados e os valores em preto representam os números das populações de acordo com a Tabela 01.

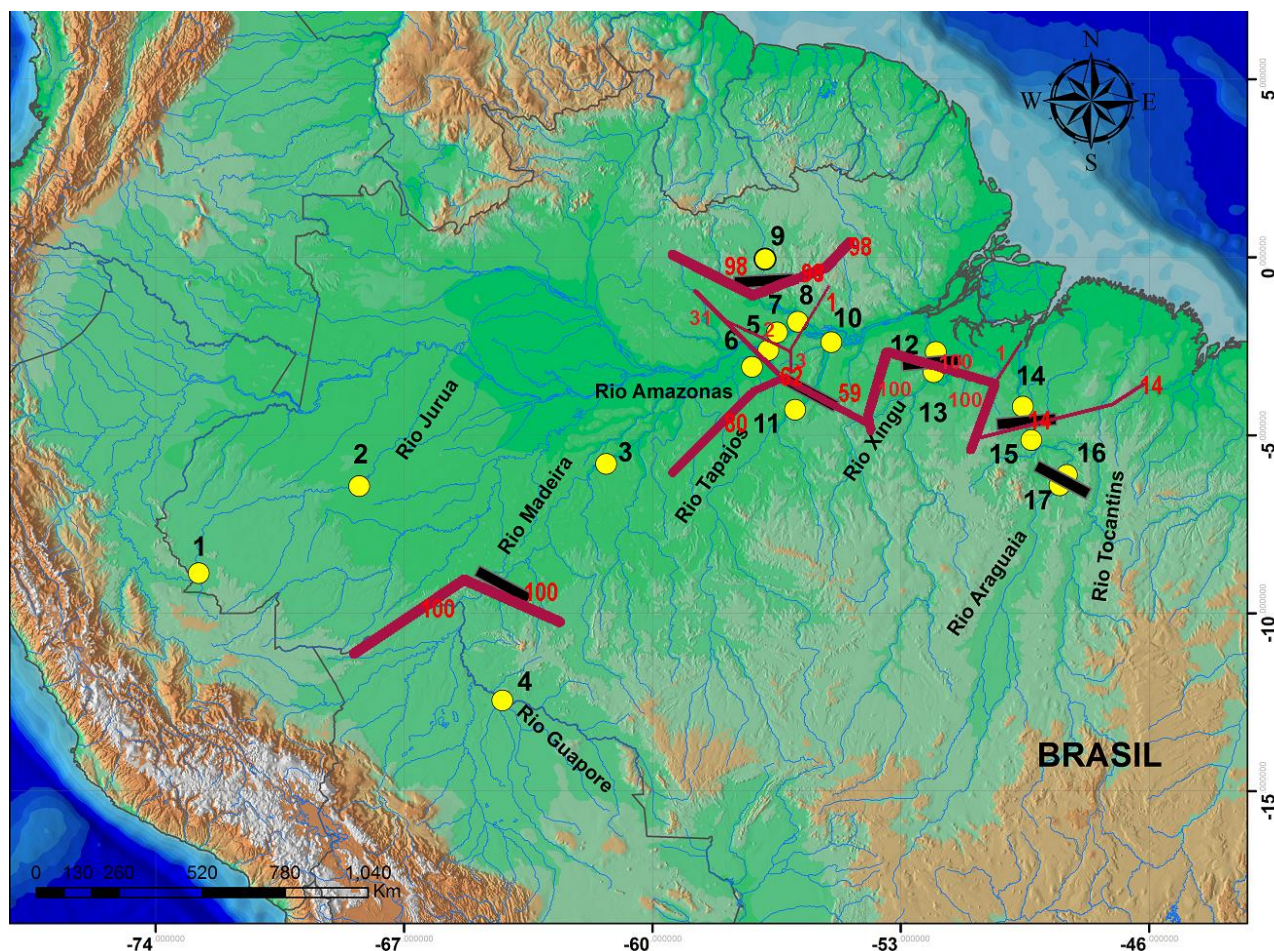
**As barras pretas representam as regiões de corredeiras e/ou cachoeiras amostradas.

4.3. Análises de barreiras naturais

Apesar das localidades apresentarem distâncias de 4.972 km a 48 km entre si, o teste de Mantel não apresentou valores significativos ($r^2 = 0.128$, $P = 0,195$), nem mesmo quando reanalisamos sem as populações que apresentaram diferenciação ($r^2 = 0.146$, $P = 0,268$). Esse é um indicativo de que as diferenças observadas entre as populações não são explicadas apenas devido a distância geográfica.

As análises pelo programa Barrier corroboram com as diferenciações de populações vistas nos demais resultados. Foram inferidas de 4 a 5 barreiras, que indicaram a presença total ou parcial de barreiras entre as populações (Figura 09): 4 - MadeGuap, 13 - XingMont, 9 - TromJara, 11 - TapaMont, e de maneira mais sutil em 14 - TocaTucu, e 6 - AmazBarr.

Figura 09 – Distribuição dos pontos geográficos amostrados e as possíveis barreiras naturais inferidas pelo Barrier.



*Os círculos amarelos são os pontos amostrados e os valores em preto representam os números das populações de acordo com a Tabela 01.

**As barras pretas representam as regiões de corredeiras e/ou cachoeiras amostradas.

***As barras vermelhas representam as barreiras inferidas no Barrier e os números em vermelho representam em quantas matrizes de bootstrap essas barreiras foram visualizadas;

5. DISCUSSÃO

5.1. Padrões diversidade genética em *Podocnemis unifilis*

O tracajá mostrou índices de diversidade genética heterogêneos entre as localidades, com valores altos (em sua grande maioria) a baixos em algumas poucas localidades. Os altos níveis de diversidade genética expressados pelos valores de diversidade haplotípica, também foram verificados para a mesma espécie através de marcadores nucleares obtidos para as populações da Amazônia ocidental (PEARSE et al., 2006; ESCALONA et al., 2009) e em outras espécies do gênero com a região *D-loop* (PEARSE et al., 2006; SANTOS et al., 2016).

Pode ser que as populações tenham capacidade de aumentar a diversidade genética, se a redução do número populacional não persistir (FRANKHAM et al., 2008), mas, provavelmente a exploração sofrida historicamente pela espécie ainda não afetou os níveis de diversidade genética observados no DNA mitocondrial. Escalona e colaboradores (2008) utilizando marcadores nucleares microssatélites, encontraram altos níveis de diversidade genética, entretanto, as populações de *P. unifilis* evidenciaram sinais de reduções nos tamanhos populacionais. O mesmo foi verificado por Pearse et al. (2006) com *P. expansa* com esses marcadores, mas, assim como nos dados aqui apresentados, através de dados mitocondriais, os resultados dos testes de neutralidade indicaram que as populações estão evoluindo segundo a hipótese de neutralidade seletiva em relação aos haplótipos da região *D-loop* (HARTL e CLARK, 1989).

Desta forma, a alta diversidade genética observada nas populações de *P. unifilis* da Amazônia brasileira tem que ser vista com cautela, uma vez que alta diversidade genética também tem sido observada em outras espécies de quelônios que foram bastante exploradas no passado, e que tiveram suas populações reduzidas significativamente (KUO e JANSEN, 2004; PEARSE et al., 2006; ESCALONA et al., 2008; WILLOUGHBY et al., 2013). Esta alta diversidade pode ser o reflexo de uma variabilidade genética histórica que tem sido tamponada das reduções populacionais pelas características do estilo de vida dos quelônios, como a longevidade das espécies, sobreposição das gerações, maturação tardia e pela paternidade múltipla (FANTIN et al., 2008). Assim, é recomendável que se obtenha dados de outros marcadores moleculares, como microssatélites, para *P. unifilis* das populações da Amazônia brasileira, para verificar se suas populações passaram por uma redução no tamanho efetivo populacional em um passado mais recente.

5.2. Fatores causais da estrutura genética

Corroborando com características ecológicas da espécie de não possuir altos índices de migração (VOGT, 2008), os resultados evidenciaram grande estruturação entre as populações, através das análises da AMOVA (alto grau de subdivisão), Φ_{st} (maioria das comparações com diferenças significativas entre si), fluxo gênico baixo, BAPS (com grupos dentro da amostragem) e *haploview* (evidenciando haplogrupos). A estruturação foi observada entre drenagens de diferentes rios bem como dentro de um mesmo sistema de rio.

O padrão da estruturação genética mostrou-se complexo e provavelmente influenciado pelas características geomorfológicas e ecológicas dos ambientes presentes nos rios do sistema de drenagem da bacia Amazônica e bacia Tocantins-Araguaia. Os principais grupos populacionais observados baseados em todas as análises são: alguns grupos mais restritos como a população de Barreirinha, a do médio rio Trombetas, o rio Tapajós, no Xingu a montante e a jusante da cachoeira da Volta Grande, no rio Guaporé, as localidades acima da hidrelétrica de Tucuruí no rio Araguaia e um grupo principal que inclui as localidades do médio e alto rio Juruá, baixo rio Madeira, localidades do baixo rio Amazonas e baixo rio Tocantins, seguindo um padrão de distribuição de grupos haplotípicos no sentido do oeste para leste da bacia.

Através deste grupo principal, pode-se sugerir uma ausência de estruturação dentro da região da várzea amazônica (Figura 10) entre localidades não separadas por cachoeiras e corredeiras. Esse padrão de ausência de diferenciação genética na calha do sistema Solimões-Amazonas, e principalmente na região da várzea amazônica, foi similar ao observado por Pearse et al. (2006) para *P. expansa*. Os autores encontraram um padrão de estruturação entre bacias, e ausência de estruturação dentro das bacias dos rios, onde o grupo “Cluster Amazon” (localidades indo da drenagem do Peru até baixo rio Tapajós, localidades da calha do rio Amazonas) apresentou ausência de estruturação. O mesmo foi verificado para outros organismos da bacia Amazônica (HRBEK et al. 2005; FARIAS et al. 2010; WILLIS et al. 2012b; FREDERICO et al. 2012; OCHOA et al. 2015) os quais as populações da calha principal do Amazonas (sistema de águas brancas da várzea) não apresentaram estruturação genética.

A estrutura observada entre a população de Barreirinha e as demais amostradas também foi vista para irapuca (*Podocnemis erythrocephala*) por Santos e colaboradores (2016). Como a espécie ocorre basicamente em lagos e rios de água preta, os autores associaram a diferenciação pelo fato da localidade ser a única amostrada do lado direito do

rio Amazonas. Foi sugerido que o rio Amazonas, pela sua extensão e propriedades físico-químicas poderia ser uma barreira ao fluxo gênico.

É possível que questões ecológicas relacionadas ao tipo de água possam estar contribuindo para a diferenciação observada em nossos dados. O tracajá habita rios e lagos de águas brancas, claras e pretas (PRITCHARD & TREBBAU 1984; RUEDA-ALMONACID et al. 2007), e esta tolerância aos diferentes tipos de corpos d'água pode refletir em adaptações locais relacionadas a estes ambientes.

Diferenças ecológicas entre as populações nestes diferentes ambientes podem resultar em limitações nos padrões de dispersão e estilo de vida que poderiam levar a diferenciação genética de suas populações, sendo assim caracterizadas como uma barreira ecológica para a espécie. Isto pode ter alguma relação uma vez que os lagos presentes na drenagem de Barreirinha são de água preta, e as populações dos rios Tapajós e Xingu (caracterizados como rios de água claras) também se mostraram diferenciadas em relação as demais localidades, assim como o grupo principal citado acima, que corresponde a localidades que estão principalmente na várzea Amazônica, de drenagem de água branca. O efeito de diferentes tipos de águas influenciando nos padrões de diferenciação genética também foi evidenciado com o jacaré-açu (*Melanosuchus niger*), através de estrutura genética relacionada a tipos de águas preta e branca em rios da bacia Amazônica e drenagem da Guiana Francesa (FARIAS et al., 2004; THOISY et al., 2006 e VASCONCELOS et al., 2006).

Nas drenagens do Amazonas (ocidental) e Orinoco, Escalona e colaboradores (2009) evidenciaram forte estrutura populacional para *P. unifilis*, mas apenas uma localidade (rio Trombetas) foi amostrada para a Amazônia brasileira. Dentro de cada bacia de drenagem os autores também observaram estruturação, principalmente na drenagem do rio Orinoco a qual associaram a isolamento por distância e heterogeneidade ambiental do sistema de drenagem, incluindo a presença de barreiras físicas como cachoeiras e corredeiras.

Estruturação genética entre populações causada pela ausência de fluxo gênico, ou fluxo gênico restrito, dentro de um mesmo rio foi observada para indivíduos de *P. unifilis* coletados nos rios Madeira, Tapajós, Trombetas, Xingu e Araguaia-Tocantins. Em todos esses casos foi observado que a estruturação pode estar associada a presença de cachoeiras e corredeiras no curso do rio, uma vez que os tipos de água (ou seja, uma barreira ecológica), pode ser descartada. Resultado evidenciado principalmente pelo programa *Barrier*.

Além de *P. unifilis*, padrões de diferenciação genético-populacional sugerindo

cachoeiras e corredeiras como barreiras ao fluxo gênico foram observados também para populações de *Podocnemis erythrocephala* no alto rio Negro, a montante e jusante da cachoeira de São Gabriel da Cachoeira, e localidades a montante e jusante do rio Jaú, também da drenagem do rio Negro. Este padrão tem sido sugerido em outros grupos para explicar as diferenciações causadas pela presença das cachoeiras/corredeiras do alto rio Madeira, por exemplo, para peixes (LOVEJOY e COLLETTE 2001), anfíbios (SIMÕES et al., 2012), jacarés (HRBEK et al., 2008), botos (GRAVENA et al., 2014 e 2015), e principalmente, para explicar o padrão de estruturação observado na tartaruga da Amazônia (PEARSE et al., 2006). Trabalhos realizados em outros sistemas de drenagem também sugerem estruturas geomorfológicas como responsáveis pelos padrões de fluxo gênico unidirecional e aumento da diversidade genética no sentido de montante para jusante, seguindo o fluxo do rio (HERNANDEZ-MARTICH e SMITH, 1990; CASTRIC et al., 2001; TATARENKOV et al., 2010).

Um resultado interessante e intrigante, foi a proximidade de haplótipos das populações a montante do Tapajós e Xingu com vários passos mutacionais em relação as demais. Pode ser que a conexão entre essas populações se faça entre as drenagens das cabeceiras destes rios, pois, essa conexão de corpos d'água, foi reportado no século XX, através de uma travessia a pé entre os rios Xingu e Tapajós, percorrendo um território até então desconhecido pela cartografia (JUNGHANS, 2008). De qualquer maneira não se pode descartar uma captura de cabeceiras para a explicação deste compartilhamento

Drenagem da bacia Amazônica x bacia do rio Tocantins-Araguaia

Acredita-se que a bacia Tocantins-Araguaia tenha se divergido da bacia do Amazonas no período do Pleistoceno e reconectado durante o Holoceno, junto com a formação da ilha de Marajó (PEARSE et al., 2006; ROSSETTI e VALERIANO, 2007). Além disso, nossas análises indicaram diferenças populacionais entre as bacias, Tocantins-Araguaia aparece como um grupo diferenciado no BAPS (vermelho) que não ocorre nas localidades do Amazonas, além de possuir haplótipos exclusivos da bacia. Esse padrão de separação foi evidenciado para populações de *P. expansa* (PEARSE et al., 2006), para espécies de peixes (AMARAL et al., 2013) e até boto (Hrbek et al., 2014).

Dentro da bacia encontram-se possíveis barreiras, tendo em vista a alta diferença da localidade 17 - AragXamb com as demais populações fora da bacia. Essas corredeiras, associadas com a antiga cachoeira de Itaboca submersa pela UHE Tucuruí podem ser responsáveis pelo nível de estruturação encontrado.

As únicas localidades com fluxo infinito foram entre 15 - Tocaltup e 16 - AragAnto, possivelmente por estarem entre as corredeiras submersas pela hidrelétrica de Tucuruí e as corredeiras de Santa Isabel do Araguaia, isso foi evidenciado também através do teste *D* de Tajima, que mostrou valores significativos em 15 - Tocaltup e 16 - AragAnto, mostrando que essas populações foram anteriormente subdivididas, não estando em equilíbrio quanto à migração e à deriva genética no DNA mitocondrial (HARTL e CLARK, 1989).

Há uma conexão de 17 - AragXamb com 16 - AragAnto e 15 - Tocaltup, mas com fluxo reduzido indicando que as corredeiras de Santa Isabel apesar de não serem uma barreira total, diminuem o fluxo entre elas e possivelmente é responsável pela baixa diversidade dessa localidade.

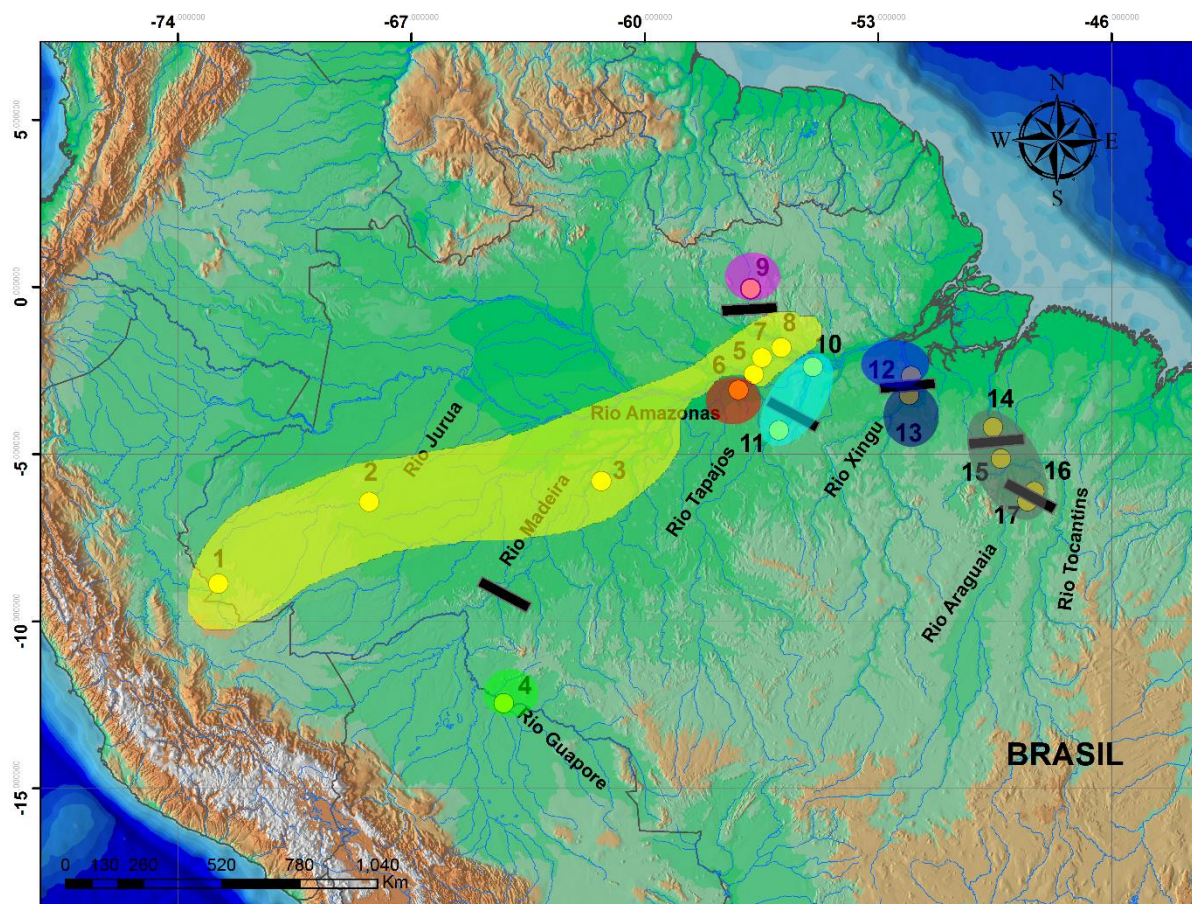
As diferenças geomorfológicas que causaram estruturação entre as populações podem ser analisadas no mapa geológico anexado no presente trabalho, que mostra os locais das quebras geológicas entre as localidades amostradas (anexo I).

5.3. Implicações para a conservação

Através de uma análise global dos dados obtidos, sugeriram-se Unidades de Manejo (Management Units - MUs) para o tracajá na Amazônia brasileira, que podem ser administradas como populações biologicamente independentes, uma vez que representam linhagens geneticamente distintas de acordo com os critérios definidos por Moritz (1994).

Com isso, sugerimos como 8 MUs distintas, os seguintes grupos em nossa amostragem (Figura 10): Barreirinha (6 - AmazBarr - em vermelho no mapa), médio rio Trombetas (9 - TromJara - rosa), jusante e montante da cachoeira de São Luiz do Tapajós (10 - TapaJusa e 11 - TapaMont - azul esverdeado), montante da cachoeira da Volta Grande do Xingu (13 - XingMont - azul marinho), jusante da cachoeira da Volta Grande do Xingu (12 - XingJusa – azul escuro), o rio Guaporé (4 - MadeGuap - verde), a bacia Tocantins-Araguaia (14 - TocaTucu, 15 - Tocaltup, 16 - AragAnto e 17 - AragXamb - cinza) e o grupo principal da região da várzea amazônica com as demais localidades (1 - JuruTara, 2 - Jurultam, 3 - MadeMani, 5 - AmazPari, 7 - NhamTerr e 8 - TromSapu - amarelo).

Figura 10 – Unidades de Manejo consideradas no presente estudo.



*Os círculos amarelos são os pontos amostrados e os valores em preto representam os números das populações de acordo com a Tabela 01.

**As barras pretas representam as regiões de corredeiras e/ou cachoeiras amostradas.

Com isso, projetos de manejo participativo de quelônios amazônicos podem utilizar esses dados na tomada de decisão dos locais de soltura dos filhotes, não se limitando apenas onde já existe o projeto, aumentando assim a integração dos comunitários da região e ajudando a reintroduzir indivíduos em locais impactados.

As informações contidas nessa dissertação devem ser levadas em consideração para contribuir nas decisões sobre empreendimentos, pois atualmente os Estudos de Impacto Ambiental (EIA) tem uma tendência a minimizar ou ignorar impactos significativos (FEARNSIDE 2015) com embasamento técnico-científico insuficiente.

Esses empreendimentos consistem não somente em aproveitamentos hidrelétricos, tendo em vista que o médio rio Trombetas possui uma mineradora que pode estar causando impacto nas populações de quelônios também devido ao tráfego intenso de embarcações. Além disso, houve o transporte de quelônios realizado por técnicos do Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (IBDF), do rio Trombetas para o rio Tapajós entre os anos de

1970 e 1974, visando a preservação dos animais (Alfinito et al. 1976), verificado geneticamente por Pearse e colaboradores (2006), o que de acordo com os nossos dados, não poderia ter sido realizado devido as diferenças genéticas dessas populações. Isso explicaria inclusive a proximidade genética de haplótipos de *P. unifilis* entre as localidades dos rios Trombetas e Tapajós.

Os dados também fornecem informações importantes para serem utilizadas na fiscalização e apreensão do comércio ilegal de tracajás, para descobrir a real origem dos indivíduos capturados, auxiliando na decisão do local de soltura, ajudando a manter a diversidade genética da espécie.

De qualquer forma, decisões para gestão e conservação de espécies são complexas, com isso, outras fontes de informação devem entrar no processo de tomada de decisão, incluindo marcadores a partir do genoma nuclear, que podem apresentar diferentes padrões, e o papel ecológico das populações (CARDOSO, 2016).

6. CONCLUSÃO

- Os indivíduos de *Podocnemis unifilis* apresentaram altos valores de diversidade genética;
- Fluxo genético restrito com altos níveis de estruturação entre as localidades;
- As cachoeiras e corredeiras limitam o fluxo genético entre populações de tracajá nos rios Madeira, Tapajós, Trombetas, Xingu e Tocantins-Araguaia;
- Definimos 8 Unidades de Manejo distintas: Barreirinha, médio rio Trombetas, rio Tapajós, montante da cachoeira da Volta Grande do Xingu, jussante da cachoeira da Volta Grande do Xingu, rio Guaporé, bacia Tocantins-Araguaia e o grupo principal da região da várzea amazônica com as demais populações.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELL, R.; THIEME, M. L.; REVENGA, C.; BRYER, M.; et al. **Freshwater Ecoregions of the World: A New Map of Biogeographic Units for Freshwater Biodiversity Conservation**. BioScience, 58(5): 403–414, 2008.
- ALHO, C. J. R. **Environmental effects of hydropower reservoirs on wild mammals and freshwater turtles in Amazonia: a review**. Oecologia Australis, Brasil, n. , p.593-604, set. 2011.
- ALFINITO, J. **Fundamentos ao serviço de proteção à tartaruga. Preservação da tartaruga da Amazônia**. Ministério da Agricultura. DEMA/ PA, IBDF, Belém (PA), p. 1-36, 1973.
- ALFINITO, J.; VIANNA, C. M.; SILVA, M. M. F.; Rodrigues, H. **Transferência de tartarugas do rio Trombetas para o rio Tapajós**. Brasil Florestal, 7(26), 49-53. 1976.
- AMARAL, C. R. L.; BRITO, P. M.; SILVA, D. A.; CARVALHO, E. F. **A new cryptic species of South american freshwater pufferfish of the genus *Colomesus* (Tetraodontidae), based on both morphology and DNA data**. PLoS One 8:e74397. 2013.
- ANDRADE, P. M. C. **Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas: (Projeto diagnóstico da criação de animais silvestres no estado do Amazonas)**. Pró Várzea. 2007.
- AYRES, J. M. **As matas de várzea do Mamirauá: médio rio Solimões**. Sociedade Brasileira Civil Mamirauá, Brasília. 130pp. 1995.
- BANGUERA-HINESTROZA, E.; CARDENAS, H.; RUIZ-GARCIA, M.; MARMONTEL, M.; GAITA' N, E.; VAZQUEZ, R.; GARCIA-VALLEJO, F. **Molecular Identification of Evolutionarily Significant Units in the Amazon River Dolphin *Inia* sp. (Cetacea: Iniidae)**. The American Genetic Association 93:312-322. 2002.
- BÉRNILS, R. S.; H. C. COSTA (org.). **Répteis brasileiros: Lista de espécies. Versão 2012.1**. Disponível em <http://www.sbherpetologia.org.br/>. Sociedade Brasileira de Herpetologia. Acessada em 18 de julho de 2016. 2012.
- BRASSEL, K.E.; D. REIF. **A procedure to generate Thiessen polygons**. Geogr. Anal., 325:31-36. 1979.
- CAGLE, F. R. **A system for marking turtles for future identification**. Copeia 1939:170 - 173. doi:10.2307/1436818. 1939.
- CASTRIC, V.; BONNEY, F.; BERNATCHEZ, L. **Landscape structure and hierarchical genetic diversity in the brook charr, *Salvelinus fontinalis***. Evolution 55, 1016–1028. 2001.
- CONGDON, J. D.; DUNHAN, A. E.; VAN LOBEN SELS, R. C. **Delayed sexual maturity and demographics of Blanding's turtles (*Emydoidea blandingii*): Implications for conservation and management of long lives organisms**. Conservation. Biology7(4):826-833. 1993.
- CORANDER, J.; WALDMANN, P.; MARTTINEN, P.; SILLANPAA, M. J. **Baps 2: enhanced possibilities for the analysis of genetic population structure**. Bioinformatics, 20, 2363-2369. 2007.

- ERNST, C. H.; BARBOUR, R. W. **Turtles of the World**. Washington, Smithsonian Institution Press. 313 pp. 1989.
- ESCALONA, T.; ENGSTROM, T. N.; HERNANDEZ, O. E.; BOCK, B. C.; VOGT, R. C.; VALENZUELA, N. **Population genetics of the endangered South American freshwater turtle, *Podocnemis unifilis*, inferred from microsatellite DNA data**. Conservation Genetics. 2009.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J.M. **Analyses of Molecular Variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data**. Genetics 131:479-491. 1992.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. **Arlequin suite version 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows**. Molecular ecology resources, 10(3), 564–7. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02847. 2010.
- FACHÍN-TERÁN, A.; VOGT, R. C. **Estrutura populacional, tamanho e razão sexual de *Podocnemis unifilis* (Testudines, podocnemididae) no rio Guaporé (RO), norte do Brasil**. Phyllomedusa, 3 (1): 29-42. 2004.
- FANTIN, C.; CARVALHO, C. F.; HRBEK, T.; SITES JR, J. W.; MONJELÓ, L. A. S.; ASTOLFI-FILHO, S.; FARIAS, I. P. **Microsatellite DNA markers for *Podocnemis unifilis*, the endangered yellow-spotted Amazon River turtle**. Molecular Ecology Notes, 7 (6): 1235 - 1238. 2007.
- FANTIN, C.; VIANA, L. S.; MONJELÓ, L.A.S.; FARIAS, I. P.. **Polyandry in *Podocnemis unifilis* (Pleurodira; Podocnemididae), the vulnerable yellow-spotted Amazon River turtle**. Amphibia-Reptilia, v. 29, p. 479-486, 2008.
- FARIAS, I. P.; SILVEIRA, R.; THOISY, B.; MONJELÓ, L. A. do S.; THORBJARNARSON, J.; HRBEK, T. **Genetic diversity and population structure of Amazonian crocodilians**. Animal Conservation, England, v. 7, n.3, p. 265-272, 2004.
- FARIAS, P. I.; TORRICO, J. P.; GARCÍA-DÁVILA, C.; SANTOS, M. C. F.; HRBEK, T.; RENNO, J. F. **Are rapids a barrier for floodplain fishes of the Amazon basin? A demographic study of the keystone floodplain species *Colossoma macropomum* (Teleostei: Characiformes)**. Molecular Phylogenetics and Evolution. 56:1129–1135. 2010.
- FEARNSIDE, P. M. **Brazil's São Luiz do Tapajós Dam: The Art of Cosmetic Environmental Impact Assessments**. Water Alternatives 8(3): 373-396. 2015.
- FERRI, V. **Turtles & Tortoises: A Firefly Guide**. Firefly Books. 256 p. 2002.
- FINER, M.; JENKINS, C. N. **Proliferation of hydroelectric dams in the Andean Amazon and implications for Andes-Amazon connectivity**. PLoS One 7:e35126. doi:10.1371/journal.pone.0035126. 2012.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto, SP; SBG (Sociedade Brasileira de Genética), 229pp. 2008.
- FREDERICO, R. G.; FARIAS, I. P.; ARAÚJO, M. L. G.; CHARVET-ALMEIDA, P.; ALVES-GOMES, J. A. **Phylogeography and conservation genetics of the Amazonian**

freshwater stingray *Paratrygon aiereba* Müller & Henle , 1841 (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). Neotrop Ichthyol. 10:71–80. 2012.

FU, Y-X. **Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection.** Genetics 1447:915-925. 1997.

GRAVENA, W.; FARIAS, I. P.; DA SILVA, M. N. F.; DA SILVA, V. M. F.; HRBEK, T. **Looking to the past and the future: were the Madeira River rapids a geographical barrier to the boto (Cetacea: Iniidae).** Conservation Genetics. 2014.

GRAVENA, W.; DA SILVA, V. M. F.; DA SILVA, M. N. F.; FARIAS, I. P.; HRBEK, T. **Living between rapids: genetic structure and hybridization in botos (Cetacea: Iniidae: *Inia* spp.) of the Madeira River, Brazil.** Biological Journal of the Linnean Society. DOI: 10.1111/bij.12463. 2015.

HARTL, D. L; CLARK, A. G. **Principles of Population Genetics**, second edition, Sinauer Associates Inc, Sunderland MA, 481 pp. 1989.

HERNANDEZ-MARTICH, J. D.; SMITH, M. H. **Pattern of genetic variation in eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki* Girard) from the Piedmont and the Coastal Plain of three drainages.** Copeia 1990, 619–630. 1990.

HRBEK, T.; FARIAS, I. P.; CROSSA, M.; SAMPAIO, I.; PORTO, J. I. R.; MEYER, A. **Population genetic analysis of *Arapaima gigas*, one of the largest freshwater fishes of the Amazon basin: implications for its conservation.** Anim Conserv. 8:297–308. 2005.

HRBEK, T.; FARIAS, I. P. **The complete mitochondrial genome of the pirarucu (*Arapaima gigas*, Arapaimidae, Osteoglossiformes).** Genetics and Molecular Biology, 31(1, Suppl.), 293–302. Journal Article. <http://doi.org/10.1590/S1415-47572008000200024>. 2008.

HRBEK, T.; VASCONCELOS, W. R.; REBELO, G. H.; FARIAS, L. P. **Phylogenetic relationships of South American alligatorids and the Caiman of Madeira River.** Journal Experimental Zoology, 309: 600-613. 2008.

HRBEK, T.; DA SILVA, V. M. F.; DUTRA, N.; GRAVENA, W.; MARTIN, A. R.; FARIAS, I. P. **A new species of river dolphin from Brazil or: how little do we know our biodiversity?** PLoS One 9:e0083623. 2014.

HUDSON, R. R.; BOOS, D. D.; KAPLAN, N. L. **A statistical test for detecting geographic subdivision.** Molecular Biology and Evolution 9:138-151. 1992.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Projeto Quelônios da Amazônia 10 anos.** Brasília. 119 p. 1989.

INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.** Academic Press, San Diego, CA. 1990.

JOB, G.; HAESELER, A.; STRIMMER, K. **TREEFINDER: a powerful graphical analysis environment for molecular phylogenetics.** BMC Evolutionary Biology, 4, 1-9. 2004.

KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; DRUMMOND, A. J. **Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data**. *Bioinformatics Applications Note*, 28(12), 1647–1649. <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>. 2012.

KIMURA, M. **The number of heterozygous nucleotide sites maintained in a finite population due to steady flux of mutations**, *Genetics* 61, 893-903. 1969.

KUO C. H.; JANSEN, F. J. **Genetic effects of a persistent bottleneck on a natural population of ornate box turtles (*Terrapene ornate*)**. *Conserv Genet* 5:425–437. 2004.

LI, W.-H. **Molecular Evolution**. Sinauer Associates, Sunderland. 487pp. 1987.

LOVEJOY, N. R.; COLLETTE, B. B. **Phylogenetic relationships of New World needlefishes (Teleostei: Belontiidae) and the biogeography of transitions between marine and freshwater habitats**. *Copeia*, 2001, 324–338. 2001.

LUNDBERG, J. G.; MARSHALL, L. G.; GUERRERO, J.; HORTON, B.; MALABARBA, M. C. S. L.; WESSELINGH, F. **The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers**. In: Malabarba, L.R.; Reis, R.E.; Vari, R.P.; Lucena, Z.M.; Lucena, C.A.S. (Eds). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Edipucrs, Porto Alegre. p. 13-48. 1998.

MANNI, F.; GUERARD, E.; HEYER, E. **Geographic patterns of (genetic, 743 morphologic, linguistic) variation: How barriers can be detected by using 744 Monmonier's algorithm**. *Hum Biol.* 76:173–190. doi:10.1353/hub.2004.0034. 2004.

MANTEL, N. **The detection of disease clustering and a generalized regression approach**. *Cancer Research*, 27:209-220. 1967.

MUNIZ, F. L. **Filogeografia e genética de populações de jacaré-paguá (*Paleossuchus palpebrosus*) ao longo do rio Madeira e bacia do rio Paraguai (Pantanal)**. Dissertação (mestrado) – INPA, Manaus. 2012.

MONMONIER, M. **Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method**. *Geogr. Anal.*, 3: 245-61. 1973.

MORITZ, C. **Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation**. *Trends Ecol Evol* 9:373-375. 1994.

NEI, M. **Molecular Evolutionary Genetics**. New York, NY: Columbia University Press. 512 p. 1987.

OCHOA, I. E.; PEREIRA, L. H. G.; COSTA-SILVA, G. J.; ROXO, F. F.; BATISTA, J. S.; FORMIGA, K.; Foresti, F.; OLIVEIRA, C. **Genetic structure and historical diversification of catfish *Brachyplatystoma platynemum* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Amazon basin with implications for its conservation**. *Ecology and Evolution* 5:2005–2020. 2015.

PEARSE, D. E.; ARNDT, A. D.; VALENZUELA, N.; MILLER, B. A.; CANTARELLI, V.; SITES JR, J. W. **Estimating population structure under nonequilibrium conditions in a conservation context: continent-wide population genetics of the giant Amazon river turtle, *Podocnemis expansa* (Chelonia; Podocnemididae)**. *Molecular Ecology*. 2006.

PINEDA-CATALAN, O.; MENDEZ, M.; GLEIZER, A.; GARCÍA-DÁVILA C.; AGUIRRE, A. A.; PINEDO-VASQUEZ, M.; AMATO, G. **Conservation genetics of harvested river turtles, *Podocnemis expansa* and *Podocnemis unifilis*, in the Peruvian Amazon: All roads lead to Iquitos.** Mitochondrial DNA; 23(3): 230–238. 2012.

PRITCHARD, P. C. H. **Encyclopedia of Turtles.** T.F.H. Publ. Inc., Neptune, New Jersey. 859 pp.1979.

PRITCHARD, P. C. H.; TREBBAU, P. **The Turtles of Venezuela.** Society for the Study of Amphibians and Reptiles. 403 pp. 1984.

RANGEL, S. M. H. **Dinâmica e estrutura populacional do jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) na amazônia** Dissertação (mestrado) – INPA, Manaus. 2015.

RICE, W. R. **Analyzing tables of statistical tests.** Evolution, v. 43, p. 223-225. 1989.

ROSSETTI, D. F.; VALERIANO, M. M. **Evolution of the lowest amazon basin modeled from the integration of geological and SRTM topographic data.** Catena, [s.l.], v. 70, n. 2, p.253-265. Elsevier BV .2006.08.009. 2007.

RUEDA-ALMONACID, J. V.; CARR, J. L.; MITTERMEIER, R. A.; RODRIGUEZ-MAHECHA, J. V.; MAST, R. B.; VOGT, R. C.; RHODIN, A. G. J.; DE LA OSSA, J. V.; RUEDA, J. N.; MITTERMEIER, C. G. **Las tortugas y los crocodilianos de los países andinos del trópico. Serie de guías tropicales de campo n° 6.** Conservación Internacional. Editorial Panamericana, Bogotá, Colombia, 538p. 2007.

SALZBURGER, W.; EWING, G. B.; VON HAESELER, A. **The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration.** Molecular Ecology, 20: 1952-1963. 2011.

SANTOS, R. C.; VIANA, M. N. S.; MONTELEJÓ, L. A. S.; ANDRADE, P. C. M.; PANTOJA-LIMA, J.; OLIVEIRA, P. H. G.; VOGT, R. C.; PEZZUTI, J. C. B.; SITES JR., W. J.; HRBEK, T.; FARIAS, I. P. **Testing the Effects of Barriers on the Genetic Connectivity in *Podocnemis erythrocephala* (Red-Headed Amazon River Turtle): Implications for Management and Conservation.** Chelonian Conservation and Biology, 15(1):12-22. 2016.

SILVA, T. J.; MONJELÓ, L. A. S.; ANDRADE, P. C. M.; VIANA, M. N. S.; VOGT, R. C.; FARIAS, I. P. **Population genetics analysis of *Podocnemis sextuberculata* (Testudines, Podocnemidae): lack of population structure in the central Amazon Basin.** Genetics and Molecular Research 10 (3): 1393-1402. 2011.

SIMÕES, P.; LIMA, A.; MAGNUSSON, W.; HODL, W.; AMEZQUITA, A. **Acoustic and Morphological Differentiation in the Frog *Allobates femoralis*: Relationship with the Upper Madeira River and Other Potential Geological Barriers.** Biotropica 40(5): 607-614, pp. 8. 2008.

SIMÕES, P. I.; LIMA, A. P.; FARIAS, I. P. **Restricted natural hybridization between two species of litter frogs on a threatened landscape in southwestern Brazilian Amazonia.** Conservation Genetics, v. 13, p. 1145-1159, 2012.

SITES, J. W.; FITZSIMMONS, N. N.; SILVA, N. J.; CANTARELLI, V. H. **Conservation genetics of the Giant Amazon River Turtle (*Podocnemis expansa*; Pelomedusidae) -**

inferences from two classes of molecular markers. Chelonian Conservation Biology., 3 (3): 454-463p. 1999.

SIOLI, H. **Hydrochemistry and geology in the Brazilian Amazon region.** Amazoniana. v.1, p.74-83, 1984.

JUNGHANS M. **Emilia Snethlage (1868–1929): uma naturalista alemã na Amazônia.** História, Ciências, Saúde – Manguinhos, Rio de Janeiro. v.15, suplemento, p.243-255, jun. 2008.

SPEARMAN, C. **The proof and measurement of the association between two things.** Am. J. Psych. 15:72-1001. 1904.

TAJIMA, F. **Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations.** Genetics, 105(2): 437-460. 1983.

TAJIMA, F. **Statistical methods for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism.** Genetics, 123:585-595. 1989.

TATARENKOV, A.; HEALEY, C. I. M.; AVISE, J. C. **Microgeographic population structure of green swordtail fish: genetic differentiation despite abundant migration.** Molecular Ecology 19, 257–268. 2010.

THOMPSON J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. **Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice.** Nucleic Acids Res 22:4673-4680. 1994.

THOISY, B; HRBEK, T; FARIAS, I. P; VASCONCELOS, W. R; LAVERGNEA, A. **Genetic structure, population dynamics, and conservation of Black caiman (*Melanosuchus niger*)** Biological Conservation, 133, 474 – 482, 2006.

TORRENTE-VILARA, G.; ZUANON, J.; LEPRIEUR, F.; OBERDORFF, T. Tedesco, P.A. **Effects of natural rapids and waterfalls on fish assemblage structure in the Madeira River (Amazon Basin).** Ecology of Freshwater Fish 20:588–597. 2011.

Tortoise & Freshwater Turtle Specialist Group. 2016. *Podocnemis unifilis*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2016:** e.T17825A97397562. Downloaded on 18 July 2016.

VAN DIJK, P. P.; IVERSON, J. B.; RHODIN, A. G. J.; RHODIN, A. G. J.; SHAFFER, H. B.; BOUR, R. Turtle Taxonomy Working Group (TTWG). **Turtles of the World, 7th Edition: Annotated Checklist of Taxonomy, Synonymy, Distribution with Maps, and Conservation Status.** Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. Chelonian Research Monographs. 2014 ;5(7):000.329–479. DOI:10.3854/crm.5.000.checklist.v7. 2014.

VARGAS-RAMÍREZ, M.; CHIARI, Y.; CASTAÑO-MORA, O. V.; MENKEN, S. B. J. **Low genetic variability in the endangered Colombian endemic freshwater turtle *Podocnemis lewyana* (Testudines, Podocnemididae).** Contributions to Zoology. 2007.

VARGAS-RAMÍREZ, M.; STUCKAS, H.; CASTANÕ-MORA, O. V.; FRITZ, U. **Extremely low genetic diversity and weak population differentiation in the endangered Colombian river turtle *Podocnemis lewyana* (Testudines: Podocnemididae).** *Conserv Genet* 13: 65-77. 2012.

VASCONCELOS, W. R.; HRBEK, T.; SILVEIRA, R.; THOISY, B.; MARIONI, B.; FARIAS, I. P. **Population genetic analysis of *Caiman crocodilus* (Linnaeus, 1758) from South America** *Genetics and Molecular Biology*, 29, 2, 220-230, 2006.

VIANA, M. N. S. **Ecologia Molecular De Quelônios Do Gênero *Podocnemis* (Pleurodira Pelomedusidae) Da Amazônia Brasileira.** Tese (Doutorado) – UFPA. 2008.

VOGT, R. C. **Tartarugas da Amazônia.** Wust ediciones, Peru. 104p. 2008.

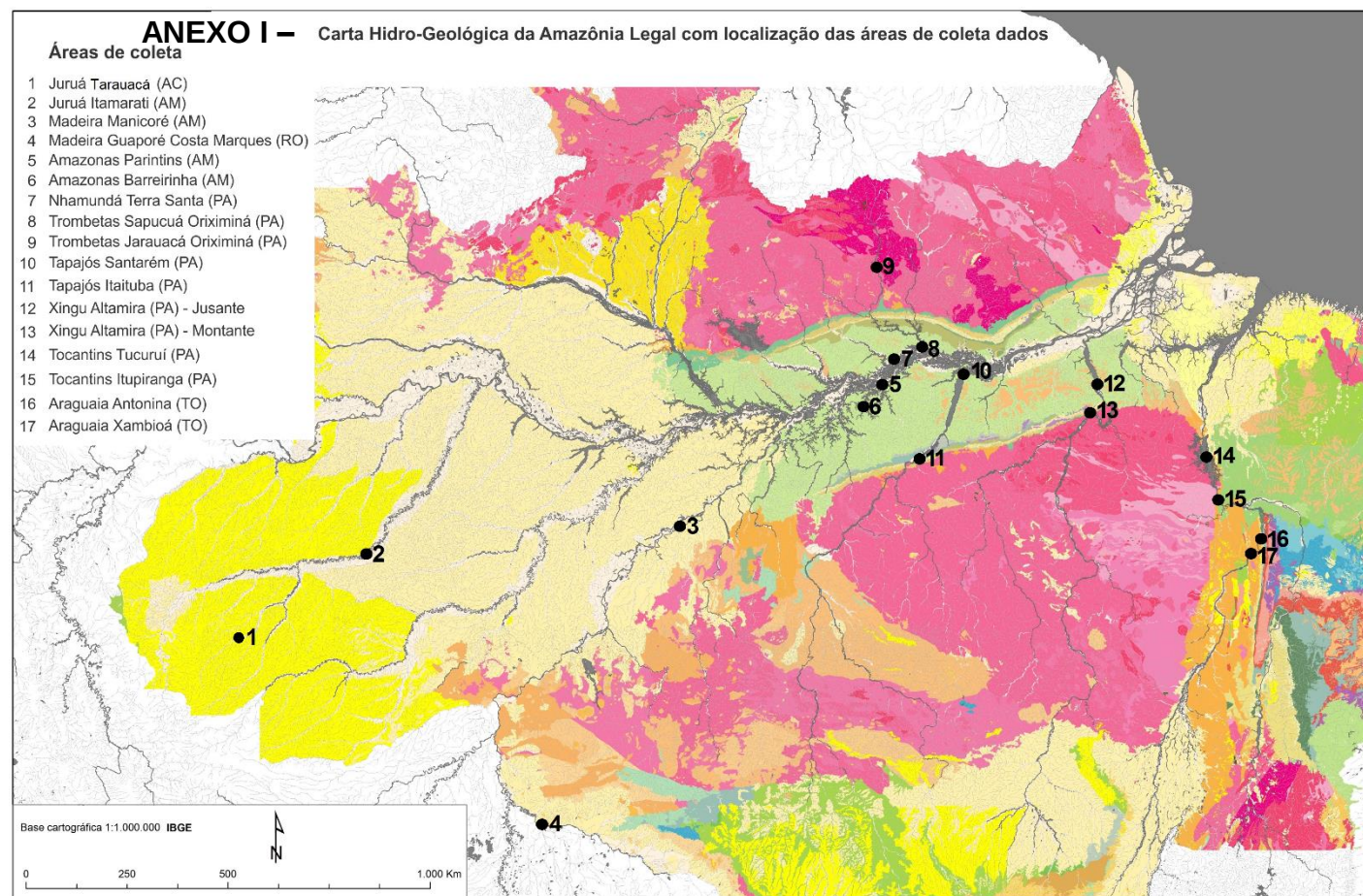
WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. **Estimating F-statistic for the analysis of population structure.** *Evolution* 38:1358-1370. 1984.

WILLIS, S. C.; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H.; MONTAÑA, C. G.; FARIAS, I. P.; ORTÍ, G. **Species-level phylogeny of ‘Satan’s perches’ based on discordant gene trees (Teleostei: Cichlidae: *Satanoperca* Günther 1862).** *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2012a.

WILLIS, S. C.; MACRANDER, J.; FARIAS, I. P.; ORTÍ, G. **Simultaneous delimitation of species and quantification of interspecific hybridization in Amazonian peacock cichlids (genus *Cichla*) using multi-locus data.** *BMC Evol Biol*. 12:96. 2012b.

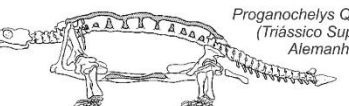
WILLOUGHBY, J. R.; SUNDARAM, M.; LEWIS, T. L.; SWANSON, B. J.. **Population Decline In A Long-Lived Species: The Wood Turtle In Michigan.** *Herpetologica*, 69(2), 2013, 186–198! by The Herpetologists’ League, Inc. 2013.

WINEMILLER, K. O; MCINTYRE, P. B.; CASTELLO, L.; FLUET-CHOUIARD, E.; et al. **Balancing hydropower and biodiversity in the Amazon, Congo, and Mekong.** *Science*. Vol. 351, Issue 6269: 128-129. American Association for the Advancement of Science. 2016.



Legenda geocronologia



Superéon	Fanerozóico																				Pré-Cambriano																														
Éon	Fanerozóico																				Pré-Cambriano																														
Era	Cenozóico						Mesozóico				Paleozóico										Proterozóico			Arqueano																											
Período	Quaternário		Neogeno	Paleogeno		Cretáceo	Jurássico	Triássico	Pérmico	Carbonífero				Devónico	Silúrico	Ordovício	Cámbrico	Ediacarano	Neoproterozóico	Mesoproterozóico	Paleoproterozóico	Neo-Arqueano	Meso-	Paleo-	Eo-																										
	Holoceno	Pleistoceno	Plioceno	Mioceno	Oligoceno	Eoceno	Paleoceno	Superior	Inferior	Lopingiano	Guadalupiano	Cisuraliano	Gzheliano	Kasimoviano	Moscoviano	Serpukhoviano	Viséana	Tournaisiano	Superior	Médio	Inferior	Pridoli	Ludlow	Wenlock	Llandovery	Superior	Médio	Inferior	Superior	Médio	Inferior	Ediacarano	Criogeniano	Toniano	Steniano	Ecetiano	Calymeniano	Statheriano	Orosiriano	Rhyaciiano	Sideriano	Neo-Arqueano	Meso-	Paleo-	Eo-						
Série/Época																																																			
Início Milhões de anos	0,0114 ± 0,000	1,806 ± 0,005	5,332 ± 0,005	23,03 ± 0,05	33,9 ± 0,1	55,8 ± 0,2	66,6 ± 0,3	68,6 ± 0,9	145,5 ± 4,0	161,2 ± 4,0	175,6 ± 2,0	199,6 ± 0,6	228,0 ± 2,0	245,0 ± 2,0	251,5 ± 1,5	260,4 ± 0,4	270,6 ± 0,7	289,0 ± 0,8	306,5 ± 1,0	311,0 ± 1,1	318,1 ± 1,1	326,4 ± 1,6	345,3 ± 2,1	359,2 ± 2,3	365,3 ± 2,6	397,5 ± 2,7	416,0 ± 2,7	422,7 ± 2,7	429,9 ± 2,5	438,2 ± 4,3	443,7 ± 1,5	460,9 ± 1,6	471,6 ± 1,6	488,3 ± 1,7	501,0 ± 2,0	513,0 ± 2,0	542,0 ± 0,3	630	850	1000	1200	1400	1600	1800	2050	2300	2500	2800	3200	3600	3800

