



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E
RECURSOS PESQUEIROS



**DESCRIÇÃO DO PERFIL HORMONAL DE MATRIZES E REPRODUTORES
DE TARTARUGA-DA-AMAZÔNIA (*Podocnemis expansa*, Schweigger,
1812) EM CATIVEIRO NO AMAZONAS**

TAYANNE DA SILVA LOPES

MANAUS-AMAZONAS
NOVEMBRO, 2021

TAYANNE DA SILVA LOPES

**DESCRIÇÃO DO PERFIL HORMONAL DE MATRIZES E REPRODUTORES
DE TARTARUGA-DA-AMAZÔNIA (*Podocnemis expansa*, Schweigger,
1812) EM CATIVEIRO NO AMAZONAS**

Orientador: Paulo César Machado Andrade, Prof. Dr.

Coorientador: Wallice Luiz Paxiúba Duncan, Prof. Dr.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros-PPGCARP da Universidade Federal do Amazonas-UFAM como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros.

MANAUS-AMAZONAS

NOVEMBRO, 2021

Ficha Catalográfica

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

L864d Lopes, Tayanne da Silva
Descrição do perfil hormonal de matrizes e reprodutores de tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger 1812) em cativeiro no Amazonas / Tayanne da Silva Lopes . 2021
128 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Paulo Cesar Machado Andrade
Coorientador: Wallice Luiz Paxiúba Duncan
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Tartaruga. 2. Reprodução. 3. Endocrinologia. 4. Bioquímica sérica. I. Andrade, Paulo Cesar Machado. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

TAYANNE DA SILVA LOPES

Descrição do perfil hormonal de matrizes e reprodutores de tartaruga da Amazônia (*Podocnemis expansa*, SCWEIGGER, 1812) em cativeiro no Amazonas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração em Produção Animal.

Aprovada em 30 de novembro de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Eng. Agr. Paulo Cesar Machado Andrade
Coordenador Projeto/LASUFAM
CBBEN/AM/RR N° 4723-8/92

Dr. Paulo Cesar Machado Andrade - Presidente
Universidade Federal do Amazonas



Dr. Marcela dos Santos Magalhães - Membro
Universidade Federal do Amazonas



Dra. Fernanda Loureiro de Almeida O'Sullivan - Membro
EMBRAPA Amazônia Ocidental

Dedico a Deus, fonte de vida a todas criaturas; sempre guiando meus passos. “Assim, já não sou eu quem vive, mas Cristo vive em mim!”
Gl 2:20

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela minha vida e por todos os momentos que cuidou de mim me trazendo não o que eu pedia, mas o que eu precisava.

Agradeço a minha mãe, Rosângela Lima, pelos ensinamentos de perseverança, dedicação, respeito, amor ao próximo e principalmente pela abdicação de si para criação dos filhos.

Agradeço ao meu irmão, Matheus Lopes, que encarou este desafio comigo.

Agradeço ao meu companheiro, Leonardo Souza, por todo apoio seja com palavras até mesmo com trabalho duro, essencial para esta conquista. Que fez de tudo para tornar este fardo mais leve e meu coração mais feliz.

Agradeço ao meu orientador Dr. Paulo Cesar Andrade por toda dedicação e principalmente paciência, admiro sua sabedoria e sou muito grata pela amizade sempre nos fazendo parte da sua família.

Ao Prof. Dr. Wallice Luiz Duncan, meu coorientador, pela disponibilidade em me orientar, com muita boa vontade. Além disso, se tornou um grande amigo e conselheiro em mais uma etapa da minha vida.

A Fundação de Amparo à pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pela bolsa de mestrado concedida.

A Unisol (Fundação de apoio institucional Rio Solimões), pelo apoio pelo apoio financeiro e logístico ao longo das várias etapas de coleta deste trabalho.

Agradeço a equipe da Fazenda Bicho do Rio, que me abrigou com carinho e respeito, em especial a Sr. José Vasconcelos, Dona Sueli Vasconcelos e Beto.

Aos meus companheiros Aline Lima e Kelven Wladie e colegas do Laboratório de Animais Silvestres (LAS), Ruben Júnior, Ingrid Campos, Eleyson Barboza, Midian Salgado e João Alfredo. Que estiveram comigo em vários momentos, debaixo de chuva e debaixo de sol fumegante nos trabalhos de campo.

À Brenda Meireles e Laerzio Neto, meus companheiros de mestrado que estiveram comigo em muitos momentos de trabalho de campo, nos trazendo leveza para conclusão desta etapa.

Aos meus amigos de turma de mestrado, no PPGCARP (2019), Amanda Pimentel, Armando, Danielly Pimentel, Eliena Guimarães, Taylon Antônio, João, Ancelmo Rodrigues, Ana Rebeca, Caroline Stephanelli, Daniel Parente, Márcia Lorena e Gilvan Ramos pelos vários momentos de descontração e companhia nos momentos difíceis.

Sumário

Agradecimentos.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
Resumo.....	xv
Abstract.....	xvi
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	3
Capítulo 1 Ciclos reprodutivos e hormônios sexuais em tartarugas.....	4
1.1 INTRODUÇÃO.....	5
1.2 METODOLOGIA.....	6
1.3 BIOLOGIA REPRODUTIVA.....	7
1.4 CONSERVAÇÃO E BIOLOGIA DAS MAIS IMPORTANTES ESPÉCIES TARTARUGAS DA AMAZÔNIA.....	8
1.5 PAPEL DOS FATORES AMBIENTAIS NAS ATIVIDADES REPRODUTIVAS.....	11
1.6 HORMÔNIOS REPRODUTIVOS EM TARTARUGAS.....	13
1.7 CICLOS HORMONAIS EM TARTARUGAS.....	18
1.8 CICLO HORMONAL EM <i>P. expansa</i>.....	22
1.9 CONCLUSÕES.....	23
1.10 REFERÊNCIAS.....	24
Capítulo 2 Características reprodutivas de <i>Podocnemis expansa</i> em cativeiro, Iranduba-AM.....	30
2.1 INTRODUÇÃO.....	32
2.2 OBJETIVOS.....	34
2.2.1 Objetivo geral.....	34
2.2.2 Objetivos específicos.....	34
2.3 HIPÓTESES.....	35
2.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
2.4.1 Descrição da área de estudo.....	36
2.4.2 Metodologia de captura e biometria.....	37
2.4.3 Coleta dos dados ambientais.....	39
2.4.4 Monitoramento das praias e transferência dos ovos.....	39
2.4.5 Biometria e sexagem dos filhotes.....	41
2.4.6 Análise estatística.....	43
2.5 RESULTADOS.....	45
2.5.1 Parâmetros ambientais da criação.....	45

2.5.2	Biometria de matrizes e reprodutores de <i>P. expansa</i>	48
2.5.3	Transferência dos ninhos e biometria dos ovos	52
2.5.4	Incubação, taxa de eclosão, morfometria e sexagem dos filhotes	53
2.5.5	Alometria reprodutiva	57
2.6	DISCUSSÃO	64
2.6.1	Parâmetros ambientais da criação	64
2.6.2	Biometria de matrizes e reprodutores de <i>P. expansa</i>	66
2.6.3	Transferência de ninhos e biometria de ovos	67
2.6.4	Incubação, taxa de eclosão e morfometria dos filhotes	68
2.6.5	Alometria reprodutiva	71
2.7	CONCLUSÕES	74
2.8	REFERÊNCIAS	75
	ANEXO 1	79
	ANEXO 2	80
	ANEXO 3	81
	ANEXO 4	82
	ANEXO 5	83
	ANEXO 6	84
	ANEXO 7	85
	Capítulo 3 Fisiologia reprodutiva no plantel de matrizes e reprodutores de <i>Podocnemis expansa</i>: testosterona, estradiol e bioquímica plasmática	86
3.1	INTRODUÇÃO	89
3.2	JUSTIFICATIVA	92
3.3	HIPÓTESES	93
3.4	OBJETIVOS	94
3.4.1	Objetivo geral	94
3.4.2	Objetivos específicos	94
3.5	MATERIAL E MÉTODOS	95
3.5.1	Área de estudo	95
3.5.2	Animais do experimento	95
3.5.3	Metodologia de captura e biometria	97
3.5.4	Colheita do sangue e obtenção de plasma	98
3.5.5	Análise dos hormônios esteroides (testosterona e estradiol)	99
3.5.6	Análises do perfil bioquímico	100
3.5.7	Análises estatísticas	101
3.6	RESULTADOS	102

3.6.1	Níveis dos hormônios esteroides reprodutivos.....	104
3.6.2	Perfil bioquímico do plasma	106
3.6.3	Relação entre hormônios esteroides e lipídios plasmáticos.....	113
3.7	DISCUSSÃO	114
3.7.1	Níveis dos hormônios esteroides reprodutivos.....	114
3.7.2	Perfil bioquímico do plasma	117
3.7.3	Relações entre hormônios esteroides e lipídios plasmáticos	121
3.8	CONCLUSÕES	123
3.9	REFERÊNCIAS	124

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Valores com média±desvio padrão dos esteroides gonadais (em ng/mL) em fêmeas de várias espécies de tartarugas encontradas em diferentes ambientes.	15
Tabela 1.2 - Valores com média±desvio padrão dos níveis de testosterona (em ng/mL) em machos de várias espécies de tartarugas encontradas em diferentes ambientes	17
Tabela 2.1 – Níveis de garantia de Ração Confiança Peixe Crescimento a nível de 28% de proteína bruta.	36
Tabela 2.2 – Valores gerais das características morfométricas de fêmeas e machos adultos de <i>P. expansa</i> coletadas nos anos de 2019 e 2020, no criador comercial Bicho do Rio, Iranduba/AM.	48
Tabela 2.3 Características dos ninhos naturais de <i>P. expansa</i> nos anos de 2019 e 2020 no criador comercial Bicho do rio, Iranduba/AM. (Desvio Padrão – Desv. P.)	52
Tabela 2.4 Dados biométricos de ovos de <i>P. expansa</i> do criadouro comercial Bicho do Rio, Iranduba/AM.	53
Tabela 2.5 - Número de ovos, período de incubação (dias), taxa de eclosão (%), temperatura e amplitude média do ninho (°C) em ninhos transferidos de <i>P. expansa</i> em diferentes anos no criadouro Bicho do Rio, Iranduba/AM.	54
Tabela 2.6 - Características morfométricas dos filhotes de <i>P. expansa</i> no criador comercial Bicho do Rio, Iranduba/AM	56
Tabela 2.7 – Resultados da sexagem de filhotes de <i>P. expansa</i> e médias de temperatura das suas respectivas covas monitoradas com datalogger.	56
Tabela 2.8 – Relações lineares significativas entre medidas biométricas das fêmeas, medidas dos ninhos, e biometria dos filhotes de <i>P. expansa</i> criadas em cativeiro, Iranduba/AM.	58
Tabela 2.9 - Resultados das determinações da DBO, leitura dos valores de pH e temperatura da água do tanque de matrizes de <i>P. expansa</i> durante as coletas acasalamento (maio), assoalhamento (agosto), desova (outubro/novembro), vitelogênese (março) de 2019/2020.	79
Tabela 2.10 -Valores de temperaturas da praia e do tanque das matrizes de <i>P. expansa</i> no criador Bicho do Rio em 2019 e 2020.	79
Tabela 2.11 - Sumário de medidas biométricas (cm) de fêmeas e machos adultos de <i>P. expansa</i> : comprimento retilíneo de carapaça (CRC), largura retilínea de carapaça (LRC), comprimento retilíneo do plastrão (CRP), largura retilínea do plastrão (LRP), altura (H), peso (kg) e idade (anos) em criador comercial Bicho do Rio, Iranduba/AM ao longo do período reprodutivo.	80
Tabela 2.12 - Análise de todas as variáveis testadas com correlação de Pearson significativa. Filh. =filhote	81
Tabela 2.13 – Valores de r, com teste de correlação pelo método de Pearson entre medidas das fêmeas e dos ninhos de <i>P. expansa</i> em cativeiro, Iranduba/AM.	82
Tabela 2.14 – Valores de r, com teste de correlação pelo método de Pearson entre de fêmeas de <i>P. expansa</i> e período de incubação e tamanho de filhotes.	83
Tabela 2.15 – Valores de r, com teste de correlação pelo método de Pearson entre medidas dos ovos transplantados, informações do período de incubação e biometria dos filhotes.	84
Tabela 2.16 Estatística descritiva de fêmeas e filhotes de <i>P. expansa</i> avaliados nas análises alométricas	85

Tabela 3.1- Características amostrais: número de amostras (N), peso médio (Kg) e média de idade (anos) obtidas nas coletas realizadas na Fazenda Bicho do Rio, Iranduba/AM, nos anos de 2019 e 2020. 96

Tabela 3.2 – Média, desvio padrão (DP) e valores mínimo (Mín.) e máximo (Máx.) de níveis plasmáticos de: esteroides (estradiol e testosterona), relação E2:T, colesterol, triglicerídeos, glicose, proteínas totais (PT), cálcio, sódio e potássio coletados durante o período reprodutivo de fêmeas em cativeiro. 103

Tabela 3.3 - Média, desvio padrão (DP) e valores mínimo (Mín.) e máximo (Máx.) de níveis plasmáticos de: esteroides (estradiol e testosterona), relação E2:T, colesterol, triglicerídeos, glicose, proteínas totais (PT), cálcio, sódio e potássio coletados durante o período reprodutivo de machos em cativeiro. 103

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. - Representação esquemática das flutuações hormônios esteroides e eventos reprodutivos nas fêmeas (A) e machos (B) de *Gopherus polyphemus*. A intensidade de cor dentro dos retângulos indica o pico dos eventos reprodutivos e dos esteroides gonadais. Modelo adaptado de Ott et al. (2000). 20

Figura 2 - Linha do tempo dos eventos reprodutivos e variação dos hormônios sexuais em fêmeas de tartaruga verde, *Chelonia mydas*. A intensidade de cor das figuras indica o pico de concentração dos hormônios sexuais. Modelo adaptado de AL-HABS et al. (2006). 20

Figura 3 - Associação entre as fases do ciclo espermatogênico e hormônios reprodutivos de macho de *Chelydra serpentina*. A intensidade de cores nas figuras indica o pico dos hormônios testosterona e foliculo estimulante. Modelo adaptado de MAHMOUD; LICHT (1997). 21

Figura 4 - Modelo sugestivo entre os eventos reprodutivos e variação nos níveis de esteroides gonadais das tartarugas amazônicas do gênero *Podocnemis*. O modelo foi baseado nos dados de esteroides gonadais de *P. expansa* realizados por Freneau et al. (2017) e Garcez (2009). A intensidade de cores dentro das figuras representa o pico dos eventos reprodutivos e hormonais. 23

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Exemplar da fêmea espécie *Podocnemis expansa* (A). Reprodutor de tartaruga-da-amazônia (B). Ovos coletados na praia após a postura (C). Recém-eclodido de tartaruga-da-amazônia (D). Fonte: Lopes, T. 2019 33

Figura 2 - Localização da “Fazenda Bicho do Rio” via satélite. Fonte: <https://www.google.com/maps> (A). Vista ampliada da barragem de matrizes da propriedade (B). Fonte: LOPES, T. 2020 37

Figura 3 - Captura das tartarugas com Rede tipo arrastão (A) Captura na praia de fêmea de *Podocnemis expansa* por viração (B). Fonte: Lopes, T. 2019 38

Figura 4 - Aparelho pHmetro (A). Aparelho medidor de DBO (B). Datalogger instalado na praia (C). Fonte: Lopes, T. 2020 39

Figura 5 - Matrizes e reprodutores se deslocando na barragem do criadouro (A). Vestígios de subida das fêmeas na praia (B). Captura por viração das fêmeas encontradas após a desova (C). Retirada e biometria de ovos de ninhos naturais (D). Transplante dos ovos para covas artificiais da chocadeira (E). Fonte: LOPES, T. 2019 40

Figura 6 – Chocadeira da propriedade Bicho do Rio. Fonte: Lopes, T. (2020) 41

Figura 7 – Mensuração de medidas biométricas com paquímetro (A) e mensuração de massa com balança digital (B) de filhote de *P. expansa*. 42

Figura 8 – Localização via satélite da chocadeira da propriedade bicho do rio. Fonte: <https://www.google.com.br/intl/pt-PT/earth/> (A) e vista ampliada da chocadeira (B). Fonte: Lopes, T. (2021) 42

Figura 9 – vista da gônada de filhotes de *P. expansa* e histologia (A) do aparelho reprodutivo da fêmea e histologia (B) do aparelho reprodutivo do macho imaturo de *Podocnemis expansa*, obtido por microscopia óptica em aumento de 40X (seção em 5µm). 43

Figura 10 - Mensurações dos níveis de Ph (A), demanda química em oxigênio (DBO) (B) e temperatura (C) durante as coletas no criador comercial Bicho do Rio. 46

Figura 11 - Médias de temperatura da praia artificial do criador Bichos do rio, nos anos de 2019 e 2020. 47

Figura 12 – Médias de precipitação durante os meses de setembro a dezembro nos anos de 2019 e 2020. Estação TRMM.9225 (9011677) – Iranduba. 48

Figura 13 - Médias de comprimento retilíneo de carapaça (CRC) de matrizes e reprodutores de *P. expansa* em cativeiro durante o período reprodutivo: VITELOGÊNESE (março), ACASALAMENTO (maio), ASSOALHAMENTO (agosto) e DESOVA (outubro-novembro). 49

Figura 14 - Médias de peso de matrizes e reprodutores de *P. expansa* em cativeiro durante o período reprodutivo: VITELOGÊNESE (março), ACASALAMENTO (maio), ASSOALHAMENTO (agosto) e DESOVA (outubro-novembro). 50

Figura 15 - Histograma de distribuição de peso de tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*) de matrizes/reprodutores da criação Bicho de Rio, Iranduba-AM. 50

Figura 16 - Histograma de distribuição em comprimento retilíneo da carapaça (cm) de tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*) de matrizes/reprodutores da criação Bicho de Rio, Iranduba-AM. 51

Figura 17 - Histograma de distribuição em altura (cm) de tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*) de matrizes/reprodutores da criação Bicho de Rio, Iranduba-AM. 51

Figura 18 – Ovos inviáveis após período de incubação afetados por larva/bactéria (A), não-fertilizados (B), filhote natimorto e filhote predado no ninho natural. 54

Figura 19 - Médias de temperatura de ninhos artificiais de *P. expansa* acompanhados em 2020. 55

Figura 20- Análise de regressão linear entre comprimento da carapaça de fêmeas de *P. expansa* com: largura do plastrão (A), distância da água (B), largura da pata (C) e tempo de incubação dos filhotes (D). 59

Figura 21 - Análise de regressão linear entre largura da carapaça de fêmeas de *P. expansa* com: comprimento do plastrão (A) e Número de ovos (B). 59

Figura 22 - Análise de regressão linear entre largura da carapaça de fêmeas de *P. expansa* com tempo de incubação dos filhotes. 60

Figura 23- Análise de regressão linear entre largura de carapaça de matrizes com número de ovos (A) e massa total da desova (B). 60

Figura 24- Análise de regressão linear entre largura da pata de matrizes com largura entre patas (A) e distância da água (B). 61

Figura 25- Análise de regressão linear entre largura entre patas de matrizes com distância da água patas (A) e tempo de incubação dos filhotes (B). 61

Figura 26- Análise de regressão linear entre nº de ovos de matrizes com massa total da desova (A) e nº de ovos gorados (B). 62

Figura 27- Análise de regressão linear entre nº de ovos gorados com massa total da desova. 63

Figura 28 - Análise de regressão linear entre nº de ovos de matrizes com massa total da desova (A) e nº de ovos gorados (B). 63

Figura 29- Análise de regressão entre comprimento de filhotes com largura de filhotes de *P. expansa* 63

CAPÍTULO 3

Figura 1 - Localização do tanque das matrizes e reprodutores da propriedade "Fazenda Bicho do Rio" via satélite (A). Fonte: <https://www.google.com/maps> e vista local da barragem da propriedade (B). Fonte: Lopes, T. 2020 95

Figura 2 - Matrizes e reprodutores de tartaruga-da-Amazônia no tanque reprodução. Fonte: Lopes, T. 2020 97

Figura 3 - Captura das tartarugas com Rede redes do tipo transmalhas (A) Exemplar de fêmea de *Podocnemis expansa* (B). Fonte: Lopes, T. 2019 98

Figura 4 - Fluxograma de coleta de sangue e obtenção de plasma. Fonte: <https://app.biorender.com> 99

Figura 5 Análise hormonal do plasma de *Podocnemis expansa*. Espectrofotômetro de microplaca (A); Placas de testosterona e estradiol após a leitura (B). Fonte: Lopes, T. 100

Figura 6 - Análise do perfil bioquímico de tartaruga-da-amazônia. Inserção da placa na leitora para leitura dos níveis hormonais (A) Microplacas de análises bioquímicas: Cálcio (Ca^{2+}), proteína total, colesterol, triglicérideo e glicose; após as análises (B). Fonte: SALES, M. 2021 101

Figura 7 - Níveis de estradiol ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criadas em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 105

Figura 8 - Níveis da relação estradiol:testosterona ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criadas em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 106

Figura 9 – Níveis de colesterol ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 107

Figura 10 - Níveis de triglicerídeos ao longo do ciclo reprodutivo para de *P. expansa* de fêmeas (A) e machos (B) criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 108

Figura 11 - Níveis de glicose ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criada em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 109

Figura 12 - Níveis de proteína total ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 110

Figura 13 - Níveis de cálcio ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 111

Figura 14 - Níveis de sódio ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 112

Figura 15 - Níveis de potássio ao longo do ciclo reprodutivo para machos de *P. expansa* criadas em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova. 113

Figura 16 – Relação entre níveis de colesterol (A) e triglicerídeos (B) com a relação estradiol:testosterona (E2:T) de fêmeas de *P. expansa*, Iranduba, Amazonas. 113

Resumo

Informações sobre a biologia reprodutiva de *Podocnemis expansa* são cruciais para fins de manejo em cativeiro. Com isto, objetivou-se descrever as características reprodutivas, biométricas, ambientais e relacionar os níveis de hormônios esteroides gonadais circulantes e perfil bioquímico do plasma com os estados reprodutivos de *P. expansa* em cativeiro no Amazonas. Foram coletadas 167 amostras de sangue, nos quatro (4) épocas dos estados reprodutivos: março (vitelogênese), maio (acasalamento), agosto (assoalhamento) e outubro-novembro (desova) de machos e fêmeas em um criador comercial no Iranduba. Também registramos informações biométricas dos adultos, dos ninhos e filhotes. Além de acompanhamento do período embrionário, eclosão e sexagem de filhotes. Em cada coleta foram coletados dados ambientais de pH, DBO e temperatura da água e da praia. Nas análises hormonais foram realizadas dosagens para testosterona e estradiol, pela técnica ELISA e análises bioquímicas (proteínas totais, cálcio, colesterol, triglicerídeos, glicose, sódio e potássio). Com isso, para condições ambientais, observou-se que os teores de pH e DBO variam ao longo ciclo reprodutivo para *P. expansa* criadas em cativeiro. Não houve variação no tamanho e peso de fêmeas e machos ao longo do ciclo reprodutivo, em contrapartida houve diferença no tamanho e peso dos ovos. O tamanho do animal teve influência no número de ovos e tempo de incubação dos filhotes. Para os resultados hormonais, o estradiol variou igualmente em fêmeas e machos, com picos na vitelogênese. Não houve diferenças significativas entre os teores de testosterona em ambos os sexos. Dentre os parâmetros bioquímicos, os teores de colesterol e triglicerídeos variaram, em fêmeas, tiveram suas maiores médias entre as fases de vitelogênica e acasalamento. Nos machos houve variações apenas para triglicerídeos, com aumento na desova. Para glicose também houve variância, nas fêmeas os teores foram menores no assoalhamento e nos machos houve aumento no estado de vitelogênese. Assim como houve produtivo, nos níveis de proteína total em fêmeas e machos. Que de maneira semelhante apresentaram maiores teores na fase da desova em ambos os sexos. Diferenças significativas nos níveis de cálcio foram observadas apenas em machos. Alterações nos níveis de sódio foram encontradas em fêmeas e machos, com picos na vitelogênese. Os níveis de lipídios circulantes estão significativamente associados positivamente à relação E2:T em fêmeas. Os resultados obtidos neste estudo poderão subsidiar outros estudos com fins de indução de desova e melhor gestão de manejo em cativeiro.

Palavras-chave: Tartaruga-da-Amazônia; Reprodução; Endocrinologia; Bioquímica sérica

Abstract

Information on the reproductive biology of *Podocnemis expansa* is crucial for captive management purposes. This study aimed to describe the reproductive, biometric, environmental characteristics and relate the levels of circulating gonadal steroid hormones and plasma biochemical profile with the reproductive stages of *P. expansa* in captivity in Amazonas. A total of 167 blood samples were collected, in the four (4) seasons of the reproductive states: March (vitellogenesis), May (mating), August (sunbath) and October-November (spawning) of males and females in a commercial breeder in Iranduba. We also record biometric information on adults, nests and chicks. In addition to monitoring the embryonic period, hatching and offspring sexing. In each collection, environmental data on pH, BOD and water and beach temperature were collected. In the hormonal analysis, dosages for testosterone and estradiol were performed, using the ELISA technique and biochemical analyzes (total proteins, calcium, cholesterol, triglycerides, glucose, sodium and potassium). Thus, for environmental conditions, it was observed that the pH and BOD contents vary throughout the reproductive cycle for *P. expansa* bred in captivity. There was no variation in the size and weight of females and males throughout the reproductive cycle, on the other hand, there was a difference in the size and weight of eggs. The size of the animal had an influence on the number of eggs and incubation time of the offspring. For hormonal results, estradiol varied equally in females and males, with peaks in vitellogenesis. There were no significant differences between testosterone levels in either sex. Among the biochemical parameters, the levels of cholesterol and triglycerides varied, in females, they had their highest averages between the vitellogenic and mating phases. In males there were variations only for triglycerides, with an increase in spawning. For glucose there was also variance, in females the levels were lower in sunbath fase and in males there was an increase in the vitellogenic state. As well as there was productive, in the levels of total protein in females and males. That similarly showed higher levels in the spawning phase in both sexes. Significant differences in calcium levels were observed only in males. Changes in sodium levels were found in females and males, with peaks in vitellogenesis. Circulating lipid levels are significantly positively associated with the E2:T ratio in females. The results obtained in this study may support other studies aimed at inducing spawning and better management in captivity.

Keywords: Amazon river turtle; Reproduction; Endocrinology; Serum biochemistry

INTRODUÇÃO

Os quelônios vem sendo utilizados pela humanidade desde os primórdios e são um dos grupos de animais com maior impacto no mundo por causa das demandas sobre eles no comércio, sendo como fonte de proteína (carne e ovos), fins culturais / e animais de estimação (ANDRADE et al., 2021; DANTAS FILHO et al., 2020). Na Ásia existem dois tipos de comércio de tartarugas vivas: para alimentação e medicina tradicional, e uso como animal de estimação (GONG et al., 2009). No Brasil, o consumo de tartarugas é uma prática habitual ligada a população amazônica, desde o período colonial (ANDRADE, 2012).

O consumo desordenado destes animais e seus ovos acarretou uma redução em diversas populações de espécies amazônicas (STANFORD et al., 2020). As espécies de quelônios de água doce mais procuradas são da família Podocnemidae (ANDRADE, 2008). Principalmente as fêmeas tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*), em razão do seu grande porte e alta quantidade de ovos (PANTOJA-LIMA et al., 2014).

As tartarugas-da-amazônia passam a maior parte da vida em ambiente aquático, saindo para ambiente terrestre apenas no período de desova (ANDRADE, 2008; IBAMA, 2016). Apesar da captura e venda de animais silvestres, estar proibida no Brasil desde 1967 (Lei N°5.197/67), é nessa fase que estes animais estão mais vulneráveis, neste momento que ocorre com maior intensidade a caça e comercialização ilegal destes animais (ANDRADE et al., 2021). Devido à intensa exploração deste recurso foi incentivada a criação desses quelônios em cativeiro, para fins comerciais e conseqüentemente também, reduzir a pressão dos estoques naturais e prevenir a extinção da espécie (ANDRADE, 2015).

Quando pensamos em reprodução em cativeiro de uma determinada população, é importante conhecer parâmetros reprodutivos específicos, para o desenvolvimento de estratégias sólidas de gestão. Particularidades anatômicas, histológicas, endócrinas, fisiológicas e comportamentais, são ferramentas comumente utilizadas para estudar a reprodução de quelônios (KUCHLING, 1999). Essas informações, quando interpretadas corretamente são ferramentas que nos permitem desenvolver um manejo adequado a espécie.

Segundo Owens (1997) e Hamann et al. (2002), as tartarugas, assim como a maior parte dos répteis, apresentam reprodução sazonal, sendo este padrão reprodutivo estabelecido por hormônios esteroides. A dosagem hormonal têm se mostrado um importante mecanismo para compreender os processos reprodutivos uma vez que a atividade reprodutiva em répteis está associada a aumentos significativos nas concentrações circulantes dos esteroides sexuais

primários, 17- β -estradiol (E₂), testosterona (T) e progesterona (P4) (NORRIS; LOPEZ, 2011), bem como substâncias que devem ser incorporadas aos óvulos, como vitelogenina, lipídios e cálcio (MARTÍNEZ-SILVESTRE; LAVIN; CUENCA, 2013).

Na natureza podemos nos deparar com obstáculos no estudo reprodutivo de quelônios, que incluem dificuldades em encontrar animais (ou certos estágios da vida) regularmente durante todo o ano, e ausência de informações ao longo do ciclo reprodutivo, uma vez que estes animais possuem hábitos migratórios e tem seus ciclos regidos pelos níveis das águas (ALHO; PÁDUA, 1982; VOGT, 2008). Em avaliações de animais criados em cativeiro podemos obter um produto claro e específico (BOWKETT, 2009).

Os parâmetros reprodutivos de quelônios em cativeiro podem sofrer variação, dependendo dieta, sexo, idade, habitat, condição corpórea e até mesmo a época da coleta (KUCHLING, 1999). Além do que, a origem e por quanto tempo eles foram mantidos em cativeiro antes do início do estudo devem ser considerados (CAMPBELL, 2006). Por isso se faz necessário uma avaliação específica para cada população.

Neste estudo, variáveis reprodutivas foram observadas ao longo do ciclo em cativeiro, e assim foram associadas a fatores ambientais, endócrinos e fisiológicos. A motivação para a realização do trabalho consiste na carência de informações sobre parâmetros reprodutivos a respeito da espécie contemplada na pesquisa.

No capítulo 1, será descrito uma revisão de literatura abordando os principais conceitos a respeito dos ciclos hormonais em tartarugas. O capítulo 2, contempla os principais resultados de avaliação biométrica de matrizes e reprodutores, bem como informações sobre os ninhos e filhotes, assim como condições ambientais (parâmetros da água e ar). E por fim, no capítulo 3, descrevemos as variações observadas dos esteroides gonadais e parâmetros bioquímicos, durante os principais estados reprodutivos desses indivíduos para matrizes e reprodutores.

Estudos como este podem contribuir na tentativa de induzir e acelerar o ciclo reprodutivo em cativeiro, para buscarmos, no futuro, que as matrizes de *P. expansa* possam produzir mais de uma vez por ano em cativeiro, gerando com isso mais ovos, diminuindo a pressão sobre estoques naturais (FELDMAN, 2007). Com os principais resultados científicos obtidos no projeto, será possível apresentarmos aos criadores de quelônios do estado, um pacote tecnológico completo sobre a reprodução deste animal em cativeiro, melhorando o manejo e criando alternativas de indução para ovoposição e gerando um maior retorno aos quelonicultores.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Descrever as características reprodutivas, biométricas e relacionar os níveis de hormônios esteroides gonadais circulantes e perfil bioquímico do plasma com os eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) de *Podocnemis expansa* Schweigger (1812) criadas em cativeiro.

Objetivos específicos

- Avaliar o perfil biométrico do plantel ao longo do ciclo reprodutivo;
- Monitorar o período de desova, registrando as características das fêmeas e seus ninhos em praia artificial;
- Avaliar o período de incubação dos ovos, o sucesso de eclosão e índices biométricos de filhotes de tartaruga-da-Amazônia em cativeiro;
- Analisar as relações alométricas das matrizes de *P.expansa* e seus respectivos ninhos, ovos e filhotes em cativeiro;
- Estudar as relações entre a temperatura de incubação dos ninhos de *P.expansa* e do ambiente com o sexo e tamanho dos filhotes.;
- Quantificar, avaliar e relacionar os níveis de testosterona (T) e β -estradiol (E2) com os principais eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) do plantel de reprodutores fêmeas e machos de tartarugas-da-Amazônia criadas em cativeiro;
- Quantificar, avaliar e relacionar a concentração dos principais parâmetros bioquímicos do plasma (colesterol, triglicerídeos, glicose, proteína total, cálcio, sódio e potássio) com os principais eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) do plantel de reprodutores fêmeas e machos de tartarugas-da-Amazônia criadas em cativeiro;
- Verificar se os hormônios esteroides (testosterona, β -estradiol e a razão E2:T) influenciam na mobilização de lipídios (triglicerídeos e colesterol) ao longo dos principais eventos reprodutivos: vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova do plantel de reprodutores fêmeas e machos de tartarugas-da-Amazônia criadas em cativeiro

Capítulo 1 Ciclos reprodutivos e hormônios sexuais em tartarugas

Resumo

Estudos sobre a biologia reprodutiva são essenciais nos programas de manejo de uma espécie. Para compreender processos comportamentais é preciso conhecer interações coordenadas por mecanismos neuroendócrinos e meio ambiente. Dessa forma, pesquisas sobre a endocrinologia reprodutiva de populações de quelônios em vida livre e cativeiro são desenvolvidas para melhorar nosso conhecimento neste âmbito. O ponto central das complexas interações reprodutivas está no papel dos esteroides gonadais, os quais são espécie-específica e necessitam de investigações apropriadas. Considerando o cenário amazônico, as principais espécies de tartarugas de água doce pertencem ao gênero *Podocnemis*, as quais são alvo de manejo e conservação do Programa PÉ-DE-PINCHA. Pouco se sabe sobre a endocrinologia reprodutiva destes quelônios, mas provavelmente o padrão da variação hormonal sobre a influência do ambiente esteja associado ao ciclo reprodutivo, assim como em outras espécies, tanto de água doce quanto marinhas. Compilar dados atuais e estudos já disponíveis sobre a variação hormonal e outros estudos sobre endocrinologia de tartarugas podem ser cruciais para as ações de manejo e conservação das tartarugas amazônicas.

Palavras-Chave: endocrinologia, quelônios, reprodução, esteroides gonadais;

Abstract

Studies on reproductive biology are essential in the management programs of a specie. To understand behavioral process it is important to know interactions coordinated by neuroendocrine mechanisms and the environment. In this way, research on the reproductive endocrinology of free-ranging turtles and captive are developed to improve our knowledge in this issue. The central point of complex reproductive interactions is the role of gonadal steroids, which are species-specific and need appropriate investigations. In the Amazonian scenario, the main species of freshwater turtles belonging to the genus *Podocnemis*, as which are the target of management and conservation of the PÉ-DE-PINCHA Program. Little is known about the reproductive endocrinology of these turtles, but probably the pattern of hormonal variation on the influence of the environment that is associated with the reproductive cycle, as well as in

other species, both aquatic or marine species. Compiling current data and studies already available on hormonal variation and other studies on turtle endocrinology can be crucial for the management and conservation of Amazonian turtles.

Key-words: endocrinology, turtles, reproduction and gonadal steroids;

1

1.1 INTRODUÇÃO

Atualmente várias espécies de tartarugas estão em situação de vulnerabilidade ou com perigo de extinção local (RODHIN et al., 2018; STANFORD et al., 2020). Em muitos rios da bacia Amazônica houve um dramático declínio populacional resultado de décadas de superexploração (FIORI; SANTOS, 2013; FORERO-MEDINA et al., 2019). Para sua gestão e proteção é fundamental conhecimento sobre a biologia e ecologia desses répteis, por isso em todo o mundo são realizados estudos sobre a biologia reprodutiva de tartarugas, no entanto, ainda existem muitas lacunas em nosso conhecimento.

Embora a ecologia reprodutiva das tartarugas tenha sido objeto de numerosos estudos de longo alcance, a fisiologia reprodutiva desses animais únicos é pouco conhecida (IKONOMOPOULOU et al., 2014; BISTA; VALEZUELA, 2020). Trabalhos pioneiros sobre ciclos reprodutivos tiveram seus resultados publicados na década de 1970 (MOLL, 1979). Tais relatos têm implicações importantes para o planejamento de conservação. Campos-Silva et al., (2018) relataram em seu estudo que praias de desova desses animais, que são protegidas pelas comunidades locais, representam áreas com maior biodiversidade. É necessário maior investigação nos mecanismos reprodutivos afim de se manejar com sucesso uma espécie.

Os mecanismos neuroendócrinos estão correlacionados com o meio ambiente e são relevantes e atuam precisamente no controle e associação dos complexos processos reprodutivos (NORRIS; LOPEZ, 2011). É fundamental compreender como a interação entres esses fatores pode influir no sucesso reprodutivo dos quelônios e corroborar para recuperação e conservação de quelônios. Com isso, esta revisão teve como objetivo identificar os estudos que reportassem dados sobre hormônios reprodutivos (esteroides e gonadotrofinas séricas) e as relações com o ciclo reprodutivo de várias espécies de tartarugas, visando compreender melhor sobre a endocrinologia reprodutiva e seus ciclos em tartarugas amazônicas do gênero *Podocnemis* em cativeiro e em vida livre.

1.2 METODOLOGIA

Para este artigo de revisão, optou-se por levantamento bibliográfico com pesquisas às bases de dados em bibliotecas físicas e virtuais. Como biblioteca física, devido acesso facilitado, foi consultada a Biblioteca Setorial da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Bem como base de dados virtuais provenientes do Google acadêmico, PubMed, SCielo e Periódico CAPES (disponível em www.capes.gov.br). Para isto, utilizou-se as combinações de termos de pesquisa em inglês: “Hormones”, “Turtles”, “Reptilia”, “Gonadotropins” and “Reproduction”. Além disso, utilizou-se uma combinação de termos em português: “Reprodução”, “Quelônios”, “Conservação de quelônios” e “Tartarugas da Amazônia”.

Os critérios de inclusão foram artigos que continham informações sobre biologia reprodutiva ou biologia da conservação de tartarugas. A pesquisa eletrônica ocorreu de janeiro de 2020 a julho de 2021. Como critério de exclusão, não foram considerados artigos que abordavam apenas aspectos reprodutivos de Reptilia não-Chelonia. O material bibliográfico coletado abrange os anos de 1973 até 2021. A pesquisa identificou 81 trabalhos que foram selecionados, cujos resultados serviram de base para formação deste trabalho.

1.3 BIOLOGIA REPRODUTIVA

A ordem Testudines ou Chelonia surgiu há cerca de 200 milhões de anos, sendo que os registros fósseis mais antigos datam do Neotriássico (CADENA et al., 2010). Portanto, as tartarugas pertencem a um dos grupos de “répteis” mais antigos do mundo. A palavra “tartaruga” é um termo genérico que designa um grupo heterogêneo que incluem as tartarugas marinhas, tartarugas de água doce, cágados e jabutis (POUGH et al., 2008). De um modo geral, a ordem possui dois grupos bem definidos: Pleurodira e Cryptodira. Esta classificação é baseada no modo como as tartarugas retraem o pescoço para dentro do casco. Pleurodira são aquelas que dobram o pescoço horizontalmente, enquanto Cryptodira dobram verticalmente para dentro do casco (RUEDA-ALMONACID et al., 2007). Os quelônios podem ser amplamente encontrados nos mais variados habitats na terra, incluindo marinho, água doce e terrestre (VOGT, 2008). Este grupo possui ciclo de vida longo, ao qual sua maturidade sexual é tardia, sendo que o tempo para alcançá-la é espécie-específico (RUEDA-ALMONACID et al., 2007).

Tanto nas espécies terrestres quanto aquáticas, o acasalamento ocorre comumente próximo às áreas de desova (SCHOFIELD et al., 2016). Durante a época reprodutiva, os animais agrupam-se para comportamento de corte e cópula. O dimorfismo sexual é evidente nas formas adultas (TRACCHIA, 2018). Entretanto, em filhotes não há diferenças morfológicas externas perceptíveis (BULL; VOGT, 1979; WYNEKEN, 2001; MALVÁSIO et al., 2012). As tartarugas possuem fertilização interna, no qual os machos possuem um órgão copulador alojado dentro da cloaca (WYNEKEN, 2001; TRACCHIA, 2018).

Todos os quelônios são ovíparos, ou seja, reproduzem-se por meio de ovos. No decurso da desova, as fêmeas aquáticas sobem à praia e depositam seus ovos em buracos no chão, que são escavados com as patas (RUEDA-ALMONACID et al., 2007). Os ninhos que alojam os ovos podem ser constituídos de diferentes tipos de substratos, dependendo da exigência da espécie, assim como o tempo do desenvolvimento embrionário é espécie-específico. O período de incubação para o gênero *Podocnemis* consiste de 42 a 65 dias, mas pode chegar entre 412 a 455 dias para *Geochelone pardalis* (PATTERSON et al., 1989; MAGALHÃES et al., 2017), considerando que o tempo de incubação dos ovos está intimamente relacionado às características granulométricas do substrato, (ANDRADE, 2008, 2012; FERREIRA Jr, 2009) e às condições de umidade e temperatura ao longo do período de incubação podendo acelerar ou retardar a eclosão da ninhada (GÓMEZ-SALDARRIAGA, 2016; MAGALHÃES et al., 2017; MICHALSKI et al., 2020).

Ao longo do desenvolvimento embrionário, inicialmente, as gônadas são bipotenciais e indistinguíveis em ambos os sexos. A determinação do sexo em tartarugas pode ser genética (*genotypic sex determination* – GSD) ou dependente da temperatura (*temperature-dependent sex determination* - TSD) (BISTA; VALEZUELA, 2020). Mas vale ressaltar que, na maioria das espécies de quelônios, o sexo é dependente da temperatura de incubação do ninho, ou seja, existe um período crítico no qual a temperatura exercerá influência na definição do sexo, que comumente é no segundo terço do período de incubação (LUBIANA; FERREIRA JUNIOR, 2009). Porém, isto é variável em algumas espécies. Por exemplo, em *Podocnemis expansa* o período termossensível aparentemente ocorre no último terço (BONACH et al., 2011). É provável que a velocidade do desenvolvimento embrionário inicial possa modificar o *time* do período crítico. Portanto, também é possível que possa influenciar na razão sexual da ninhada (BULL; VOGT, 1979; BISTA; VALEZUELA, 2020).

Após eclosão e emergência dos ninhos, os recém-eclodidos imediatamente se dirigem à água. No período embrionário e nos primeiros dias de vida estes animais encontram-se em maior vulnerabilidade. De maneira geral, as principais ameaças aos quelônios são: caça predatória, degradação ambiental, perda de habitat, mudanças climáticas e enfermidades, as quais podem levar à redução do tamanho populacional e extinção local de espécies vulneráveis (CASTELLO; MACEDO, 2015; ANDRADE, 2017; RODHIN et al., 2018; STANFORD et al., 2020).

1.4 CONSERVAÇÃO E BIOLOGIA DAS MAIS IMPORTANTES ESPÉCIES TARTARUGAS DA AMAZÔNIA

O Brasil é um dos cinco países com maior riqueza em espécies de quelônios, com total de 36 espécies. Desse total, a região Amazônica é a mais relevante, representando cerca de 47% (VOGT, 2008; van DIJK et al., 2014). Todavia, a maioria dos esforços para conservação de quelônios são direcionados às tartarugas marinhas. Pode-se citar o projeto TAMAR (www.tamar.org.br), criado em 1980 e considerado uma das experiências de sucesso de conservação de tartarugas marinhas no mundo, o Projeto Quelônios da Amazônia do IBAMA, criado em 1979 (CANTARELLI et al., 2014) e o projeto PÉ-DE-PINCHA (<https://pt-br.facebook.com/pedepincha>). O Programa Pé-de-pincha é um programa de proteção dos ninhos e conservação das tartarugas de água doce criado em 1999 pelos comunitários da cidade de Terra Santa, Estado do Pará e pesquisadores da Universidade Federal do Amazonas, e que

já fez a soltura de mais de cinco e meio milhões de recém-eclodidos na natureza e que vem sendo desenvolvido em 118 localidades/comunidades de 15 municípios da região (ANDRADE, 2017). Esses programas de proteção/conservação têm influente participação dos comunitários locais, ações de acadêmicos voluntários e projetos de pesquisa (ANDRADE, 2015; MOREIRA; ROBLES, 2017). Para o cenário amazônico, o Programa PÉ-DE-PINCHA atua especialmente sobre um importante recurso de subsistência para os ribeirinhos (ANDRADE, 2017).

Das seis espécies do gênero *Podocnemis*, apenas quatro estão amplamente distribuídas na Amazônia brasileira: *Podocnemis expansa* Schweigger (1812), *Podocnemis unifilis* Troschel (1848), *Podocnemis sextuberculata* Cornalia (1849) e *Podocnemis erythrocephala* Spix (1824) (van DIJK et al., 2014). Para as comunidades que vivem às margens dos rios e dos lagos amazônicos, estes quelônios são utilizados tradicionalmente na culinária e no dia-a-dia e sempre constituíram um item importante de segurança alimentar durante a seca (ANDRADE, 2015; 2017). Contudo, as espécies *P. expansa* e *P. unifilis* são as mais abundantes, amplamente distribuídas e as mais consumidas na região amazônica (PEZZUTI et al., 2010; DANTAS FILHO et al., 2020). Embora em menor escala, a espécie *P. sextuberculata* também é bastante explorada como recurso alimentar pelas populações tradicionais da Amazônia (ANDRADE, 2015).

Entre as espécies de tartarugas de água doce amazônicas, *P. expansa* é a maior em tamanho. As fêmeas desta espécie podem atingir um comprimento de carapaça de 90 centímetros e pesar em média cerca de 60 kg, Vale ressaltar que esta tartaruga pode depositar de 100 a 190 ovos esféricos de casca branca e mole por postura (RUEDA-ALMONACID et al., 2007; VOGT, 2008; RODHIN et al., 2018). No Brasil é popularmente conhecida como “tartaruga da Amazônia”, enquanto o macho é denominado “capitari” ou “capitaré”. (ANDRADE, 2008) Na fase adulta, existe um claro dimorfismo sexual, sendo os machos quase duas vezes menores que as fêmeas. Porém, não existem diferenças morfológicas entre os sexos nos primeiros anos de vida. Durante a cheia, estes animais acumulam energia para migrarem e reproduzirem-se. As fêmeas desovam pela primeira vez com cerca de 10 anos de idade e 10 kg de peso (ANDRADE, 2015). Durante a desova, as tartarugas têm preferência por areia com granulometria grossa e os ninhos têm entre 55 a 80 cm de profundidade (CATIQUE, 2011). O período de incubação dos ovos varia de 36 a 75 dias e após emergirem os filhotes pesam cerca de 22 g. Como em outras espécies, as condições ambientais podem afetar diretamente o tempo de eclosão da ninhada (FERREIRA JUNIOR; CASTRO, 2003; ANDRADE, 2008).

A espécie *P. unifilis* é a segunda espécie em tamanho. É conhecida como “tracajá”, enquanto o macho é denominado “zé-prego”. Estima-se que esta espécie atinge sua maturidade sexual após os sete anos. (ANDRADE, 2008). Por isso, a manutenção de populações naturais saudáveis depende da existência de animais sexualmente maduros, principalmente as fêmeas. Também existe um dimorfismo sexual, sendo as fêmeas maiores que os machos. Fêmeas medem 34 cm de comprimento de carapaça e pesam 3,6 a 10 kg enquanto que machos adultos pesam em média 3 kg. No entanto, entre os recém-eclodidos não existem diferenças morfológicas entre os sexos (VOGT, 2008; FERRARA et al., 2016; LUSTOSA et al., 2016). Seus ninhos são feitos em praias, barrancos e até no meio do capim com 18-25 cm profundidade e põem em média 23 ovos (de 10 até 50 ovos) alongados de casca dura com coloração esbranquiçada. A dimensão média dos ovos varia de 42 x 29 mm e peso médio de $21,7 \pm 2,1$ g (ANDRADE, 2008). A estação de desova varia geograficamente e a incubação varia de 45 a 70 dias, dependendo da temperatura de incubação. Geralmente os filhotes emergem durante a noite e pesam cerca de 13-18 g (LUSTOSA et al., 2016). Do ponto de vista da conservação biológica, o tracajá apresenta as mesmas vulnerabilidades da tartaruga da Amazônia (ALCÂNTARA, 2014).

No caso de *P. sextuberculata*, dependendo da localidade é denominada vulgarmente como “iaçá” “cambéua” ou “pitiú”. Os iaças são menores que os tracajás, as fêmeas medem $24,4 \pm 5,5$ cm de comprimento de carapaça e pesam de 2,5 a 5 kg. Assim como tracajá e a tartaruga, os machos são menores que as fêmeas sendo popularmente chamados de “anori” (ANDRADE, 2008). A desova ocorre logo após as praias surgirem, sendo a primeira a desovar, em seguida o tracajá e posteriormente a tartaruga-da-amazônia (VOGT, 2008). A ovoposição ocorre durante a noite no qual o ninho é escavado em na areia, tendo uma média de 17 cm de profundidade, com tamanho da ninhada podendo variar de 6 a 25 ovos. Os ovos são elipsoidais de casca mole e medem de 20,1 a 58,7 mm de comprimento e de 15,3 a 47,3 mm de largura (FERRARA et al., 2017). A eclosão dos ovos ocorre, geralmente, de 55 a 70 dias (ANDRADE, 2015). Ao nascerem possuem seis protuberâncias no plastrão que tendem a desaparecer com o avançar da idade. Os filhotes emergidos tem em média 4,3 cm e um peso médio de 16,6 g (VOGT, 2008).

Ainda que existam inúmeros estudos sobre ecologia, conservação e até mesmo sobre biologia reprodutiva geral, as informações integradas sobre comportamento reprodutivo e endocrinologia das espécies de tartarugas da Amazônia são quase inexistentes (MOLINA, 1999; RÊBELO; PEZZUTI, 2000; VOGT, 2008; ANDRADE, 2015; CAMPOS-SILVA et al., 2018; FORERO-MEDINA et al., 2019). Uma das poucas informações disponíveis sobre este

assunto, foi realizado em animais mantidos em cativeiro (FRENEAU et al., 2017), sendo que os resultados deste estudo serão discutidos mais adiante. Porém, faz-se necessário interpretar, de maneira integrada, tanto os estudos sobre comportamento reprodutivo e ação dos fatores ambientais, quanto os dados sobre endocrinologia reprodutiva das tartarugas. Infelizmente, informações sobre hormônios reprodutivos em tartarugas de água doce amazônica são escassas.

1.5 PAPEL DOS FATORES AMBIENTAIS NAS ATIVIDADES REPRODUTIVAS

Entender como as atividades reprodutivas de tartarugas estão relacionadas ou são afetadas pelo ambiente que habitam, desde o momento embrionário até o momento de ovoposição, são fundamentais para elaboração de medidas de conservação adequadas, na compreensão sobre dinâmica populacional da espécie e por último, mas não menos importante, fornecer suporte para criação em cativeiro (conservação *ex-situ*). Considerando que o Amazonas possui o maior número de criadores cadastrados do país (ANDRADE, 2008; FERRARA et al., 2016), informações sobre a dinâmica endócrina associada aos eventos reprodutivos poderão corroborar para o desenvolvimento de ferramentas operacionais e estratégias de manejo para criação em cativeiro, possibilitando alavancar a queloniocultura no estado (ANDRADE, 2008; NORRIS; LOPEZ, 2011).

De maneira geral, a reprodução em répteis é tipicamente iniciada por meio de sinais ambientais, que presumivelmente desencadeada internamente por meio de estímulos neuroendócrinos (NORRIS; LOPEZ, 2011). Externamente, a importância da temperatura e disponibilidade de alimento podem afetar o comportamento reprodutivo desses animais, como ocorre, por exemplo, em tartarugas marinhas (MARN, 2017). O fotoperíodo é considerado também outro fator importante na reprodução de répteis, uma vez que pode afetar a recrudescência gonadal e gametogênese (BURGER, 1937). Nas espécies tropicais, existem dois fatores significativos para o desencadeamento das atividades sexuais: temperatura e precipitação (LICHT, 1984).

Para os quelônios, a temperatura ambiente é fundamental para manutenção da temperatura corporal. Estes animais obtêm calor por intermédio da exposição direta aos raios solares. As trocas de calor são realizadas durante o assoleamento nas praias ou nos troncos. O calor é necessário para acelerar os processos digestivos, crescimento e acelerar a maturação dos ovos, além de ajudar na eliminação de ectoparasitas (RUEDA-ALMONACID et al., 2007). As tartarugas amazônicas permanecem ao sol por horas, principalmente quando as temperaturas

no exterior das águas atingem os valores mais quentes do dia, supostamente atuando na aceleração da formação dos ovos (VOGT, 2008).

Claramente, nas espécies de tartarugas amazônicas a determinação sexual ocorre principalmente pela atuação de fatores ambientais (BONACH et al., 2011). Para estes animais, temperaturas elevadas durante o período termossensível culminarão em uma predominância de fêmeas, enquanto temperaturas abaixo da temperatura pivotal (teoricamente, a temperatura capaz de produzir uma proporção de 1:1 na razão sexual) o número de machos será prevalente (SOUZA; VOGT, 1994; BISTA; VALENZUELA, 2020; LUBIANA; FERREIRA-JUNIOR, 2009). Portanto, a escolha do local de desova influenciará na proporção de machos e fêmeas da ninhada. No momento da desova, a tartaruga adota estratégias para melhorar a taxa de sobrevivência da ninhada e manter uma razão sexual necessária às necessidades populacionais da espécie (FERREIRA-JUNIOR, 2009). No entanto, não há como evitar os efeitos devidos aos eventos ambientais estocásticos, tais como as cheias ou secas prolongadas associadas aos eventos climáticos extremos, como ‘El niño’ ou ‘La niña’ (SANTIDRIÁN TOMILLO et al., 2020).

Outro fator que está intimamente ligado às atividades reprodutivas das tartarugas amazônicas é o ciclo de alternância do fluxo de água dos rios. Variações no regime das águas como as cheias e vazantes são consequências da precipitação na bacia Amazônica e degelo das cordilheiras dos Andes (ALHO; PADUA, 1982a; ANDRADE, 2012; 2015; FERRARA et al., 2016). A sincronia entre as atividades reprodutivas de *P. expansa* e o regime dos rios é conhecida tanto pelos povos tradicionais da Amazônia e foi sistematizada pelos pesquisadores há várias décadas (ALHO; PÁDUA, 1982a; 1982b; FERREIRA Jr, 2009 EISEMBERG et al., 2016). Estudos anteriores verificaram que durante a cheia as tartarugas amazônicas permanecem nos lagos. Nesse período acumulam reservas energéticas que serão alocadas para os processos reprodutivos. No início da vazante, as tartarugas migram para o canal principal dos rios principais e, finalmente, deslocam-se aos sítios de desova, onde se agrupam até o momento da subida na praia (ALHO; PÁDUA, 1982b). Praticamente, todas as espécies de tartarugas amazônicas são extremamente sensíveis às mudanças extremas do regime das águas. Fenômenos como inundações das praias de desova por represamento, efeitos do repiquete (fenômeno de subida repentina do nível da água que ocorre durante a vazante/seca) podem alterar a dinâmica populacional dos indivíduos de vida livre (PANTOJA-LIMA, 2009; ANDRADE, 2012; FERRARA et al., 2016).

1.6 HORMÔNIOS REPRODUTIVOS EM TARTARUGAS

Além da influência dos fatores ambientais (temperatura, precipitação, fotoperíodo), as funções gonadais são reguladas por uma complexa interação de fatores endócrinos e parácrinos, como a liberação de hormônios hipotalâmicos, particularmente o hormônio liberador de gonadotropina (GnRH), que está diretamente envolvido na regulação da reprodução em vertebrados (KUCHLING, 1999; NORRIS; LOPEZ, 2011). O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HHG ou HPG, pois a hipófise também conhecida como pituitária) é a principal via regulatória para a reprodução em vertebrados (GODWIN; CREWS, 2002). Um dos principais hormônios sintetizados no hipotálamo é o GnRH, sendo possível encontrar suas diferentes variantes no cérebro dos répteis (KUMAR et al., 2011). Este hormônio estimula a secreção de gonadotrofinas (GTHs) da hipófise anterior (adeno-hipófise) e que, conseqüentemente, regula as funções gonadais (TOKARZ; SUMMERS, 2011). Assim como nos mamíferos, as GTHs são: o hormônio folículo-estimulante (FSH), que influencia principalmente o desenvolvimento de gametas, e o hormônio luteinizante (LH), que influencia principalmente a produção de esteroides sexuais e a liberação de gametas (KUCHLING, 1999; NORRIS, 2007).

O ponto central das complexas interações reprodutivas está no papel que os esteroides gonadais, principalmente, testosterona (T), 17β -estradiol (E_2) e progesterona (P_4), desempenham no início e/ou na manutenção da condição reprodutiva. A concentração sérica dos esteroides gonadais, tanto em machos (Tabela 1), quanto em fêmeas (Tabela 2) variam em função da espécie, localidade, idade e período reprodutivo. Os hormônios esteroides são produzidos a partir do precursor do colesterol, o qual é mobilizado das reservas lipídicas para as gônadas, tanto nos machos, quanto nas fêmeas. Fontes extra-gonadais, tais como as glândulas adrenais também produzem pequenas quantidades de esteroides sexuais (JESSOP et al., 2004). Em machos, a produção de andrógenos tende a aumentar conforme o crescimento do animal (OWENS, 1997). A secreção andrógênica na circulação atua no desenvolvimento das características e comportamentos sexuais. A testosterona é o principal andrógeno, além disso, este hormônio apresenta acentuada variação sazonal, uma vez que está intimamente associado às atividades reprodutivas (HAMANN et al., 2005; AL-HABSI et al., 2006; VALENTE, et al. 2011). Os andrógenos regulam, de maneira diferente, a espermatogênese, pois depende do estado de desenvolvimento dos testículos. Isto foi claramente observado em *Sternotherus odoratus*, uma espécie de tartaruga de água doce amplamente distribuída na América do Norte (MCPHERSON et al., 1982). Os estrógenos podem manter os testículos no estado de repouso.

Contudo, durante a temporada reprodutiva há um aumento tanto de T quando de P₄ (LICHT et al., 1980; NORRIS; LOPEZ, 2011).

Tabela 1.1 - Valores com média±desvio padrão dos esteroides gonadais (em ng/mL) em fêmeas de várias espécies de tartarugas encontradas em diferentes ambientes.

Família	Espécie	Habitat	Local	Período reprodutivo	Testosterona (ng/mL)	Estradiol (ng/mL)	Progesterona (ng/mL)	Referências
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	China	Recém-eclodido	0,105 ± 0,030 (14)	0,205 ± 0,050 (14)	-	Xia et al. (2011)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Omã	Desova (imersão)	-	0,089 ± 0,007 (9)	-	Mahmoud et al. (2011)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Omã	Desova (escavação)	-	0,072 ± 0,006 (11)	-	Mahmoud et al. (2011)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Omã	Desova (efetivada)	-	0,098 ± 0,010 (13)	-	Mahmoud et al. (2011)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Omã	Desova (sem sucesso)	-	0,085 ± 0,006 (17)	-	Mahmoud et al. (2011)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Omã	Desova (efetivada)	0,42 ± 0,040 (22)	-	4,3 ± 0,71 (22)	Al-Habsi et al. (2006)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Omã	Desova (imersão)	0,30 ± 0,039 (21)	-	1,99 ± 0,26 (21)	Al-Habsi et al. (2006)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Omã	Desova (escavação)	0,29 ± 0,026 (12)	-	1,74 ± 0,21 (12)	Al-Habsi et al. (2006)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Omã	Desova (sem sucesso)	0,29 ± 0,045 (16)	-	1.75 ± 0.47 (16)	Al-Habsi et al. (2006)
Dermochelyidae	<i>Dermochelys coriacea</i>	Marinho	Costa Rica	Pré-ovulatório (maduro)	0,225 ± 0,280 (13)	0,053 ± 0,006 (13)	-	Rostal et al. (1996)
Dermochelyidae	<i>Dermochelys coriacea</i>	Marinho	Costa Rica	Pré-ovulatório (intermediário)	0,129 ± 0,166 (6)	0,028 ± 0,005 (6)	-	Rostal et al. (1996)
Dermochelyidae	<i>Dermochelys coriacea</i>	Marinho	Costa Rica	Pós-ovulatório (emprobecido)	0,318 ± 0,089 (7)	0,0160 ± 0,004 (7)	-	Rostal et al. (1996)
Cheloniidae	<i>Caretta caretta</i>	Marinho	Espanha	Acasalamento-Desova	-	-	0, 656	Valente et al. (2011)
Chelydridae	<i>Chelydra serpentina</i>	Dulcícola	Wisconsin, EUA	Ovulação-Vitelogênese	0,900 (45)	0,244 (53)	0,93 (38)	Mahmoud e Litch (1997)
Emydidae	<i>Graptemys flavimaculata</i>	Dulcícola (rios)	Mississippi	Julho	0,085 ± 0,016 (27)	0,180 (7)	0,793 ± 0,471(10)	Shelby et al. (2000)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Isla de aves (Venezuela)	Desova (imersão)	-	-	0,65; 1,99 (2)	Litch et al (1980)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Isla de aves (Venezuela)	Desova	-	-	1,37 ± 0,19 (11)	Litch et al (1980)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	Isla de aves (Venezuela)	Pós-desova	-	-	42,9; 44,1 (2)	Litch et al (1980)

Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	México	Copulação	1,23 ± 0,29 (16)	-	3,3 ± 0,42 (16)	Litch et al (1980)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	México	-	1,28 ± 0,46 (9)	-	2,93 ± 1,44 (9)	Litch et al (1980)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	México	Desova completa	1,32 ± 0,31 (9)	-	7 ± 2,18 (9)	Litch et al (1980)
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	México	Pós-desova (48h)	0,26 ± 0,11 (6)	-	0,118 ± 0,001(6)	Litch et al (1980)
Cheloniidae	<i>Lepidochelys kemp</i>	Marinho	Índias Ocidentais	Março (acasalamento)	0,378 ± 0,040 (10)	0,021 ± 0,001 (10)	0,471.3±0,086 (10)	Rostal et al. (1998)
Cheloniidae	<i>Lepidochelys kemp</i>	Marinho	Índias Ocidentais	Maio (nidificação) /julho (pós-desova)	0,030 ± 0,004 (10)	0,0007 ± 0,001 (10)	-	Rostal et al. (1998)
Cheloniidae	<i>Lepidochelys kemp</i>	Marinho	Índias Ocidentais	dezembro (pré-acasalamento)	-	-	0,143 ± 0,032 (10)	Rostal et al. (1998)

Tabela 1.2 - Valores com média±desvio padrão dos níveis de testosterona (em ng/mL) em machos de várias espécies de tartarugas encontradas em diferentes ambientes.

Família	Espécies	Habitat	Local	Período reprodutivo	Testosterona (ng/mL)	Referências
Cheloniidae	<i>Chelonia mydas</i>	Marinho	China	-	0,186 ± 0,058 (14)	Xia et al. (2011)
Cheloniidae	<i>Caretta caretta</i>	Marinho	Espanha	Pré-acasalamento (janeiro a abril)	47,43-6,3 (1)	Valente et al. (2011)
Cheloniidae	<i>Caretta caretta</i>	Marinho	Espanha	Desova	38,92 (1)	Valente et al. (2011)
Chelydridae	<i>Chelydra serpentina</i>	Dulcícola	Wisconsin, EUA	Espermatogêse-Espermiogêse	25 (43) - 50 (45)	Mahmoud e Litch (1997)
Emydidae	<i>Graptemys flavimaculata</i>	Dulcícola	Mississippi	Outubro	8,52 (4)	Shelby et al. (2000)
Testudinidae	<i>Gopherus flavomarginatus</i>	Terrestre	Durango, México	Antes da desova (abril-maio)	133,15 (1)	Trápaga et al. (2000)
Testudinidae	<i>Gopherus flavomarginatus</i>	Terrestre	Durango, México	Final da desova (julho)	1028 ± 108,66 (4)	Trápaga et al. (2000)
Testudinidae	<i>Gopherus flavomarginatus</i>	Terrestre	Durango, México	Pós-hibernação (novembro)	310,31 ± 124,41 (6)	Trápaga et al. (2000)
Cheloniidae	<i>Lepidochelys kemp</i>	Marinho	Índias Ocidentais	Pós-desova (setembro)	8,44 ± 0,65 (10)	Rostal et al. (1998)
Cheloniidae	<i>Lepidochelys kemp</i>	Marinho	Índias Ocidentais	Nidificação (maio)	0,65 ± 0,16 (10)	Rostal et al. (1998)
Emydidae	<i>Terrapene carolina</i>	Terrestre	Indiana, EUA	Comportamentos sexuais	2827,18 ± 600,41 (3)	Currylow et al. (2013)
Emydidae	<i>Terrapene carolina</i>	Terrestre	Indiana, EUA	Comendo	2092,67 ± 735,35 (2)	Currylow et al. (2013)
Emydidae	<i>Terrapene carolina</i>	Terrestre	Indiana, EUA	Abril	1386,0 ± 317,0	Currylow et al. (2013)
Emydidae	<i>Terrapene carolina</i>	Terrestre	Indiana, EUA	Desova (maio)	172,5 ± 337,2	Currylow et al. (2013)
Testudinidae	<i>Geochelone nigra</i>	Terrestre	Galápagos, Equador	Estação de acasalamento (fevereiro)	28,94 ± 6,38 (8)	Schramm et al. (1999)
Testudinidae	<i>Geochelone nigra</i>	Terrestre	Galápagos, Equador	Pós-desova (novembro)	3,75 ± 0,97 (8)	Schramm et al. (1999)
Testudinidae	<i>Geochelone nigra</i>	Terrestre	Galápagos, Equador	Desova (setembro)	1,83 ± 0,29 (8)	Schramm et al. (1999)
Cheloniidae	<i>Caretta caretta</i>	Marinho	Flórida, EUA	Reprodutivamente inativos	2,82 ± 0,66 ⁻¹ (4)	Blanvillain et al. (2008)
Cheloniidae	<i>Caretta caretta</i>	Marinho	Flórida, EUA	Reprodutivamente ativos	113 ± 6,45 ⁻¹ (36)	Blanvillain et al. (2008)

Em fêmeas, os estrógenos e andrógenos são primariamente produzidos e secretados pelas células da teca nos ovários, enquanto o P₄ é produzido pelo corpo lúteo durante a fase pós-ovulatória (NORRIS; LOPEZ, 2011). O 17β-estradiol é o principal estrógeno secretado em répteis, e comumente é objeto de estudo em fêmeas. A produção hormonal varia muito ao longo do ano, dependente da espécie, sexo, condições ambientais e/ou condição reprodutiva. Os andrógenos cumprem a função importante como precursores de estrógenos. Porém, recentemente foi observado que os andrógenos e os receptores também têm papel fundamental na determinação da densidade ovariana em *Chelydra serpentina* (SCHOEDER; RHEN, 2019). O hormônio P₄ é um precursor essencial para síntese de outros esteroides. Além do mais, a indução da vitelogênese está intimamente relacionada à presença de estrógenos circulantes. Estudos realizados em *Chrysemys picta* demonstraram que a progesterona atua como inibidora das gonadotrofinas (KLICKA; MAHAMOUD, 1977). Em resposta ao aumento na secreção de progesterona, os níveis de liberação de GnRH diminuem, especialmente os valores de LH. Nas fêmeas os valores plasmáticos de progesterona permanecem baixos enquanto que as concentrações de E₂ estão altas, sugerindo que a indução do estradiol na vitelogênese é regulada por fatores progestágenos.

Outro importante hormônio produzido pelas fêmeas é a vitelogenina (Vtg). A vitelogênese é um processo estrógeno-dependente, ou seja, sua indução ocorre pela presença de altas concentrações de estrógenos circulantes (NORRIS; LOPEZ, 2011). Porém, a síntese da Vtg não ocorre no ovário, mas no fígado, o que ocasiona uma hipertrofia no órgão durante sua produção (GAVAUD, 1986). A Vtg é responsável pela alocação de grandes quantidades de material nutritivo (vitelo) para o crescimento e maturação folicular durante a vitelogênese. Por exemplo, os altos níveis de triglicérides encontrados em fêmeas de *C. picta* estão associadas ao desenvolvimento ovariano (DUGGAN, et al., 2001). Um elemento que tem sido usado como indicador da vitelogênese em quelônios é o cálcio, que naturalmente se liga à molécula de Vtg quando transportado na corrente sanguínea (NORRIS; LOPEZ, 2011). Como a vitelogênese é um processo que envolve grande mobilização energética materna, a alimentação das fêmeas nos períodos que antecedem à desova, torna-se um fator limitante para reprodução anual das tartarugas.

1.7 CICLOS HORMONAIS EM TARTARUGAS

Embora o ciclo reprodutivo das tartarugas tenha sido objeto de numerosos estudos de longo prazo, a endocrinologia reprodutiva desses animais é pouco conhecida, se comparada aos demais vertebrados. Trabalhos pioneiros nesta área foram publicados na década de 1970 (MOLL, 1979). Tais relatos podem ajudar a desenvolver ferramentas operacionais e estratégias de manejo para a criação em cativeiro e planejamento de ações conservacionistas para animais de vida livre. Exemplos de estudos em animais de vida livre foram feitos para a tartaruga terrestre *Gopherus polyphemus*. Para esta espécie, foram disponibilizados resultados sobre ciclos sazonais dos hormônios esteroides testosterona, 17 β -estradiol, progesterona, bem como a relação do comportamento de acasalamento e estes esteroides gonadais (OTT et al., 2000). Nas fêmeas desta espécie, o período de acasalamento dura cerca de cinco meses, iniciando em meados do mês de junho. Enquanto, a vitelogênese dura cerca de sete meses, começando no mês de agosto. Após isso, ocorre o período de desova. Como esperado, os níveis de E₂ estão intimamente associados à vitelogênese, ou seja, o pico ocorre no início de agosto e dura cerca de sete meses. Por outro lado, o pico de progesterona ocorre no momento da ovoposição (Figura 1A). Já nos machos, a espermiogênese inicia-se no começo do acasalamento. Concomitantemente, os níveis de T acompanham o período de acasalamento, e, por sua vez, a espermatogênese, espermiogênese e espermição (Figura 1B). Portanto, observa-se claramente uma sincronia entre os eventos reprodutivos e as variações nos hormônios esteroides gonadais.

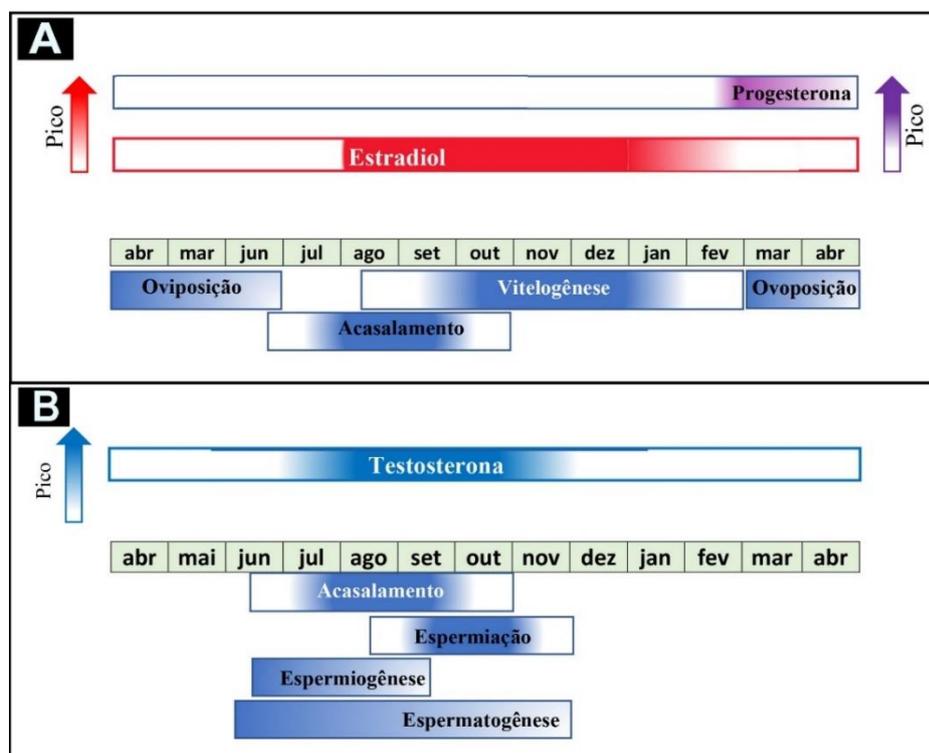


Figura 1 - Representação esquemática das flutuações hormônios esteroides e eventos reprodutivos nas fêmeas (A) e machos (B) de *Gopherus polyphemus*. A intensidade de cor dentro dos retângulos indica o pico dos eventos reprodutivos e dos esteroides gonadais. Modelo adaptado de Ott et al. (2000).

Em tartarugas marinhas, a fisiologia reprodutiva vem sendo descrita principalmente para fêmeas (NORRIS; LOPEZ, 2011). A relação entre variação hormonal e eventos reprodutivos tem sido amplamente estudada em tartaruga-verde, *Chelonia mydas* (LICHT et al., 1979; HAMMAN et al., 2005; AL-HABS et al., 2006; IKONOMOPOULOU et al., 2014). Uma generalização dos eventos reprodutivos e sua relação com ciclo hormonal de *Chelonia mydas* pode ser observada na figura 2. Nesta espécie, a vitelogênese ocorre alguns meses antes da migração e dura cerca de 10-12 meses. Similarmente, como ocorre na tartaruga terrestre *Gopherus polyphemus*, o pico de estradiol ocorre no início da vitelogênese. O aumento na concentração de E₂ sugere que este esteroide seja o principal hormônio que desencadeia o crescimento folicular (HO et al., 1987). Os níveis de testosterona tendem a aumentar coincidente com a receptividade do acasalamento, sugerindo que a testosterona realmente tem participação no comportamento reprodutivo das fêmeas (LICHT et al., 1979). Durante o período de nidificação, a concentração de T tende a decrescer conforme as sucessivas oviposturas na temporada. Enquanto isto, o hormônio luteinizante (LH) tende a aumentar no começo do período de nidificação e tem pico no final deste período e no começo da oviposição. É nesse momento que ocorre um pico da progesterona (LICHT et al., 1979). Outros estudos realizados nesta espécie têm corroborado tais observações (AL-HABS et al., 2006).

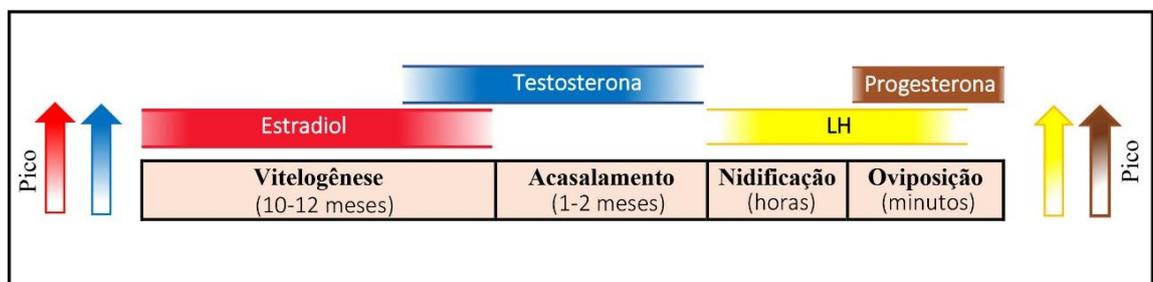


Figura 2 - Linha do tempo dos eventos reprodutivos e variação dos hormônios sexuais em fêmeas de tartaruga verde, *Chelonia mydas*. A intensidade de cor das figuras indica o pico de concentração dos hormônios sexuais. Modelo adaptado de AL-HABS et al. (2006).

Em *Chelydra serpentina*, uma espécie de tartaruga de água doce, os ciclos gonadais e hormonais foram estudados detalhadamente em ambos os sexos (LEWIS; KLICKA, 1979;

MESNER et al., 1993; MAHMOUD; LICHT, 1997). Esta tartaruga ocorre na América do Norte, e o acasalamento estende-se de março a novembro. Nos machos, entre os meses de abril e maio, os pesos dos testículos diminuem. Porém, a gônada aumenta a partir deste período, contudo volta a diminuir no mês de outubro quando os espermatozoides são transferidos para os epidídimos (WHITE; MHURPY, 1973). O pico de T e FSH ocorre sincronicamente com a espermatogênese e a espermição; entretanto, os níveis de FSH ocorrem antes do que os níveis de testosterona (Figura 3). Para esta espécie, os ciclos ovariano e testicular são mais curtos do que os relatados em outras tartarugas de água doce (MAHMOUD; LICHT, 1997). Mendonça e Licht (1986) encontraram dados similares para tartaruga almiscarada, *Sternotherus odoratus*, no qual foi possível verificar que os níveis de T e FSH são/ maiores de agosto até o final de outubro, no entanto concentrações de LH não foram detectáveis. Em fêmeas de *C. serpentina* em cativeiro, a ovulação é um processo rápido e à medida que os folículos descem para os cornos uterinos, há um aumento significativo de E₂ e P₄ (MAHMOUD; LICHT, 1997). Os folículos ovarianos são pequenos de meados de junho até o final de julho, mas aumentam de tamanho rapidamente em agosto e setembro, atingindo o tamanho ovulatório no final de outubro (WHITE; MHURPY, 1973). Os níveis de testosterona, 17β-estradiol e progesterona são altamente correlacionados com o crescimento folicular e vitelogênese (MAHMOUD; LICHT, 1997).

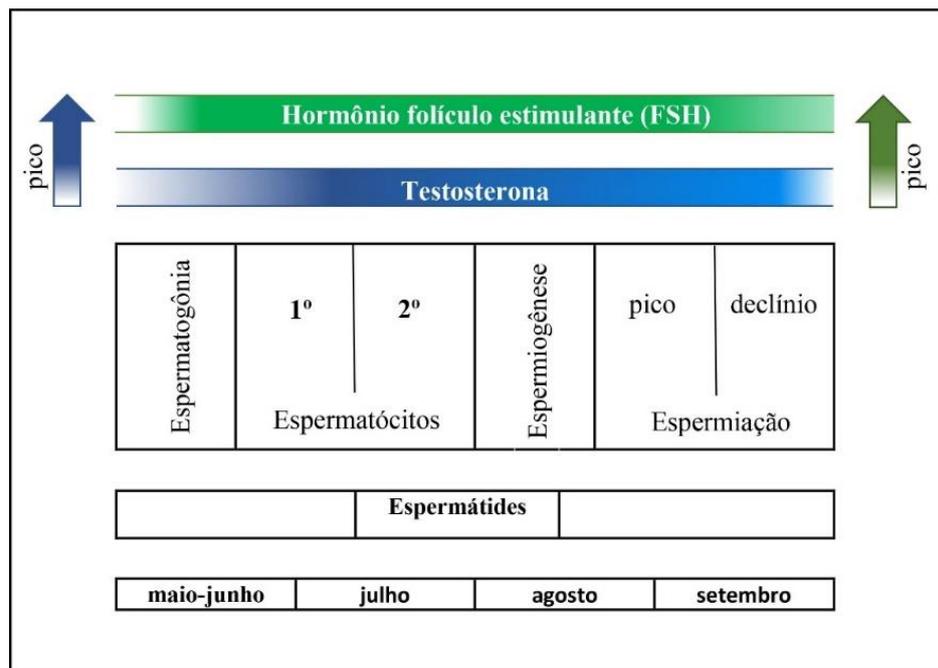


Figura 3 - Associação entre as fases do ciclo espermatogênico e hormônios reprodutivos de macho de *Chelydra serpentina*. A intensidade de cores nas figuras

indica o pico dos hormônios testosterona e folículo estimulante. Modelo adaptado de MAHMOUD; LICHT (1997).

1.8 CICLO HORMONAL EM *P. expansa*

Recentemente, foi publicado o primeiro registro sobre endocrinologia reprodutiva de *P. expansa* (FRENEAU et al., 2017). Os autores avaliaram os níveis de hormônios gonadotróficos, esteroides gonadais, corticosterona e prolactina em animais mantidos em condições de cativeiro. No entanto, deve-se considerar o fato de que os animais foram transferidos do seu local de origem (Estação do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, Rio meia-ponte, Nerópolis-GO) para um reservatório projetado com banco de areia (Setor experimental de Piscicultura, Goiânia-GO, Universidade Federal de Goiás). Nas fêmeas, houve um aumento nos níveis de 17β -estradiol entre os meses de maio a julho. Em algumas áreas da região amazônica, estes meses correspondem ao pico das águas cheias. Na natureza, durante a cheia, as fêmeas acumulam reservas nutritivas que serão alocadas para as atividades reprodutivas. Portanto, como nos demais répteis, o pico de 17β -estradiol nos meses de maio a junho pode coincidir com o período da vitelogênese em *P. expansa*. Por outro lado, os níveis de P_4 apresentaram um aumento no período da seca (entre os meses de julho a outubro) e diminuem na estação chuvosa (novembro a maio). Portanto, nesta espécie, as concentrações de E_2 e P_4 apresentaram uma relação inversa. O papel da progesterona em répteis ainda não é muito claro. Devido a sua ação antigonadotrópica, a P_4 pode atuar na retenção de ovos até que as condições sejam favoráveis (HO et al., 1987). Contudo, como informado anteriormente, este estudo foi realizado em animais transferidos para área experimental, portanto, não se pode afirmar que investimento energético do animal. Além disso, não se sabe ao certo se os animais efetivamente desovaram. Nos machos, os picos das concentrações de testosterona ocorreram nos meses de maio e julho. O pico de T pode coincidir com o período de acasalamento na natureza. Baseados nos resultados registrados acima, uma representação gráfica apresentada na figura 4 sugere como os eventos reprodutivos podem estar associados às variações nos esteroides gonadais de *P. expansa*, e possivelmente, eventos similares podem ocorrer nas outras espécies do gênero *Podocnemis*. Garcez (2009) em seu estudo apresentou um panorama comportamental para *P. expansa* em criadores do Amazonas, avaliando desde a desova até a eclosão. Tais comportamentos podem ser associados aos eventos endócrinos das espécies.

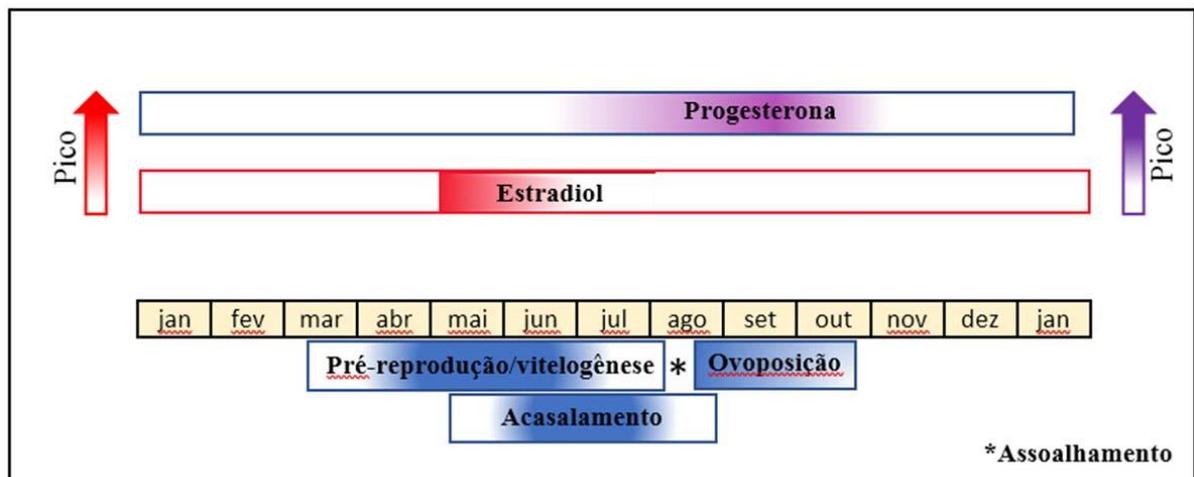


Figura 4 - Modelo sugestivo entre os eventos reprodutivos e variação nos níveis de esteroides gonadais das tartarugas amazônicas do gênero *Podocnemis*. O modelo foi baseado nos dados de esteroides gonadais de *P. expansa* realizados por Freneau et al. (2017) e Garcez (2009). A intensidade de cores dentro das figuras representa o pico dos eventos reprodutivos e hormonais.

1.9 CONCLUSÕES

Como observado para outras espécies de tartarugas, é provável que o padrão da variação hormonal associado ao ciclo reprodutivo também possa ocorrer nas tartarugas amazônicas. Contudo, assim como o comportamento reprodutivo de *P. expansa* é governado pelo pulso hidrológico na Amazônia, muito provavelmente os ciclos hormonais também devem flutuar em função de variáveis ambientais.

Por tanto, a escassez de estudos sobre endocrinologia reprodutiva e comportamento da reprodução das tartarugas amazônicas de vida livre e em cativeiro dificulta a compreensão de como os fatores ambientais (temperatura, precipitação, fotoperíodo, alimentação) afetam o desempenho reprodutivo destas espécies. O conjunto dessas informações podem ser cruciais para as ações de manejo e conservação das tartarugas amazônicas.

1.10 REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, A. S. Conservation of freshwater turtles in Amazonia: retrospective and future prospects. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 2, n. 8, p. 666-672, 2014.
- AL-HABSI, A. A. et al. A. Plasma hormone levels in the green turtles *Chelonia mydas* during peak period of nesting at Ras Al-Hadd-Oman. **Journal of endocrinology**, v. 1, p. 4-14, 2006.
- ALHO, C. J. R.; PÁDUA, L. F. M. Sincronia entre o regime de vazante do rio e o comportamento de nidificação da tartaruga da Amazônia *Podocnemis expansa* (Testudinata: Pelomedusidae). **Acta Amazônica**, v.12, n.2, p. 323-326, 1982a.
- ALHO, C. J. R.; PÁDUA, L. F. M. Reproductive parameters and nesting behavior of the Amazon turtle *Podocnemis expansa* (Testudinata: Pelomedusidae) in Brazil. **Canadian Journal of Zoology**, v.60, p. 97-103, 1982b.
- ANDRADE, P. C. M. Manejo participativo de quelônios por comunidades na Amazônia. In: MARCHAND, G.; VELDEN, F. V. (Org.) **Olhares cruzados sobre as relações entre seres humanos e animais silvestres na Amazonia (Brasil, Guiana Francesa)**. Manaus: EDUA. 2017. p.163-192.
- ANDRADE, P.C.M. **Manejo Comunitário de Quelônios – PROJETO PÉ-DE-PINCHA**. Manaus, AM: Editora e gráfica Moderna, 2015. 325 p.
- ANDRADE, P. C. M. **Manejo Comunitário de Quelônios Projeto Pé-de-pincha**. Gráfica Moderna, Manaus. 2012. 786 p.
- ANDRADE, P. C. M. **Criação e Manejo de quelônios no Amazonas. Projeto Diagnóstico da criação de quelônios no Estado do Amazonas Manaus - IBAMA**, Pró-várzea. 528 p, 2008.
- BISTA, B.; VALENZUELA, N. Turtle insights into the evolution of the reptilian karyotype and the genomic architecture of sex determination. **Genes**, v. 11, n. 4, p. 1-16, 2020.
- BLANVILLAIN, G. et al. Comparing methods for the assessment of reproductive activity in adult male loggerhead sea turtles *Caretta caretta* at Cape Canaveral, Florida. **Endangered Species Research**, v. 6, n. 1, p. 65-85, 2008.
- BONACH, K.; MALVASIO, A.; MATUSHIMA, E. R.; VERDADE, L. M.; Temperature-sex determination in *Podocnemis expansa* (Testudines, Podocnemididae) Iheringia, **Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 101, n. 3, p. 151-155, 2011.
- BULL, J. J.; VOGT, R. C. Temperature-dependent sex determination in turtles. **Science**, v. 206, p. 1186-1188, 1979.
- BURGER, J. W. Experimental sexual photoperiodicity in the male turtle, *Pseudemys elegans* (Wied). **The American Naturalist**, v. 71, p. 481–487, 1937.
- CADENA, E. A.; BLOCH, J. I.; JARAMILLO, C. A. New podocnemidid turtle (Testudines: Pleurodira) from the middle-upper paleocene of South america. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 30, n. 2, p. 367-382, 2010.

- CAMPOS-SILVA, J. V.; HAWES, J. E.; ANDRADE, P. C. M.; PERES, C. A. Unintended multispecies co-benefits of an Amazonian community-based conservation program. **Nature**, v. 1, p. 650–656, 2018.
- CANTARELLI, V. H.; MALVASIO, A.; VERDADE, L. M. Brazil's *Podocnemis expansa* Conservation Program: Retrospective and Future Directions. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 13, n. 1, p. 124-128, 2014.
- CASTELLO, L.; MACEDO, M. N. Large-scale degradation of Amazonian freshwater ecosystems. **Global Change Biology**, v. 10, n. 1, p. 990-1007, 2016.
- CATIQUE, T. S. **Caracterização e influência do substrato de áreas naturais e artificiais de reprodução da tartaruga-da-amazônia *Podocnemis expansa* e tracajá *Podocnemis unifilis* na Amazônia**. 2011. 44 p. Dissertação (Monografia conclusão do curso de Agronomia) – UFAM. Manaus, AM.
- CURRYLOW, A. F. et al. Seasonal variations in plasma vitellogenin and sex steroids in male and female Eastern Box Turtles, *Terrapene carolina carolina*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 180, n.1, p. 45-48, 2013.
- DANTAS FILHO, J. V. et al. Creation of chelonians promotes conservation and social and environmental development in the Amazonia. **Revista Ciência e Saúde Animal**, v. 2, n. 1, 2020.
- DUGGAN, A. et al. Seasonal variation in plasma lipids, lipoproteins, apolipoprotein A-I and vitellogenin in the freshwater turtle, *Chrysemys picta*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 130, p. 253-269, 2001.
- EISEMBERG, C. C. et al. Vulnerability of Giant South American Turtle (*Podocnemis expansa*) nesting habitat to climate-change-induced alterations to fluvial cycles. **Ciência da Conservação Tropical**, v. 9, n. 4, p. 1-12, 2016.
- FERRARA, C. R. et al. História natural e biologia dos quelônios amazônicos. In: Balestra, R. A. M. (Ed.). IBAMA - **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Projeto Quelônios da Amazônia: Manual Técnico: Manejo conservacionista e monitoramento populacional de quelônios**, 2016. 125 p. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/ran/images/stories/Downloads/Manual_Tecnico_Manejo_Monitoramento_Quelonios_Amazonicos_2016.pdf, Acesso em: 10 de maio de 2020.
- FERRERA Jr., P. D. Efeitos de Fatore ambientais na reprodução de tartarugas. **Acta Amazônica**, v. 39, n. 2, p. 319-334. 2009.
- FERRERA Jr., P. D.; CASTRO, P. T. A.; Geological controlo of *Podocnemis expansa* and *Podocnemis unifilis* nesting áreas in rio Javáes, Bananal Island, Brazil. **Acta Amazônica**, v.33, n.3, p. 431-468. 2003.
- FIORI, M. M.; DOS SANTOS, C. F. M. Colonizadores portugueses, tartarugas e peixes-boi: uma história da busca por carne, gordura e combustível na Amazônia do século XVIII. **Diálogos**, v. 17, n. 3, p. 1247-1257, 2013.
- FORERO-MEDINA, G. et al. Sobre o futuro da gigante tartaruga de rio da América do Sul *Podocnemis expansa*. **Oryx**, Cambridge, p. 1-8, 2019.

FRENEAU, G. E. et al. Gonadotrophic, prolactin, corticosterone, and gonadal hormones levels over 15 months in Giant Amazon River Turtles – *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) (Testudines: Podocnemididae), in captive conditions. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 2, p. 347-355, 2017.

GARCEZ, J. R. **Comercialização e reprodução de tartaruga da amazônia (*Podocnemis expansa*) e do traçajá (*P.unifilis*) em cativeiro no estado do Amazonas**. Monografia de conclusão do curso de Engenharia de Pesca/UFAM. Manaus. 2009. 93 p.

GAVAUD, J. Vitellogenesis in the lizard *Lacerta vivipara* Jacquin. II. Vitellogenin synthesis during the reproductive cycle and its control by ovarian steroids. **General and Comparative Endocrinology**. v. 63, p. 11–23, 1986.

GÓMEZ-SALDARRIAGA, C; VALENZUELA, N; CEBALLOS, C. P. Effects of Incubation Temperature on Sex Determination in the Endangered Magdalena River Turtle, *Podocnemis lewyana*. **Chelonian Conservation and Biology**. v. 15, n. 1, p. 43-53, 2016.

GODWIN, J; CREWS, D. Hormones, brain, and behavior in reptiles. In: PFAFF, D. W.; ARNOLD, A. P.; ETGEN, A. M.; FAHRBACH, S. E.; RUBIN, R. T. (Eds.); **Hormones, Brain and Behavior**. New York: Academic Press, 2002. p. 545–585.

HAMANN, M.; JESSOP, T. S.; LIMPUS, C. J.; WHITTIER, J. M. Regional and annual variation in plasma steroids and metabolic indicators in female green turtles, *Chelonia mydas*. **Marine Biology**, v. 148, p. 427–433, 2005.

HO, S. M.; LANCE, V.; MEGALLOUDIS, M. Plasma sex-steroid binding protein in a seasonally breeding reptile, *Alligator mississippiensis*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 65, p. 121–132, 1987.

IKONOMOPOULOU, M. P. et al. Hormone and Metabolite Profiles in Nesting Green and Flatback Turtles: Turtle Species with Different Life Histories. **Advances in Zoology**, v. 20, p.9, 2014.

JESSOP, T. S., SUMNER, J. M., LIMPUS, C. J.; WHITTIER, J. M. Interplay between plasma hormone profiles, sex and body condition in immature hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) subjected to a capture stress protocol. **Comparative Biochemistry & Physiology**, v. 137, p. 197–204, 2004.

KLICKA, J.; MAHMOUD, I. Y. The effects of hormones on the reproductive physiology of the painted turtle, *Chrysemys picta*. **General and Comparative Endocrinology**, n. 31, p. 407–413, 1977.

KUCHLING, G. **The Reproductive Biology of the Chelonia**. Zoophysiology, Nova York: Springer Berlin Heidelberg, 1999. 234 p.

KUMAR, S.; ROY, B.; UMESH, R. Hormonal Regulation of Testicular Functions in Reptiles. In: NORRIS, D.O., LOPEZ, K.H. (Eds.) **Hormones and Reproduction of Vertebrates**, vol. 3. San Diego, CA: Academic Press, 2011. p. 63-88.

LEWIS, J.; MAHMOUD, I. Y.; KLICKA, J. Seasonal fluctuations of plasma progesterone and oestradiol-17b in the female snapping turtle, *Chelydra serpentina*. **Journal of herpetology**, v. 80, p. 127–131, 1979.

LICHT, P. In: LEMMING, G. E. (Ed.). **Marshall's Physiology of Reproduction: Reproductive Cycles of Vertebrates**. Reptiles, Vol. 1. 4. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1984. p. 206–282.

LICHT, P.; WOOD, J.; OWENS, D. W.; WOOD, F. (1979). Serum GTHs and steroids associated with breeding activities in the green sea turtle *Chelonia mydas* I: Captive animals. **General and Comparative Endocrinology**, v. 39, p. 274–289, 1979.

LICHT, P.; RAINEY, W.; CLIFFTON, K. Serum gonadotropin and steroids associated with breeding activities in the green sea turtle *Chelonia mydas* II: Mating and nesting in natural populations. **General and Comparative Endocrinology**, v. 40, p. 116-122, 1980.

LUBIANA, A.; FERREIRA JUNIOR, P. D. Pivotal temperature and sexual dimorphism of *Podocnemis expansa* hatchlings (Testudines: Podocnemididae) from Bananal Island, Brazil. **Zoologia**. v. 26, p. 527–533, 2009.

LUSTOSA, A. P. G. et al. **Manejo conservacionista e monitoramento populacional de quelônios amazônicos**. Brasília: IBAMA, 2016; 138 p.

MAGALHÃES, M. S. et al. Embryonic development of the Giant South American River Turtle, *Podocnemis expansa* (Testudines: Podocnemididae). **Zoomorphology**, v. 136, n. 4, p. 523-537, 2017.

MAHMOUD, I. Y. et al. Detection of low plasma estradiol concentrations in nesting green turtles (*Chelonia mydas*) by HPLC/Ms-Ms. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 315 A, n. 3, p. 170-174, 2011.

MAHMOUD, I. Y.; LICHT, P. Seasonal Changes in Gonadal Activity and the Effects of Stress on Reproductive Hormones in the Common Snapping Turtle, *Chelydra serpentina*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 107, p. 359–372, 1997.

MALVASIO, A.; ROCHA, J. M. N.; SANTOS, H. D. Morfometria e histologia das gônadas de machos e fêmeas recém-eclodidos de *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae). **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 4, p. 823-830, 2012.

MARN, N. et al. Environmental effects on growth, reproduction, and life-history traits of loggerhead turtles. **Ecological Modelling**, v. 360, p. 163–178, 2017.

MCPHERSON, R. J. et al. Plasma Steroids Associated with Seasonal Reproductive Changes in a Multiclutched Freshwater Turtle, *Sternotherus odoratus*. **General and comparative endocrinology**, v. 48, n. 1, p. 440-451, 1982.

MENDONÇA, M. T.; LICHT, P. Seasonal cycles in gonadal activity and plasma gonadotropin in the musk turtle *Sternotherus odoratus*. **General and comparative endocrinology**, v. 62, p. 459–469, 1986.

MESNER, P. W.; MAHMOUD, I. Y.; CYRUS, R. C. Seasonal testosterone levels in Leydig and Sertoli cells of the snapping turtle (*Chelydra serpentina*) in natural populations. **Journal of Experimental Zoology**, v. 266, p. 266–276, 1993.

MICHALSKI, F. et al. Substrate influences human removal of freshwater turtle nests in the eastern Brazilian Amazon. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 8082, 2020.

- MOLINA, F. B. **Some Comments of Turtle Conservation in Brazilian Zoos.** São Paulo, SP: Revista Holos – Órgão informativo do Centro de Estudos ambientais da Universidade Estadual Paulista, 1999. 235p.
- MOLL, E. O. Reproductive cycles and adaptations. *In*: HARLESS, M.; MORLOCK, H. (Eds.), **Turtles: Perspectives and Research.** New York: John Wiley & Sons, 1979. p. 305–331.
- MOREIRA, J. C.; ROBLES, R. A. Tamar Project: Conservation and Education in Ecotourism Activities related to turtles in Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. *In*: **Wildlife Tourism, Environmental Learning and Ethical Encounters.** Springer, Cham, 2017. p. 169-181.
- NORRIS, D. O. **Vertebrate Endocrinology.** San Diego and London: Academic Press, 2007.
- NORRIS, D.O., LOPEZ, K.H. **Hormones and Reproduction of Vertebrates, vol. 3.** San Diego and London: Academic Press, 2011. 406 p.
- OTT, J. A. et al. Seasonal changes in sex and adrenal steroid hormones of gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*). **General and comparative endocrinology**, v. 117, p. 299–312, 2000.
- OWENS, D. W. Hormones in the life history of sea turtles. *In*: Lutz, P. L.; Musick, J. A. (Eds.), **The Biology of Sea Turtles, Vol. 1.** Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 315–341.
- PANTOJA-LIMA, J. et al. Seleção de locais de desova e sobrevivência de ninhos de quelônios *Podocnemis* no baixo rio purus, Amazonas, Brasil. **Colombian Journal of Animal Science.** v. 1, p. 1-23, 2009.
- PATTERSON, R. W.; BOYCOTT R. C.; MORGAN, D. R. Reproduction and husbandry of the leopard tortoise (*Geochelone pardalis*) in an alien habitat. **The Journal of the Herpetological Association of Africa.** v. 36, n. 1, p. 75-75, 1989.
- PEZZUTI, J. C. B.; PANTOJA-LIMA J.; FÉLIX-SILVA, D.; BEGOSSI, A. Uses and taboos of turtles and tortoises along Rio Negro, Amazon basin. **Journal of Ethnobiology**, v. 30, n.1, p.153-168, 2010.
- POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A Vida dos Vertebrados.** 4 ed. São Paulo: Atheneu. 2008. p. 315 – 320.
- RÊBELO, G.; PEZZUTI, J. Percepções sobre o consume de quelônios na Amazônia. Sustentabilidade e alternativas ao Manejo atual. **Ambiente & Sociedade.** v. 3, n. 6/7, p. 85-104, 2000.
- RHODIN, A. G. J. et al. Global Conservation Status of Turtles and Tortoises (Order Testudines). **Chelonian Conservation and Biology**, v. 17, n. 2, p. 135-161, 2018.
- RUEDA-ALMONACID, J. V. et al. **Las tortugas Conservación Internacional.** Bogotá, Colombia: Ed. Panamericana, Formas e Impresos, 2007. 538 p.
- SANTIDRIÁN, P. T. et al. The impacts of extreme El Niño events on sea turtle nesting populations. **Climatic Change**, v. 159, n. 2, p. 163–176, 2020.
- SCHOEDER, A.; RHEN, T. Role for androgens in determination of ovarian fate in the common snapping turtle,

- Chelydra serpentina*. **General and Comparative Endocrinology**. v. 281, p. 7-16, 2019.
- SCHOFIELD, G.; KATSELIDIS, K. A.; LILLEY, M. K. S.; REINA, R. D.; HAYS, G. C. Detecting elusive aspects of wildlife ecology using drones: new insights on the mating dynamics and operational sex ratios of sea turtles. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 38, n.1, p. 42-48, 2016.
- SCHRAMM, B. G.; CASARES, M.; LANCE, V. A.; Steroid levels and reproductive cycle of the galapagos tortoise, *Geochelone nigra*, living under seminatural conditions on Santa Cruz Island (Galapagos). **General and Comparative Endocrinology**, v. 114, n. 1, p. 108-120, 1999.
- SHELBY, J. A.; MENDONÇA, M. T.; HORNE, B. D.; SEIGEL, R. A. Seasonal variation in reproductive steroids of male and female yellow-blotched map turtles, *Graptemys flavimaculata*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 119, n.1, p. 43-51, 2000.
- SOUZA, R. R.; VOGT, R. C. Incubation temperature influences sex and hatchling size in the neotropical turtle *Podocnemis unifilis*. 28(4): 453-464 **Journal of herpetology**, v. 28, n.4, p. 127-131, 1994.
- STANFORD, C. B. et al. Turtles and tortoises are in trouble. **Current Biology**, v. 30, n. 12, p. R721-R735, 2020.
- TRACCHIA, A. C. **Medicina en quelonios y otros reptiles**. 1ª ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Universidad Maimónides, Ediciones Fundación Azara, 2018.
- TRÁPAGA, R. G.; AGUIRRE, G.; ADEST, G. A. Sex-steroids associated with the reproductive cycle in male and female bolson tortoise, *Gopherus flavomarginatus*. **Acta Zoológica Mexicana (n.s.)**, v. 80, p. 101-117, 2000.
- TOKARZ, R. R.; SUMMERSY, C. H. Stress and Reproduction in Reptiles. NORRIS, D.O., LOPEZ, K.H. (Eds.) **Hormones and Reproduction of Vertebrates**, vol. 3. San Diego, CA: Academic Press, 2011. p. 169-213.
- VALENTE, A. L. S. et al. Reproductive status of captive Loggerhead sea turtles based on serum levels of gonadal steroid hormones, corticosterone and thyroxin. **The Veterinary Journal**, v. 187, p. 255-259, 2011.
- VAN DIJK, P. et al. Turtle Taxonomy Working Group. Turtles of the World. 7th Ed. Annotated Checklist of Taxonomy, Synonymy, Distribution with maps, and Conservation Status. **Chelonian Research Monographs**, n. 5, v. 7, p. 329-479, 2014.
- VOGT, R. C. **Tartarugas da Amazônia**. Lima, Peru, 2008. 104 p.
- WHITE, J. B.; MURPHY, G. G. The reproductive cycle and sexual dimorphism of the common snapping turtle *Chelydra serpentina serpentina*. **Herpetologica**, v. 29, p. 240-246, 1973.
- WYNEKEN, J. **The Anatomy of Sea Turtles**. U.S: Department of Commerce NOAA Technical Memorandum. 2001. p.1-172.
- XIA, Z. R.; LI, P. P.; GU, H.X., FONG, J. J.; ZHAO, E. M. Evaluating noninvasive methods of sex identification in green sea turtle (*Chelonia mydas*) hatchlings. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 10, n. 4, p.117- 123, 2011.

Capítulo 2 Características reprodutivas de *Podocnemis expansa* em cativeiro, Iranduba-AM

2

Resumo

Dos estados brasileiros, o Amazonas destaca-se como o maior em número de criadores de quelônios registrados. Informações sobre a biologia dos animais são fundamentais à níveis de gestão desses animais em condições de cativeiro. Neste estudo objetivou-se descrever as características reprodutivas e biométricas de *Podocnemis expansa* em cativeiro no Amazonas. Os dados foram coletados na Fazenda Agropecuária Nossa Senhora Aparecida, Iranduba/AM. Para isso, foram realizadas cinco coletas, aos quais os plotes foram repetidos nos mesmos locais em quatro (4) épocas do estado reprodutivo: março (vitelogênese), maio (acasalamento), agosto (assoalhamento) e outubro-novembro (desova). Em cada coleta foram coletados dados ambientais de pH, DBO e temperatura da água e da praia. Assim como foi realizado biometria e sexagem de matrizes e reprodutores. Também foram registradas informações reprodutivas da desova e acompanhamento do período reprodutivo e posteriormente a eclosão dos filhotes e sexagem. Observou-se que os teores de pH e DBO variam ao longo ciclo reprodutivo para *P. expansa* criadas em cativeiro, recomenda-se a avaliação periódica dos níveis, a fim de que processos biológicos destes animais não sejam inibidos. Assim como foi visto que o tamanho e peso de machos e fêmeas de *P. expansa* não varia ao longo do ciclo reprodutivo em animais de cativeiro, em contrapartida foi possível encontrar variações no tamanho e peso dos ovos nos diferentes anos de coleta. Verificamos que o tamanho das fêmeas tem relação com o número de ovos e distância da água onde foi construída a cova. Da mesma forma, o tempo de incubação é influenciado pelo tamanho das matrizes. O número de ovos também se mostrou positivamente relacionado ao número de dias de incubação. A massa total da desova também apresentou relação com comprimento e largura dos filhos, sendo que quanto maior a massa, maiores os filhotes eclodidos. Os resultados obtidos neste estudo permitem contribuir com informações basais para prever informações importantes no sucesso reprodutivo.

Palavras-Chave: manejo reprodutivo; quelônios; ciclo reprodutivo; reprodução; tartaruga-da-Amazônia.

Abstract

Of the Brazilian states, Amazonas stands out as the largest number of registered turtle breeders. Information about the biology of animals is fundamental to levels of management of these animals in captivity conditions. This study aimed to describe the reproductive and biometric characteristics of *Podocnemis expansa* in captivity in Amazonas. Data were collected at “Fazenda Agropecuária Nossa Senhora Aparecida”, Iranduba/AM. For this, five collections were carried out, and the plots were repeated in the same places in four (4) times of the reproductive state: March (vitellogenesis), May (mating) , August (sunbathe) and October-November (spawning) . In each collection, environmental data on pH, BOD and water and beach temperature were collected. As well as biometrics and sexing of matrices and sires. Reproductive information about spawning and monitoring of the reproductive period and later hatching and sexing were also recorded. It was observed that the pH and BOD levels vary throughout the reproductive cycle for *P. expansa* bred in captivity, it is recommended the periodic evaluation of the levels, so that the biological processes of these animals are not inhibited. As it was seen that the size and weight of males and females of *P. expansa* does not vary along the reproductive cycle in captive animals, on the other hand, it was possible to find variations in the size and weight of eggs in different years of collection. We found that the size of females is related to the number of eggs and distance from the water where the pit was built. Likewise, the incubation time is influenced by the size of the matrices. The number of eggs was also positively related to the number of days of incubation. The spawning total mass was also related to the length and width of the offspring, with the greater the mass, the larger the hatched offspring. The results obtained in this study allow us to contribute with baseline information to predict important information on reproductive success.

Keywords: reproductive management; turtles; reproductive cycle; reproduction; Giant Amazon river turtle.

2.1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios os quelônios representaram uma importante fonte de proteína, considerando sua carne e seus ovos, além do uso de seus subprodutos (VOGT, 2008). A utilização das tartarugas como fonte alimentar ainda é um importante recurso econômico em algumas localidades, principalmente na Ásia, atuando assim no mercado internacional (STANFORD et al., 2020). A exploração deste recurso também ocorre na região Amazônica, desde o período pré-colonial, com os indígenas e, depois, pelas comunidades ribeirinhas (ANDRADE et al., 2021; PANTOJA-LIMA et al., 2014).

Por se tratar de um hábito enraizado na cultura dos nativos da região, encontra-se resistência para mudança no hábito alimentar da população, em contrapartida torna-se necessário a adoção de medidas de conservação para espécies que tiveram suas populações reduzidas pela exploração desordenada (ANDRADE, 2015; DANTAS FILHO et al., 2020). Diante disso, a criação comercial e o manejo comunitário de quelônios são ferramentas potenciais para atender a essa demanda.

Dos estados brasileiros, o Amazonas destaca-se como o maior em número de criadores registrados (ANDRADE ET AL., 2021; DANTAS FILHO et al., 2020). A permissão para criação comercial é dada pela Instrução Normativa MMA nº 07/2015. Essa IN abrange espécies como a tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*), tracajá (*P.unifilis*), iacá (*P.sextuberculata*) e muçua (*Kinosternon scorpioides*), o que permitiu que muitos produtores que tinham interesse em criar tartarugas, pudessem procurar os órgãos ambientais e se registrarem para criar legalmente esses animais (ANDRADE, 2008, 2015; DANTAS FILHO et al., 2020).

Das seis espécies do gênero, *P. expansa*, a tartaruga-da-amazônia é a maior espécie da América do Sul em tamanho e peso, chegando a atingir 90 cm e 65 kg (Figura 1) (IBAMA, 2016). O tamanho do corpo é importante na diferenciação sexual em adultos pois, as fêmeas são bem maiores e tem cauda curta, pesando em média 30 a 45 kg, enquanto que o macho, denominado popularmente como “capitari” ou “capitaré”, atingem um tamanho menor e cauda mais comprida (ANDRADE, 2008, 2012; FERRARA et al., 2017; RUEDA-ALMONACID et al., 2007).

Informações sobre a biologia dos animais são fundamentais a níveis de gestão. Noções sobre características dos animais, ambientais, informações da ninhada e filhotes (biometria e razão sexual) são variáveis importantes para compreender os processos e resultados de manejo

(ANDRADE, 2008). Garcez (2009) com intuito de contribuir com dados sobre espécies amazônicas, acompanhou e analisou resultados obtidos sobre tais parâmetros, em cativeiro, realizado em 18 propriedades da capital e interior do Amazonas.

Outro fator a considerar é que, características maternas têm demonstrado influências em parâmetros como: a forma dos ninhos, número de ovos e filhotes produzidos (PIGNATI; PEZZUTI, 2012). Dessa forma, muitos estudos estão sendo voltados para a alometria reprodutiva, que consiste na análise das relações entre as variáveis biométricas das fêmeas reprodutoras e tamanho dos seus ovos e filhotes por meio de equações matemáticas (BONACH; PIÑA; VERDADE, 2006; PORTELINHA et al., 2013)

Compreender a relação dos parâmetros reprodutivos destas espécies em cativeiro, representam o fechamento completo de um ciclo de produção (*farming*) (ANDRADE ET AL., 2021; ANDRADE, 2008; FERRARA et al., 2017). Nesse sentido, é imprescindível que sejam disponibilizadas aos criadores de quelônios informações técnicas e científicas relacionadas a criação desses animais (ANDRADE, 2008; VOGT, 2008).

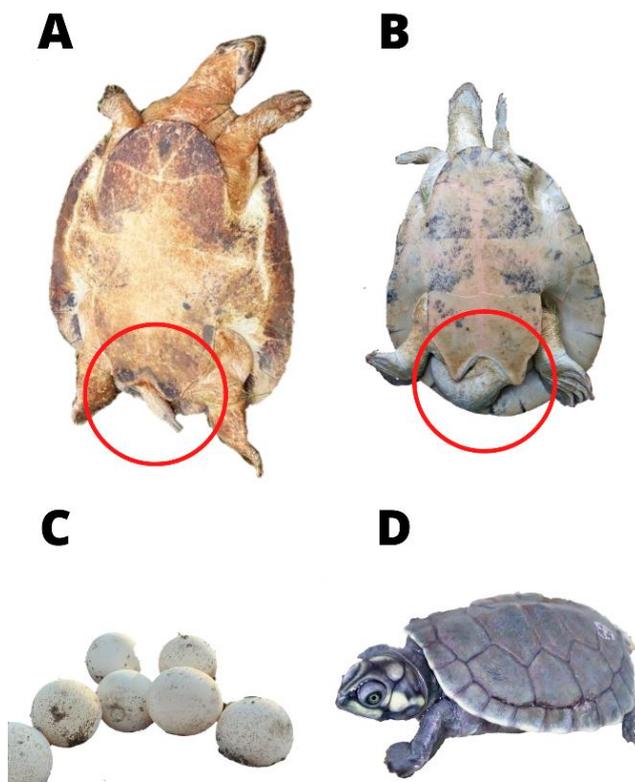


Figura 1 - Exemplo da fêmea espécie *Podocnemis expansa* (A). Reprodutor de tartaruga-da-amazônia (B). Ovos coletados na praia após a postura (C). Recém-eclodido de tartaruga-da-amazônia (D). Fonte: Lopes, T. 2019

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

Descrever as características reprodutivas e biométricas de *Podocnemis expansa* em cativeiro no Amazonas.

2.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o perfil biométrico do plantel ao longo do ciclo reprodutivo;
- Monitorar o período de desova, registrando as características das fêmeas e seus ninhos em praia artificial;
- Avaliar o período de incubação dos ovos, o sucesso de eclosão e índices biométricos de filhotes de tartaruga-da-Amazônia em cativeiro;
- Analisar as relações alométricas das matrizes de *P.expansa* e seus respectivos ninhos, ovos e filhotes em cativeiro;
- Estudar as relações entre a temperatura de incubação dos ninhos de *P.expansa* e do ambiente com o sexo e tamanho dos filhotes.;

2.3 HIPÓTESES

H0: O peso varia ao longo dos eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) de matrizes e reprodutores de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro;

H1: O peso não varia ao longo dos eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) de matrizes e reprodutores de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro;

H0: Características biométricas das matrizes de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro estão associadas as características dos seus respectivos ninhos e filhotes;

H1: Características biométricas das matrizes de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro não estão associadas as características dos seus respectivos ninhos e filhotes;

H0: Variáveis climáticas (temperatura e pluviosidade) têm influências na produção de ovos, na taxa de eclosão e razão sexual de filhotes de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro;

H0: Variáveis climáticas (temperatura e pluviosidade) não têm influências na produção de ovos, na taxa de eclosão e razão sexual de filhotes de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro;

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 Descrição da área de estudo

Os dados foram coletados na Fazenda Agropecuária Nossa Senhora Aparecida (Bicho do Rio) (3°11'11"S 60°17'50"O), de propriedade do Sr. José Silva de Vasconcelos, localizada à Rodovia Manoel Urbano, Am-070, Km 26, ramal 2.5 - Pico Belo Vista, no município Iranduba/AM (Figura 2), em quatro períodos de coleta: (março/20) vitelogênese, (maio/19) acasalamento, assoalhamento (agosto/20) e desova (outubro-novembro/19).

O tanque de matrizes e reprodutores da Bicho do Rio possui 277 m de perímetro e área de 3.886 m² para um plantel de aproximadamente 795 quelônios adultos, com uma área de 1500 m² de praia. A fonte hídrica que alimenta o cultivo é decorrente de um igarapé perene com vazão de 3,5 lt/s que nasce na propriedade vizinha e cruza toda propriedade de norte a sul. Água é renovada periodicamente, esvaziando-se parcialmente o tanque, através de monges ou canos cotovelos instalados nos tanques. A densidade total do cultivo é de 0,08 animais/ m² e a razão sexual é de 0,5:1 (F:M). A barragem é cercada por vegetação nativa. A criação é registrada no IBAMA desde 1999, Registro No. **02005.002782/99-65**.

Os animais estudados foram alocados numa mesma barragem (Figura 2) e submetidos ao mesmo tratamento nutricional. A alimentação dos animais consistia basicamente em ração de crescimento extrusada para pescado da marca Confiança®, 10 mm de granulometria (ver tabela 2.1). Com proporções diárias baseadas em aproximadamente de 1,5 á 3% da biomassa, sendo 50 kg por dia. O alimento era fornecido uma vez ao dia, por volta das 16h00. Também se utilizaram-se fontes de “produtos de cultura” a “subprodutos” conforme a disponibilidade.

Tabela 2.1 – Níveis de garantia de Ração Confiança Peixe Crescimento a nível de 28% de proteína bruta.

Componente		
Proteína Bruta	mínimo	280,0 g/kg
Extrato Etéreo	mínimo	40,0 g/kg
Fibra Bruta	mínimo	65,0 g/kg
Matéria Mineral	máximo	130,0 g/kg
Cálcio	máximo	35 g/kg
Fósforo total	mínimo	15 g/kg
Umidade	máxima	100 g/kg



Figura 2 - Localização da “Fazenda Bicho do Rio” via satélite. Fonte: <https://www.google.com/maps> (A). Vista ampliada da barragem de matrizes da propriedade (B). Fonte: LOPES, T. 2020

2.4.2 Metodologia de captura e biometria

Foram realizadas cinco coletas, aos quais os plotes foram repetidos nos mesmos locais em quatro (4) fases do estado reprodutivo: março (vitelogênese), maio (acasalamento), agosto (assoalhamento) e outubro-novembro (desova). Utilizamos para classificação os principais estados reprodutivos das fêmeas.

Estes estados reprodutivos estão baseados no estudo fisiológico de Freneau et al. (2017), Alho e Pádua (1982) e Garcez (2009) para espécie em cativeiro. Descritos como a 1ª fase/março: (Pós-desova/vitelogênese) este período corresponde ao tempo após a desova, com inatividade sexual, onde os animais se alimentam e acumulam energia para vitelogênese, que consiste no crescimento folicular e sua maturação; A 2ª fase/maio: (Acasalamento) ao qual é possível visualizar grande movimentação no tanque, sinalizado na natureza como um período migratório. Onde os animais ficam no boiadoiro, aos quais ocorrem movimentos de corte e cópula. Na 3ª fase/agosto: (Assoalhamento/deambulação) é possível ver as fêmeas assoalhando, tanto na praia quanto na água e pouco antes da desova sobem a praia para iniciar a deambulação, que se caracteriza pela caminhada na praia assim de observar o ambiente. E na 4ª fase/outubro-novembro: (Desova) que consiste na subida à praia para ovoposição, com abertura do ninho e deposição dos ovos, concluindo com o fechamento do ninho.

Em cada coleta eram capturados 40 indivíduos, 20 fêmeas e 20 machos, com exceção na coleta correspondente ao período de desova (ver tabela 3.1). Em decorrência da situação de Pandemia da doença SARS- COV-2 (COVID-19), não foi possível realização de coletas planejadas no ano de 2020, por isso utilizamos os dados de acasalamento e desova do ano de 2019. Para captura dos animais utilizamos rede de pesca tipo arrastão (8x70 m), com malha de

50 mm. Utilizamos as metodologias biometria e marcação descritas por Andrade et al., 2016 (Figura 3-A).

Todos os procedimentos foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais, situado na Universidade Federal do Amazonas-UFAM, com autorização de número (064/2019), de acordo com a Lei No.11.794 e possuindo Licença SISBIO nº 19232.

A biometria foi realizada com o uso de paquímetro de precisão (Haglofer 80 cm) e balança do tipo Pesola® para animais até 10 kg e balança de mola tipo dinamômetro com capacidade até 50 kg. Foram tomadas medidas do comprimento e largura retilínea da carapaça (CRC e LRC), comprimento e largura do plastrão (CP e LP), altura da carapaça (AC), peso e também foi feita a estimativa de idade pela contagem dos anéis de crescimento nos escudos da carapaça do comprimento da carapaça (CRC), da largura da carapaça (LRC), do comprimento do plastrão (CP), da largura do plastrão (LP) e da altura da carapaça (AC) segundo ANDRADE et al. (2016) e ARAÚJO (2017). Para sexagem observa-se a cauda e abertura na parte inferior do plastrão.

Durante o período da nidificação (setembro e outubro) adotamos outra metodologia de captura, para causar o mínimo de interferência possível na desova. Ao subirem a praia e concluírem a ovoposição, as fêmeas eram colocadas em decúbito dorsal (viração) para coleta de sangue e, posteriormente, realizávamos a biometria e marcação (Figura 3-B). Para os machos, neste período utilizamos a metodologia comumente adotada nas coletas anteriores.



Figura 3 - Captura das tartarugas com Rede tipo arrastão (A) Captura na praia de fêmea de *Podocnemis expansa* por viração (B). Fonte: Lopes, T. 2019

2.4.3 Coleta dos dados ambientais

Durante as coletas, nos quatro períodos diferentes do ciclo (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova), dados de potencial hidrogeniônico (pH), temperatura da água, temperatura do ar, umidade do ar e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) foram realizadas respectivamente com pHmetro (Jenwey™), aparelhos dataloggers individuais (Hobos® TidBit v2® Onset®) e medidor de DBO (Lutron©) (Figura 4). O acompanhamento das temperaturas do ninho durante o período embrionário foi feito com auxílio de datalogger. Os dataloggers registraram as temperaturas de hora em hora durante o período embrionário dos filhotes, e também foram colocados na água e na praia registrando a temperatura da água e do ar até o período do último nascimento. Os dados pluviométricos foram coletados da estação TRMM 9225 – Iranduba (3°15'0''S 60°15'00''O), via Sistema de Monitoramento Agrometeorológico (Agritempo) (<http://www.agritempo.gov.br/agritempo/jsp>).

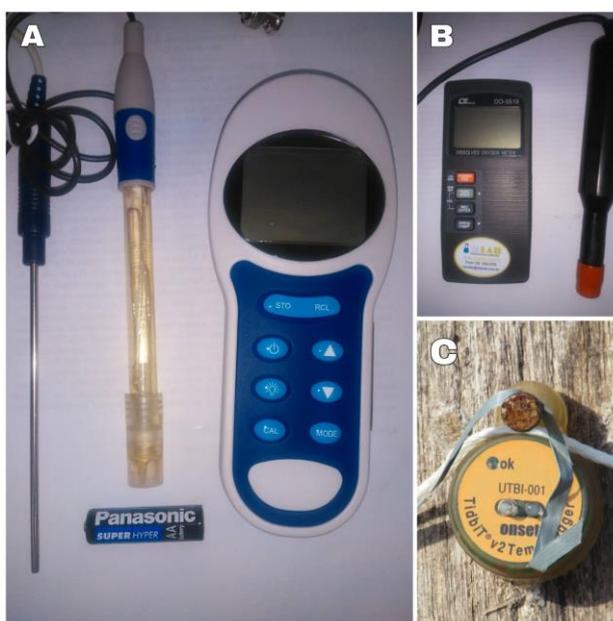


Figura 4 - Aparelho pHmetro (A). Aparelho medidor de DBO (B). Datalogger instalado na praia (C). Fonte: Lopes, T. 2020

2.4.4 Monitoramento das praias e transferência dos ovos

O monitoramento da praia foi realizado de acordo com procedimentos descritos por Andrade et al (2016). Durante os meses do ciclo reprodutivo (setembro a outubro) foi observado o comportamento reprodutivo dos animais alojados na barragem MATRIZES (Figura 5-A). No

período de desova (setembro a outubro), os recintos foram monitorados diariamente no criadouro. No período da manhã, foi realizada vistoria nos possíveis locais de postura para identificação dos ninhos, observando a presença de solo recentemente perturbado, rastros deixados na noite pelas fêmeas (Figura 5-B) ou ninhos cobertos externamente com areia úmida (ANDRADE, 2015). E no período noturno (2h00-3h00) foi observada a praia, em busca de fêmeas que estivessem fazendo o ninho e a postura dos ovos, sendo registrado o processo de desova e sua frequência (Figura 5-C). Para cada ninho encontrado, foram registradas as seguintes variáveis: data da postura, número de ovos, profundidade e largura do ninho, distância da água e da vegetação. De cada ninho realizamos biometria de dez ovos, sendo tamanho (mm) e massa (g).

Os ninhos encontrados foram transferidos para uma “chocadeira”, que era uma área de areia cercada com placas de alumínio, medindo 1855,23 m² (Figura 5-E). Os ovos foram contados e foi realizada a biometria e pesagem de dez ovos de cada ninhos (Figura 5-D). Aos serem transferidos para chocadeira, os ninhos foram divididos em 2 ou 3 covas artificiais com 50 cm de profundidade e receberam piquetes contendo informações de número do ninho, sigla da espécie, data de postura e número de ovos (Figura 6).



Figura 5 - Matrizes e reprodutores se deslocando na barragem do criadouro (A). Vestígios de subida das fêmeas na praia (B). Captura por viração das fêmeas encontradas após a desova (C). Retirada e biometria de ovos de ninhos naturais (D). Transplante dos ovos para covas artificiais da chocadeira (E). Fonte: LOPES, T. 2019



Figura 6 – Chocadeira da propriedade Bicho do Rio. Fonte: Lopes, T. (2020)

2.4.5 Biometria e sexagem dos filhotes

Posteriormente a desova (novembro-janeiro) aguardamos em média 60 dias para o nascimento dos filhotes na chocadeira. Imediatamente após o nascimento dos filhotes, foram realizados registros do número de filhotes nascidos vivos, número de ovos não viáveis ou gorados, número de ovos inférteis, para estimativa da taxa de eclosão. Os filhotes de cada cova foram medidos e pesados.

Foram feitas as seguintes medidas com paquímetro de plástico de 150 mm: comprimento retilíneo da carapaça (CRC), largura retilínea da carapaça (LRC), comprimento do plastrão (CP), largura do plastrão (LP), e altura (H). Com uma balança digital (capacidade de 240 g, precisão de 1 g) foi feita a pesagem de cada indivíduo. Após a biometria, os filhotes foram marcados e alojados em uma caixa d'água de 1000 litros e depois de 14 dias foram transferidos para um lugar denominado berçário (instalação onde os filhotes ficaram durante o primeiro ano de vida) que possui 45,06 m de circunferência e área total de 162,21 m².

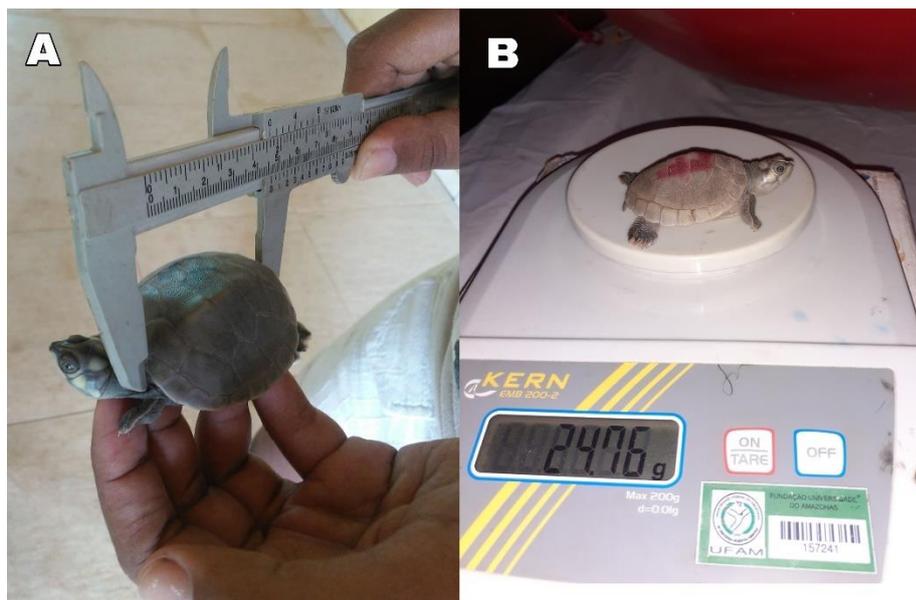


Figura 7 – Mensuração de medidas biométricas com paquímetro (A) e mensuração de massa com balança digital (B) de filhote de *P. expansa*.



Figura 8 – Localização via satélite da chocadeira da propriedade bicho do rio. Fonte: <https://www.google.com.br/intl/pt-PT/earth/> (A) e vista ampliada da chocadeira (B). Fonte: Lopes, T. (2021)

Para sexagem dos filhotes, utilizamos a histologia das gônadas por ser a técnica mais segura (MALVASIO et al., 2012). Para o processo as gônadas serão cuidadosamente retiradas com tesoura de ponta fina e bisturi para, então, serem fixadas em glutaraldeído (GTA, 25%), tamponado (pH 7,3) e pós-fixadas em etanol 70%. As amostras serão desidratadas em gradiente de etanol (80% e 96%) e emblocadas em resina metacrilato (Tecnovitch®).

As secções (cortes) serão obtidas em 5µm e corados em Hematoxilina-Carazzi-Eosina (HE). Adicionalmente, amostras serão coradas em Azul de Toluidina (0,12%), técnica do PAS (ácido periódico e reagente de Schiff) para identificação de células ricas em mucinas neutras e Azul de Alcian (pH 2,5) para observação de células ricas em mucinas ácidas. Esses métodos de coloração serão utilizados para verificar possíveis diferenças entre as gônadas (testículos e ovários) em relação à presença de mucopolissacarídeos na região medular da gônada.

Será utilizado os critérios de MALVASIO (2012) e LOPES et al. (2015), aos quais são caracterizados com o oviduto de fêmeas alongado com células cúbicas altas e a presença de apêndice remanescente, enquanto que em machos é arredondado com células cúbicas baixas e ausência de apêndice. Além disso, as estruturas que alojam as células germinativas são semelhantes a folículos definidos em fêmeas, localizados próximo ao epitélio germinativo, e em machos é constituído por túbulos seminíferos de luz dilatada e contorno tortuoso.

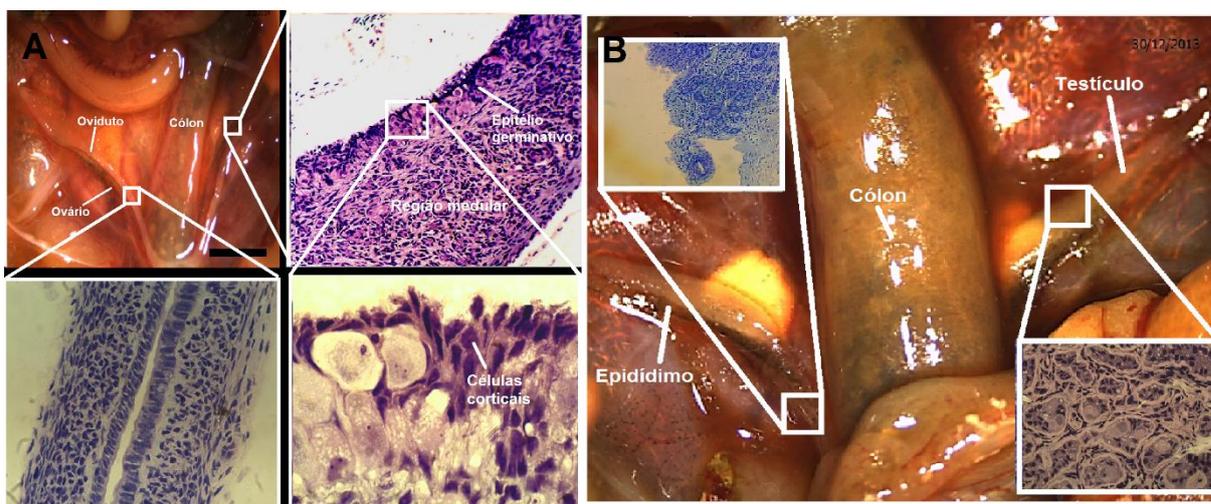


Figura 9 – vista da gônada de filhotes de *P. expansa* e histologia (A) do aparelho reprodutivo da fêmea e histologia (B) do aparelho reprodutivo do macho imaturo de *Podocnemis expansa*, obtido por microscopia óptica em aumento de 40X (seção em 5µm).

2.4.6 Análise estatística

Os dados dos registros biométricos e da pesagem foram tabulados em planilha Excell. Foram analisadas, inicialmente, as variáveis biométricas, peso, idade estimada e sexo dos animais do tanque de Matrizes/Reprodutores. Foi feita a análise estatística descritiva (média, desvio padrão, máximo e mínimo) e testes de normalidade das variáveis biométricas mensuradas, e também foi feita a confecção de histogramas de distribuição em comprimento de carapaça (cm) e em peso (kg).

Foram utilizados o teste de Mann-Whitney, para comparar o tamanho e peso de matrizes e reprodutores, e o teste de Kruskal-Wallis, para comparar o tamanho e peso das tartarugas entre os cinco períodos de captura e biometria.

Depois agrupamos os dados das fêmeas capturadas e medidas na desova com seus respectivos ninhos, nós testamos as possíveis correlações entre as medidas alométricas registradas (Correlação de Pearson). Quando as correlações foram significativas (valores acima de 0,5) e, em especial, as muito significativas (acima de 0,70) nós aplicamos a análise de regressão linear, a fim de verificar possíveis tendências de uma relação matemática entre as variáveis com correlações significativas. Finalmente, era aplicado a análise de regressão linear. Caso fosse significativa ($p < 0,01$; $R^2 > 0,5$), era feito o gráfico de regressão.

Para testar as relações alométricas das fêmeas com os seus respectivos ninhos que conseguimos monitorar, foram feitos os mesmos procedimentos: estatística descritiva, testar correlações e fazer análise de regressão. Por fim, agregamos os dados biométricos de filhotes dos quais conseguimos monitorar a eclosão. E também adotamos os mesmos procedimentos. Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do programa SigmaPlot versão 11.0, da Systat Software, Inc., San Jose California USA, (www.systatsoftware.com), Minitab for Windows e PAST ao nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

2.5 RESULTADOS

2.5.1 Parâmetros ambientais da criação

O tanque das matrizes possui uma área de 3886 m², com profundidade total de 2,57 m. Valores de temperatura da água, pH e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) foram mensurados nas coletas durante o período reprodutivo: vitelogênese (março), acasalamento (maio), assoalhamento (agosto) e desova (outubro-novembro). Todos os resultados estão em anexo (ver tabela 2.9).

Para os valores de pH, descritos na tabela 2.3, encontramos menor concentração em coleta, sendo no mês do acasalamento (maio) (5,97) e o período ao qual atingiu o maior nível de pH foi o de assoalhamento (agosto) (8,2) (Figura 10). Quanto aos teores de demanda química de oxigênio (DBO) as menores concentrações foram nos meses de assoalhamento (0,2 e 1,3 ml/l) e nidificação, enquanto que os maiores valores são na fase acasalamento. Nos registros de temperatura, o menor grau de temperatura em coleta foi de 25,7 °C. A temperatura mais elevada em coleta foi no estado reprodutivo de assoalhamento (32,5 °C).

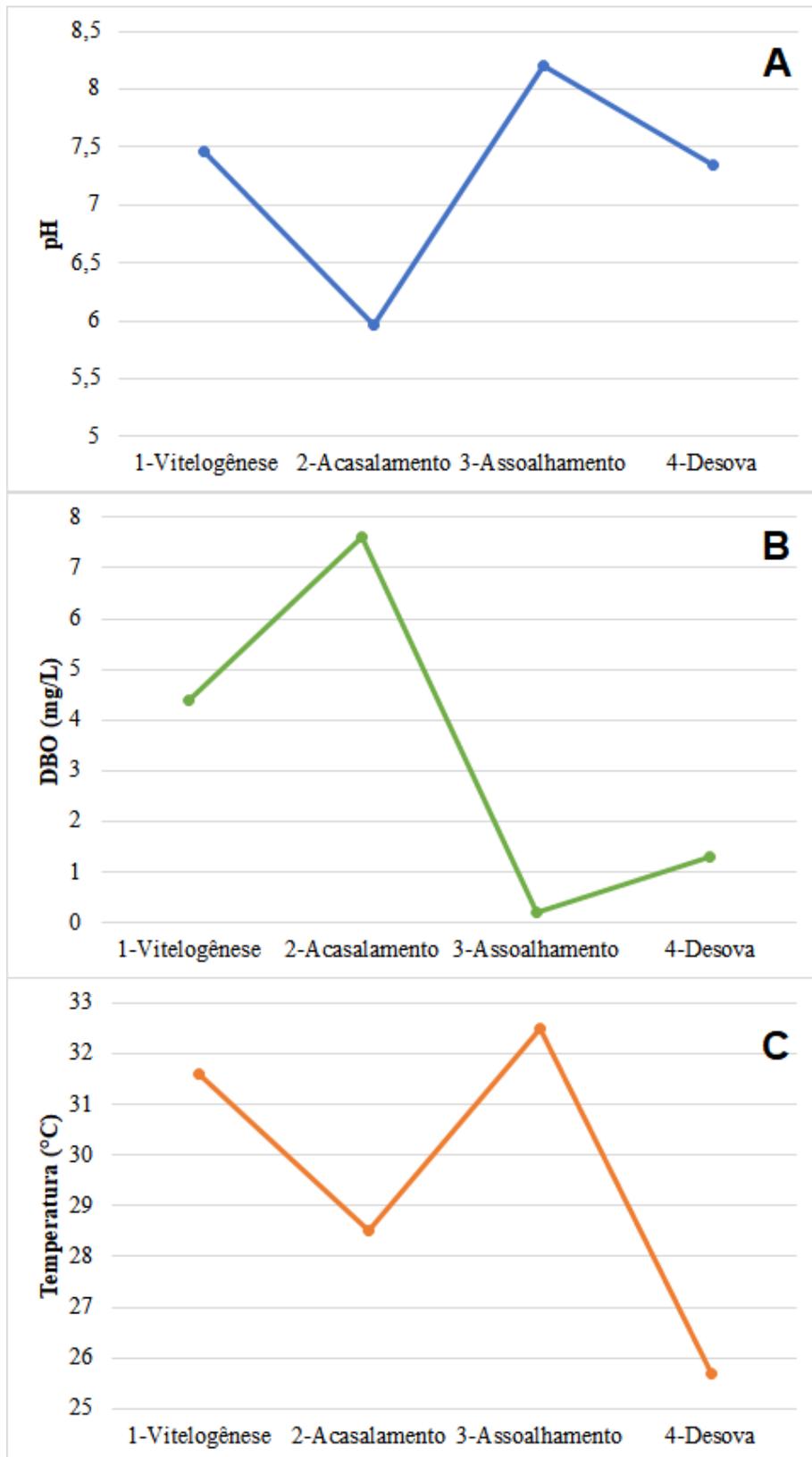


Figura 10 - Mensurações dos níveis de Ph (A), demanda química em oxigênio (DBO) (B) e temperatura (C) durante as coletas no criador comercial Bicho do Rio.

Também mensuramos temperaturas ambientais diárias (praia e água) nos anos de 2019 e 2020 durante a fase de desova e eclosão. No ano de 2019, o datalogger da água apresentou problemas de leitura pela quebra do sensor enquanto esteve submerso, por isso, não foi possível obter os dados. As médias dos valores mensurados estão descritas na tabela 2.10 em anexo. As temperaturas da praia entre os anos de 2019 e 2020 apresentam diferenças significativas ($p \leq 0,05$). Em 2019 a média de temperatura verificou-se maior que em 2020 (Figura 11). Sendo que em 2019 o aparelho detectou como temperatura máxima de $51,85^{\circ}\text{C}$, com amplitude térmica de $30,36^{\circ}\text{C}$ enquanto que em 2020 houve amplitude térmica de $28,43^{\circ}\text{C}$. Em relação a temperatura da água temos uma amplitude térmica de $9,09^{\circ}\text{C}$.

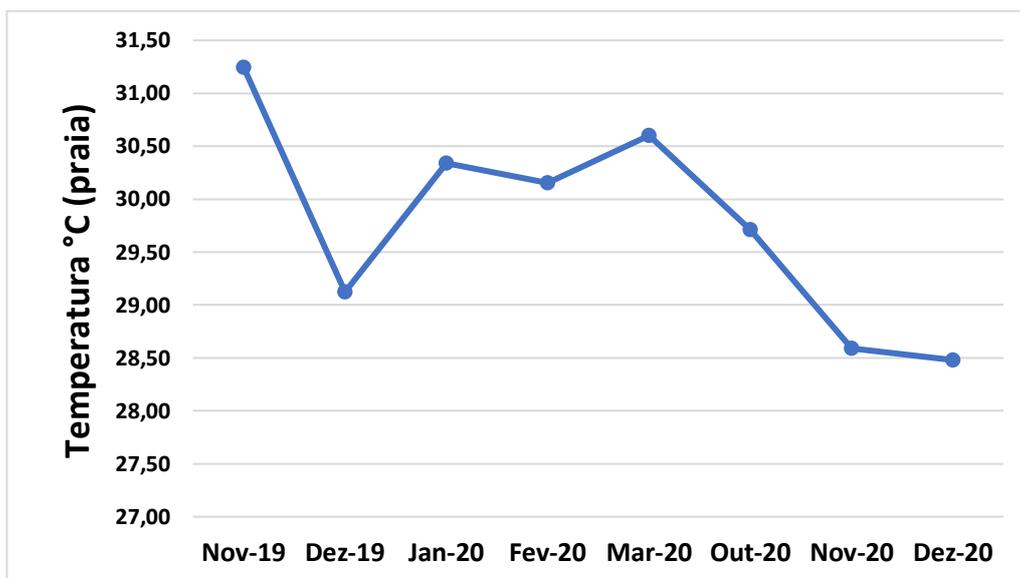


Figura 11 - Médias de temperatura da praia artificial do criador Bichos do rio, nos anos de 2019 e 2020.

Quanto aos níveis de chuvas durante os dois anos, o ano de 2019 apresentou níveis maiores quando comparados aos seus respectivos meses no ano de 2020. Em 2019 obtivemos níveis máximos de chuva com médias de até $8,24$ mm (dezembro) e $6,57$ em 2020 (novembro). No mês de outubro (Desova), observamos uma amplitude de $3,4$ mm entre os dois diferentes anos. Após análise de regressão linear simples, verificamos que não houve relações significativas entre o número de ovos e os níveis de chuvas em 2019 ($P=0,16$; $R^2=16,31\%$) e 2020 ($P=0,85$; $R^2=0,96\%$).

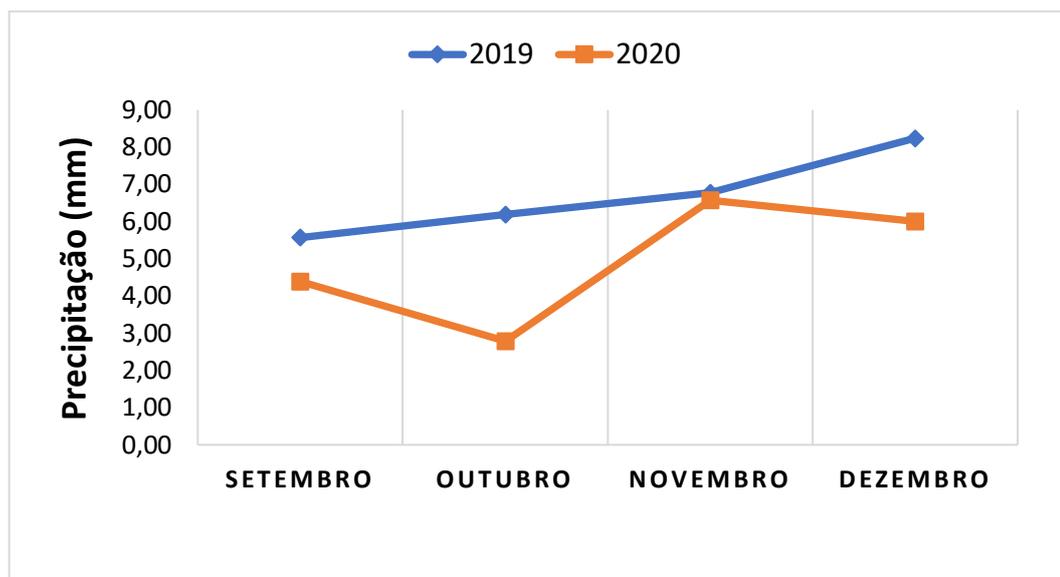


Figura 12 - Médias de precipitação durante os meses de setembro a dezembro nos anos de 2019 e 2020. Estação TRMM.9225 (9011677) – Irlanduba.

2.5.2 Biometria de matrizes e reprodutores de *P. expansa*

Entre 2019 e 2020, em cada período de coleta, foram capturados 40 indivíduos adultos, sendo 20 de cada sexo, de um total de 725 animais adultos sendo, aproximadamente, 449 machos e 275 fêmeas. Utilizamos os principais estados reprodutivos femininos para análise. A tabela 2.2 apresenta a média dos dados biométricos de todos os animais capturados ao longo dos períodos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) em anexo 2.

A média de comprimento total da carapaça das fêmeas foi de $67,08 \pm 5,03$ cm (max=78; min=51) e peso de $32,61 \pm 6,25$ kg (max=45; min=16,5). Enquanto que nos machos, a média de comprimento de carapaça (CRC) foi de $37,33 \pm 3,41$ cm (máx=49; min=27,1) e peso de $6,150 \pm 1,82$ kg (amplitude de 3,1 a 12,0 kg; N=84). Os valores médios de cada período de coleta foram descritos também na tabela 2.11 em anexo.

Tabela 2.2 – Valores gerais das características morfométricas de fêmeas e machos adultos de *P. expansa* coletadas nos anos de 2019 e 2020, no criador comercial Bicho do Rio, Irlanduba/AM.

Sexo	Comprimento (cm)		Plastrão (cm)		Altura (cm)	Peso (kg)	Idade (anos)
	Comp.	Larg.	Comp.	Larg.			
FÊMEA	N=84						
Média	67,08	48,57	55,40	36,73	18,45	32,61	19,78
DP	5,03	5,15	4,58	4,10	3,60	6,25	3,08
Máximo	78	58	78,5	60	24,5	45	28

Mínimo	51	19	43,3	20,2	13	16,5	13
MACHO	N=76						
Média	37,33	28,49	27,91	19,11	12,11	6,15	14,47
DP	4,74	3,56	3,41	4,00	1,82	1,82	2,29
Máximo	49	37,5	39,5	28,8	17,3	12	19
Mínimo	27,1	20,9	21,3	11	8	3,06	8

Ao aplicar teste de análise de variância, foi observado que não houve diferenças significativas no CRC ($F=0,543$, $p=0,654$) e no peso de fêmeas entre os períodos de coletas ($F=0,99$; $p=0,40$) (Vide figura 12 e tabela 2.10 em anexo). Os valores encontrados em cada período de coleta, para machos, também não apresentaram diferenças significativas para peso ($F=1,06$; $p=0,371$) e comprimento ($F=1,04$; $p=0,379$). Entretanto, foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos valores de CRC ($P=0,000$), AC ($P=0,000$) e peso ($P=0,000$) entre os dois grupos (machos e fêmeas) (ver figura 13 e 14) pelo teste de não-paramétrico de Mann-Whitney.

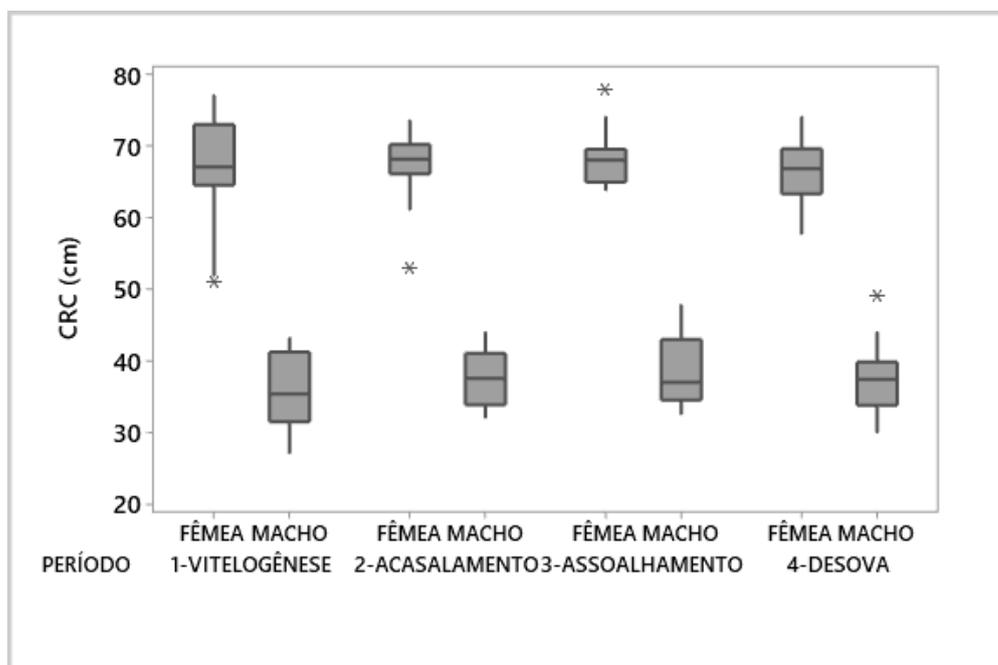


Figura 13 - Médias de comprimento retilíneo de carapaça (CRC) de matrizes e reprodutores de *P. expansa* em cativeiro durante o período reprodutivo: VITELÓGENESE (março), ACASALAMENTO (maio), ASSOALHAMENTO (agosto) e DESOVA (outubro-novembro).

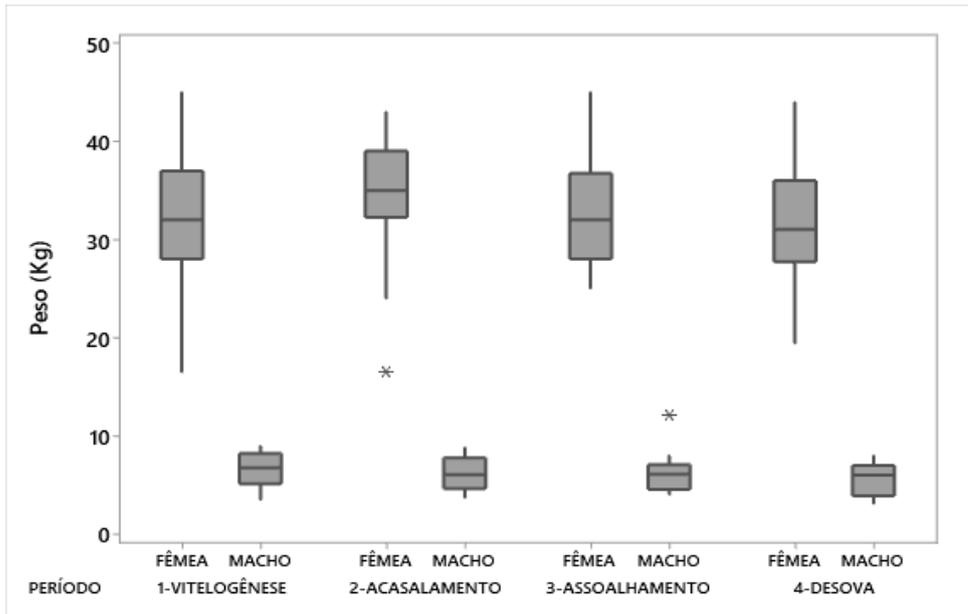


Figura 14 - Médias de peso de matrizes e reprodutores de *P. expansa* em cativeiro durante o período reprodutivo: VITELÓGENESE (março), ACASALAMENTO (maio), ASSOALHAMENTO (agosto) e DESOVA (outubro-novembro).

Quando se avaliou o histograma de frequência de peso para as fêmeas nos valores gerais podemos notar uma melhor distribuição (Figura 15). Sendo que 85,71% das fêmeas adultas capturadas com peso entre 26 a 42 kg, enquanto que a distribuição geral por histograma para os reprodutores capturados, apresenta concentração na distribuição geral de peso com valores entre 7,5 a 8,5 kg, aos quais representam frequência superior a 40%.

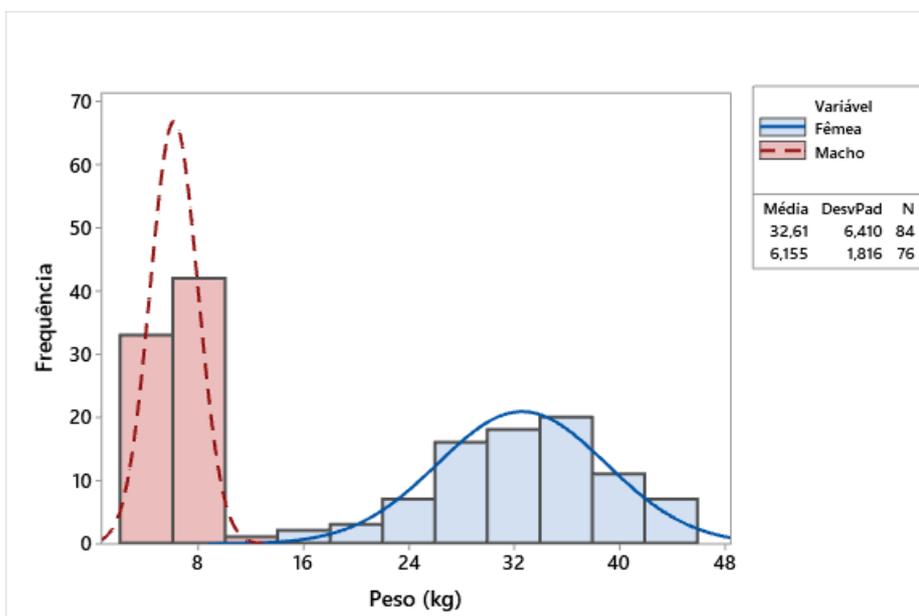


Figura 15 - Histograma de distribuição de peso de tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*) de ma=trizes/reprodutores da criação Bicho de Rio, Iranduba-AM.

Quanto ao gráfico de comprimento retilíneo da carapaça (CRC) das fêmeas a maior frequência entre 66 a 69 cm (Figura 16). Enquanto que nos machos, 22,37% dos indivíduos medem 40,8 a 41,52 cm de comprimento retilíneo da carapaça.

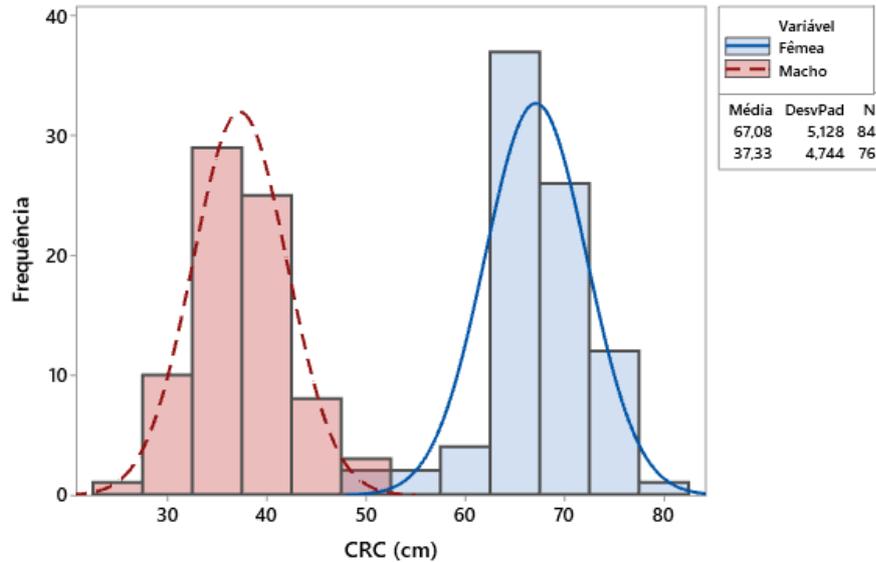


Figura 16 - Histograma de distribuição em comprimento retilíneo da carapaça (cm) de tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*) de matrizes/reprodutores da criação Bicho de Rio, Iranduba-AM.

Por fim, quando se avaliou a altura da carapaça (AC) por meio de histogramas verificamos que a maioria das matrizes capturadas (46,43%) se concentrou nas medidas de 19,11 a 22,17 cm (Figura 17). A frequência de altura da carapaça dos machos foi de 32% em indivíduos com 11,49 a 12,65 cm.

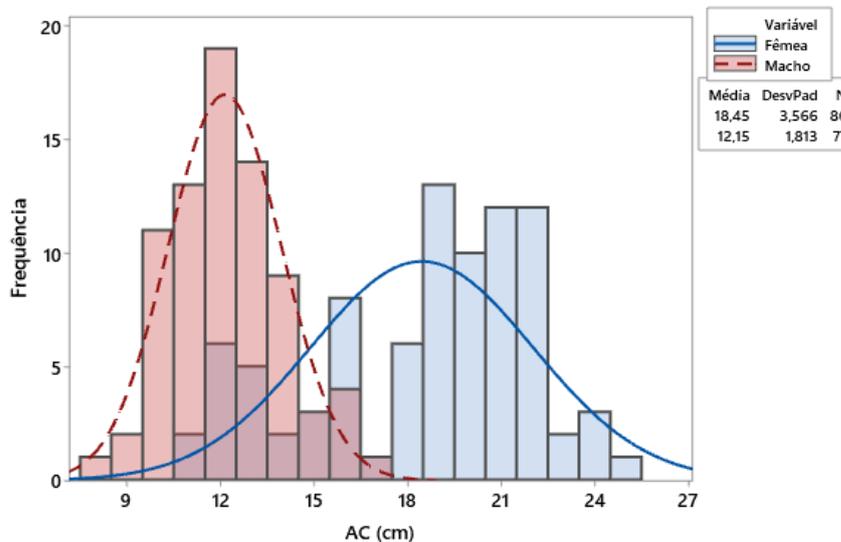


Figura 17 - Histograma de distribuição em altura (cm) de tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*) de matrizes/reprodutores da criação Bicho de Rio, Iranduba-AM.

2.5.3 Transferência dos ninhos e biometria dos ovos

A nidificação de *P. expansa* na criação Bicho do Rio, segue aproximadamente, o mesmo período da postura das fêmeas dessa espécie na natureza, que é sincronizada com o nível das águas, ocorrendo na seca. No criatório, apesar de não ocorrer a diminuição do nível da água, a postura também ocorre no período da seca, nos meses de setembro a dezembro. No ano de 2019 foram registrados 21 ninhos, e no ano de 2020, apenas 10 ninhos foram encontrados na praia das matrizes, que representam somente 1,6-3,6% das fêmeas desovando em 2020 e 3,4-7,6% em 2019. Todas as medidas dos ninhos naturais encontrados na praia artificial da fazenda Bicho do Rio estão descritas na tabela 2.3.

Tabela 2.3 Características dos ninhos naturais de *P. expansa* nos anos de 2019 e 2020 no criador comercial Bicho do rio, Iranduba/AM. (Desvio Padrão – Desv. P.)

Ano	Nº de ovos por cova	Distância do ninho (m)		Largura do ninho (cm)	Profundidade (cm)		Pegadas (cm)	
		Água	Vegetação		1º ovo	total do ninho	Largura da pata	Distância entre
2019 (21)								
<i>média</i>	106,48	16,62	12,14	18,33	38,19	55,10	14,75	25,67
<i>Desv. P.</i>	18,58	7,23	4,60	3,75	11,80	12,66	5,10	3,17
<i>máximo</i>	148	34,1	19	25	63	86	30	30
<i>mínimo</i>	77	5	0,1	10	20	40	11	22
2020 (10)								
<i>média</i>	109,6	23	33,13	20,25	36,63	50,88	11,17	33
<i>Desv. P.</i>	12,94	8,34	19,31	5,12	12,64	11,14	1,47	7,85
<i>máximo</i>	127	31	57	29	51	63	13	45
<i>mínimo</i>	89	10	10	14	11	28	10	24

O número de ninhos em 2020 foi menor que em 2019, totalizando 1096 ovos (10 ninhos) contra 2155 ovos (21 ninhos). As médias de ovos não apresentaram diferença significativa entre os anos (Teste de Mann-Whitney; N° médio de ovos/ninho em 2019=106,48±18,58; N° médio de ovos/ninho 2020=109,6±12,4; P=0,866).

Ao aplicar teste não-paramétrico de Mann-Whitney, foram encontradas diferenças estatísticas entre anos de 2019 e 2020 para a posição da cova em relação à distância da água (p=0,04) e da vegetação (p=0,036). Apesar do número menor de ninhos, as fêmeas que desovaram em 2020 deslocaram-se mais na praia para escolher o local de desova dos ninhos naturais, enquanto que a maioria das fêmeas que desovaram em 2019 aglomeraram os ninhos em um local específico.

Assim também não houve diferenças significativas entre os anos 2019 e 2020, para os parâmetros: largura do ninho ($p=0,49$), profundidade do primeiro ovo ($p=0,9$), profundidade total da cova ($p=0,98$). Todavia foi possível verificar diferenças estatisticamente significantes para as variáveis: largura da pata ($p=0,023$) e distância entre pegadas ($p=0,039$) para os diferentes anos quando aplicado teste de Mann-Whitney para comparação de médias.

A tabela 2.4 apresenta os resultados de biometria de ovos dos ninhos de *P. expansa* encontrados na praia artificial da propriedade. No ano de 2019 foram verificados 21 ninhos e no ano de 2020 apenas 10. Foram aplicados testes de médias (teste T) para as características dos ovos nos dois anos (2019-2020), foi possível verificar diferenças significativas no comprimento ($p=0,015$) e peso dos ovos ($p=0,016$). Para média da massa total da desova não houve diferenças significativas ($p=0,08$) entre o ano de 2019 e 2020. Os ninhos com maior número de ovos foram registrados no ano de 2019, onde os animais também apresentaram ovos maiores (Comp. Ovo= $37,96\pm 1,37$ cm) e mais pesados (peso do ovo= $34,52\pm 2,26$ g).

Tabela 2.4 Dados biométricos de ovos de *P. expansa* do criadouro comercial Bicho do Rio, Iranduba/AM.

<i>Ano</i>	Número de ovos	Comprimento do ovo (mm)	Peso do ovo (g)	Massa total da desova (g)
2019 (16)				
<i>Média</i>	103,64	37,96	34,52	3621,41
<i>Desv. P.</i>	23,16	1,37	2,26	656,80
<i>Máximo</i>	148	40,40	40,20	5318,53
<i>Mínimo</i>	32	35,00	30,14	2717,33
2020 (8)				
<i>Média</i>	100,70	35,56	29,68	2883,83
<i>Desv. P.</i>	26,02	2,09	4,34	1000,19
<i>Máximo</i>	127	39,30	38,22	4471,39
<i>Mínimo</i>	45	33,00	24,01	1240,34

2.5.4 Incubação, taxa de eclosão, morfometria e sexagem dos filhotes

A tabela 2.5 apresenta as médias dos parâmetros registrados dos ninhos após transferidos para “chocadeira”. Ao aplicar não paramétrico de Kruskal-wallis, verificou-se que não existem diferenças para o período de incubação (número de dias até a eclosão dos filhotes) em diferentes anos ($p=0,145$) (Dias de incubação em 2019= $61,62\pm DP$; dias de incubação em 2020= $62,6\pm 1,71$). Quanto ao sucesso reprodutivo, as taxas de eclosão foram menores que 50%

nos dois anos, entretanto o ano de 2020 foi inferior (Taxa de eclosão=22,87±22,24) as de 2019 (Taxa de eclosão=35,69±21,44). Não houve diferenças significativas nas taxas de eclosão entre os anos ($p=0,108$). As causas de perdas de ovos nos anos de 2019 e 2020 foram: por infestações fúngicas/bacteriana, inférteis, filhotes natimortos e predados em covas naturais por jacuraru (*Tupinambis tegunxim*) (Figura 18). No ano de 2020, foi registrada a presença de um grande número de ovos e filhotes atacados por larvas de moscas (Diptera).

Tabela 2.5 - Número de ovos, período de incubação (dias), taxa de eclosão (%), temperatura e amplitude média do ninho (°C) em ninhos transferidos de *P. expansa* em diferentes anos no criadouro Bicho do Rio, Iranduba/AM.

Causa da variação	N	Número de ovos	Período de incubação (dias)	Taxa de eclosão (%)	Temperatura média do ninho (°C)	Amplitude térmica média (°C)
Ano		P<0,67	P<0,14	P<0,11	P<0,60	P<0,03*
2019	21	107,5±17,49	61,86±0,96	35,69±21,44	30,36±0,38	8,42±1,81
2020	10	109,6±12,94	61,6±1,21	22,87±22,24	30,35±0,35	12,37±0,44

*Resultados do teste de Kruskal-wallis para diferentes variáveis em relação a causa de variação.

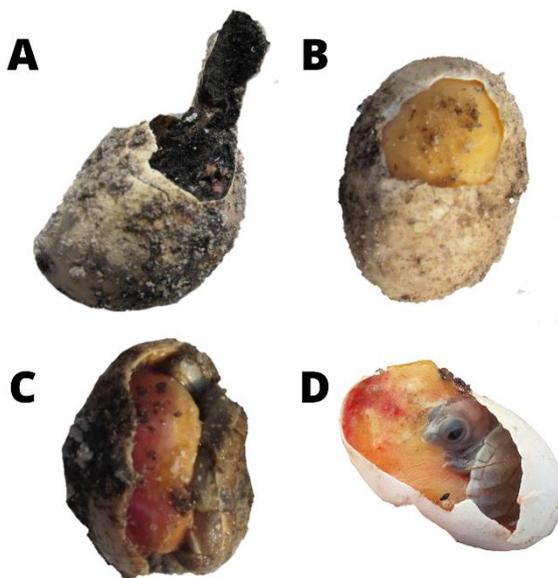
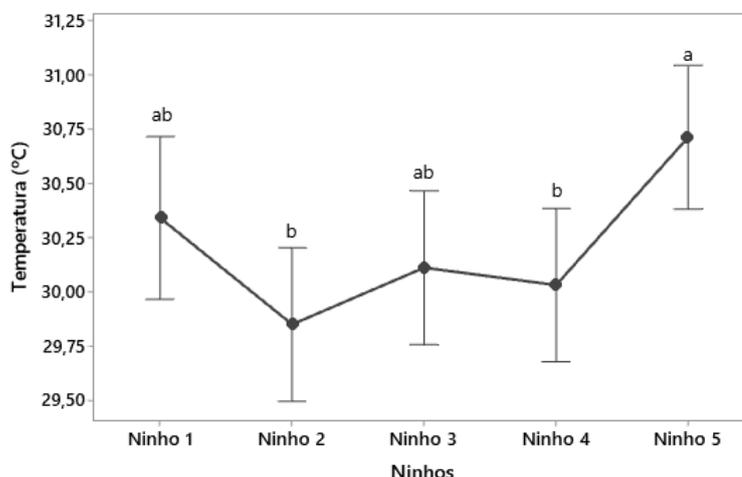


Figura 18 - Ovos inviáveis após período de incubação afetados por larva/bactéria (A), não-fertilizados (B), filhote natimorto e filhote predado no ninho natural.

Em 2019, os ninhos atingiram médias de temperaturas máximas e mínimas de 36,07°C a 23,71°C enquanto que os ninhos de 2020 chegaram a 37,78°C a 22,85°C. A temperatura dos ninhos de *P. expansa* do ano de 2019 não apresentou diferença significativa (ANOVA F:2,93; $P=0,058$). Entretanto, ao submetemos à análise de variância, as médias encontradas no ano de

2020, foi possível verificar que são significativamente diferentes ($F=3,67$; $p=0,006$) (Figura 19). As médias de temperaturas dos ninhos quando comparadas entre os anos não variam significativamente (Mann-Whitney: $p=0,805$).



O desvio padrão combinado foi usado para calcular os intervalos.

Figura 19 - Médias de temperatura de ninhos artificiais de *P. expansa* acompanhados em 2020.

Ao analisarmos a amplitude térmica dos ninhos transferidos de diferentes anos, os resultados demonstraram diferenças significativas (Kruskal-wallis: $P<0,03$), sendo o ano de 2020 com média maior ($Temp=30,36\pm0,38$) embora as temperaturas do ambiente da praia de 2019 tenham sido maiores ($Temp=30,35\pm0,35$).

Foram aplicadas análises de regressões para verificar relações entre sucesso de eclosão e dias de incubação, mas não foram encontrados resultados significativos ($P=0,334$; $R^2=4,91\%$) em 2019 e ($P=0,21$; $R^2=19,09\%$) em 2020. Quanto a relação entre sucesso de eclosão e temperatura do ninho também não houve relações ($P=0,93$; $R^2=0,93\%$) ($P<0,98$; $R^2=0,07\%$) nos anos de 2019 e 2020, respectivamente.

A tabela 2.6 apresenta as médias das medidas morfométricas (comprimento retilíneo de carapaça (CRC); largura retilínea de carapaça (LRC); comprimento retilíneo de plastrão (CRP); largura retilínea de plastrão (LRP); altura e peso de 303 filhotes nos anos de 2019 e 2020. Os filhotes que nasceram no ano de 2019 apresentaram um média de comprimento e peso superiores aos nascidos em de 2020.

Ao utilizarmos temperatura média dos ninhos acompanhados, verificamos que foi possível encontrar relação com comprimento da carapaça dos filhotes ($P=0,02$; $R^2=99,6\%$), enquanto que para o peso não foi possível encontrar correlação significativa ($P=0,02$; $R^2=99,6\%$) no ano

de 2019. Para o ano de 2020, não foi possível encontrar relações significativas com comprimento da carapaça ($P=0,387$; $R_2=67,44\%$) e peso do filhote ($P=0,211$; $R_2=89,46\%$).

Para compararmos as medidas morfométricas entre os anos foram aplicados testes não-paramétricos de Mann-Whitney, aos quais não foram encontradas diferenças significativas entre medidas dos filhotes: CRC ($p=0,84$), LRC ($p=0,36$), CRP ($p=0,67$), LRP ($p=0,79$), altura ($p=0,48$) e peso ($p=0,99$).

Tabela 2.6 - Características morfométricas dos filhotes de *P. expansa* no criador comercial Bicho do Rio, Iranduba/AM

Ano	Carapaça (mm)		Plastrão (mm)		Altura (cm)	Peso (g)
	Comp.	Larg.	Comp.	Larg.		
2019						
Média	45,82	41,79	40,97	28,79	22,10	21,95
Desv. P.	2,91	3,16	2,58	3,86	1,50	2,36
Máx.	51	49	45	42	26	28,88
Min.	37	34	32	21	18	15,52
2020						
Média	43,10	38,72	38,67	22,66	21,40	19,98
Desv. P.	2,49	3,12	3,38	2,19	1,58	2,38
Máx.	48	45	47	30	25	31,91
Min.	30	31	23	18	15	14,02

Quanto à sexagem dos filhotes realizada no ano de 2019, a razão sexual encontrada foi de 4M:1F, indicando uma masculinização dos filhotes. Na tabela 2.7 estão descritos os resultados para análise das covas analisadas e temperatura do segundo-terço do período de incubação. Não foi possível estabelecer relações significativas (regressão linear) entre as taxas de fêmeas no ninho com temperatura média do 2/3 do período de incubação $Y= 0,529-0,0144X$ ($P=0,92$; $R^2=0,6\%$), e não sendo possível para período de incubação.

Tabela 2.7 – Resultados da sexagem de filhotes de *P. expansa* e médias de temperatura das suas respectivas covas monitoradas com datalogger.

NINHO	Razão sexual	Fêmeas no ninho (%)	Período de incubação (dias)	Temperatura do 2/3 (°C)
#28 (5)	4M:1	20,00%	62	29,13
#31 (5)	4M:1F	20,00%	62	30,33
#33 (5)	5M:0F	0,00%	62	29,31
#34 (5)	5M:0F	0,00%	62	29,31

*valores em parênteses correspondem ao N amostral.

2.5.5 Alometria reprodutiva

Foi realizada uma correlação, pelo método de Pearson, com medidas biométricas de fêmeas capturadas após desova e dados de seus respectivos ninhos que foram monitorados até eclosão dos filhotes (Anexo 3). Foram observadas correlações significativas para comprimento carapaça fêmea versus largura da carapaça ($P=0,018$), largura do plastrão ($P=0,001$), altura ($P=0,009$), distância da água ($P=0,006$), largura da pata ($P=0,009$), largura entre patas ($0,009$) e tempo de incubação ($0,004$); Largura da carapaça versus largura do plastrão fêmea ($P<0,030$), peso ($0,046$), distância da água ($0,024$), tempo de incubação ($0,004$), comprimento do filhote ($0,011$); largura do plastrão fêmea versus comprimento do filhote ($P=0,027$), massa total da desova ($P=0,017$), tempo de incubação ($P=0,014$); peso da fêmea versus nº de ovos de um ninho; número de ovos versus comprimento ($P=0,011$) e largura ($P=0,05$) do filhote; tempo de incubação versus comprimento ($P=0,015$) e largura ($P=0,048$) do filhote; comprimento do filhote versus largura do filhote ($P=0,012$) as demais variáveis encontram-se no anexo 3.

A partir das correlações significativas pelo método de Pearson, analisou-se as possíveis relações lineares por meio de análise de regressão (Anexo 6). Foram analisadas medidas biométricas das fêmeas, dos ninhos, biometria dos ovos, período de incubação e medidas dos filhotes. Os resultados das regressões lineares estão descritos na tabela 2.8. Com relação as medidas biométricas das fêmeas adultas, foi observado que relação linear significativa entre comprimento da carapaça da fêmea com largura da carapaça: $Y=9,08+0,5882X$ ($P=0,013$; $R^2=38,75\%$), largura do plastrão: $Y=10,41+0,4153X$ ($P=0,003$; $R^2=50,2\%$) (Figura 20-A), com distância da água $Y=90,11-1,050X$ ($P=0,001$; $R^2=59,53\%$) (Figura 20-B), largura da pata $Y=-13,42+0,3966X$ ($P=0,001$; $R^2=60,56\%$) (Figura 20-C), distância entre patas $Y=-2,34+0,406X$ ($P=0,009$; $R^2=42,11\%$), Nº de ovos $Y=-63,29+2,452X$ ($P=0,019$; $R^2=35,63\%$) e o tempo de incubação dos filhotes $Y=69,34-0,1127X$ ($P=0,001$ $R^2=56,27\%$) (Figura 20-D).

Tabela 2.8 – Relações lineares significativas entre medidas biométricas das fêmeas, medidas dos ninhos, e biometria dos filhotes de *P. expansa* criadas em cativeiro, Iranduba/AM.

y	x	a	b	F	p	R ² (%)
LRC (cm)	CRC (cm)	9,08	0,5882	8,22	0,013	38,75
LRP (cm)	CRC (cm)	10,41	0,4153	13,11	0,003	50,22
Distância da água (m)	CRC (cm)	90,11	-1,05	19,12	0,001	59,53
Largura da pata (cm)	CRC (cm)	-13,42	0,3966	19,96	0,001	60,56
Distância entre pata (cm)	CRC (cm)	-2,34	0,406	9,46	0,009	42,11
Nº de ovos	CRC (cm)	-63,29	2,452	7,2	0,019	35,63
Tempo de incubação (dias)	CRC (cm)	69,34	-0,1127	16,73	0,001	56,27
CRP	LRC (cm)	29,57	0,5218	13,93	0,003	51,73
LRP (cm)	LRC (cm)	18,38	0,4193	10,95	0,006	45,71
Peso (kg)	LRC (cm)	10,94	0,4274	5,00	0,044	27,76
Distância da água (m)	LRC (cm)	55,27	-0,7673	5,15	0,04	22,87
Nº de ovos	LRC (cm)	-47,96	3,108	13,60	0,003	51,12
Tempo de incubação (dias)	LRC (cm)	67,69	-0,1241	20,21	0,001	60,86
LRP (cm)	CRP (cm)	31,41	0,6173	5,02	0,043	27,85
Tempo de incubação (dias)	CRP (cm)	69,82	-0,15	11,43	0,005	46,8
Tempo de incubação (dias)	LRP (cm)	67,1	-0,1429	5,85	0,031	31,03
Nº de ovos	LRP (cm)	-99,45	5,262	16,79	0,001	56,36
Massa total da desova (g)	LRP (cm)	-3878	189,3	9,42	0,013	51,15
AC (cm)	Idade (anos)	7,432	0,586	8,87	0,012	42,5
Distância entre pata	AC (cm)	39,58	-0,7776	7,31	0,018	35,98
Nº de ovos	Peso (kg)	-4,74	3,48	9,47	0,009	42,15
Distância entre pata (cm)	Largura da pata (cm)	-2,614	0,6493	22,63	0,00	63,51
Distância da água (m)	Distância entre pata (cm)	57,55	-1,567	14,01	0,002	51,88
Tempo de incubação (dias)	Distância entre pata (cm)	62,12	0,1791	16,27	0,001	55,58
Distância da água (m)	Largura da pata (cm)	45,39	-2,004	16,74	0,001	56,28
Tempo de incubação (dias)	Largura da pata	64,01	-0,1784	7,51	0,017	36,6
Peso ovo (g)	Tamanho ovo (mm)	10,24	0,06391	7,55	0,023	45,61
Massa total da desova (g)	Nº de ovos	-257,9	36,98	315,7	0,00	97,23
Ovos gorados	Nº de ovos	-53,68	1,157	16,22	0,001	55,52
Tempo de incubação (dias)	Nº de ovos	63,81	-0,02236	6,31	0,026	32,67
Nº de ovos	Massa total da desova (g)	9,666	0,022629	315,0	0,000	97,23
Ovos gorados	Massa total da desova (g)	-49,82	0,03117	16,29	0,003	64,41
Comprimento filhote (mm)	Massa total da desova (g)	-10767	308,2	0,010	10,61	54,10
Largura filhote (mm)	Massa total da desova (g)	36,33	0,00177	9,12	0,014	50,34
Largura filhote (mm)	Comprimento filhote (mm)	-1,58	0,947	19,9	0,001	60,48
Peso filhote (g)	Comprimento filhote (mm)	3,779	0,3966	6,65	0,023	33,85
Comprimento filhote (mm)	Filhotes natimortos	41,9	-0,8803	5,72	0,03	30,55

*Comprimento retilíneo do plastrão (CRP), largura retilínea da carapaça (LRC); comprimento e largura do plastrão (CP e LP), altura da carapaça (AC).

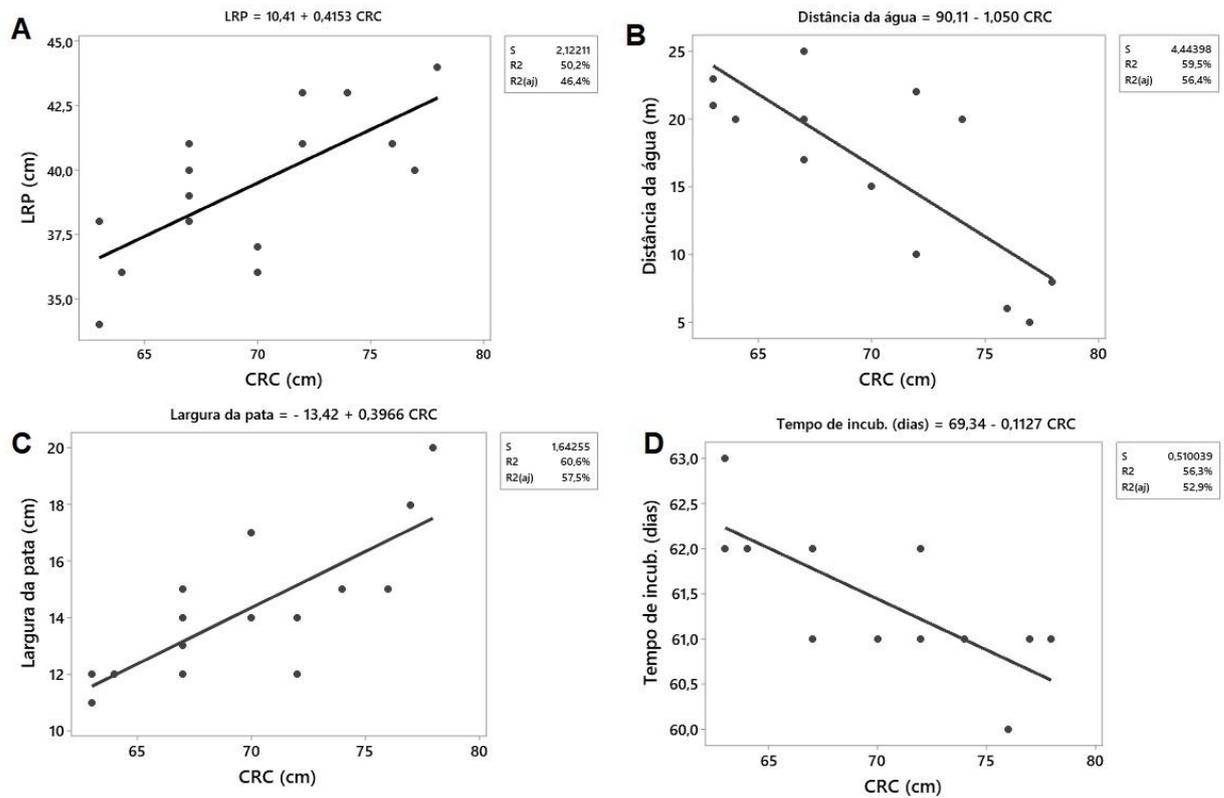


Figura 20 - Análise de regressão linear entre comprimento da carapaça de fêmeas de *P. expansa* com: largura do plastrão (A), distância da água (B), largura da pata (C) e tempo de incubação dos filhotes (D).

Assim como também, a regressão linear simples mostra que existe relação significativa para largura retilínea da carapaça com: comprimento retilíneo do plastrão $Y = 29,57 + 0,5218X$ ($P = 0,003$; $R^2 = 51,73\%$) (Figura 21-A), largura do plastrão ($p = 0,006$; $R^2 = 45,71$), peso ($p = 0,044$; $R^2 = 27,76$), distância da água ($P = 0,04$; $R^2 = 22,87$), número de ovos $Y = -47,96 + 3,108X$ ($P = 0,003$; $R^2 = 51,12\%$) (Figura 21-B) e tempo de incubação $Y = 351,6 - 4,905X$ ($P = 0,001$; $R^2 = 60,86\%$) (Figura 22).

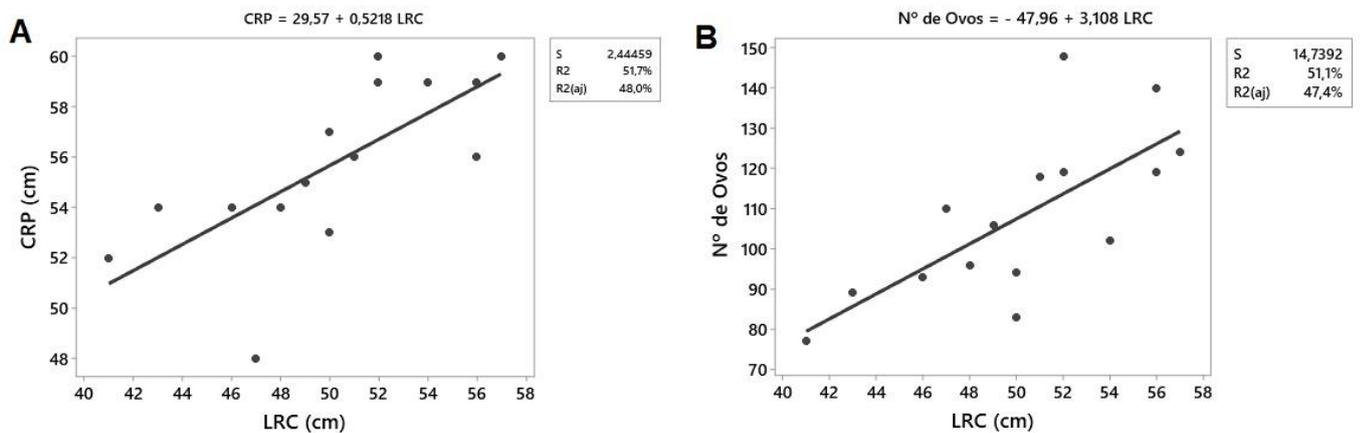


Figura 21- Análise de regressão linear entre largura da carapaça de fêmeas de *P. expansa* com: comprimento do plastrão (A) e Número de ovos (B).

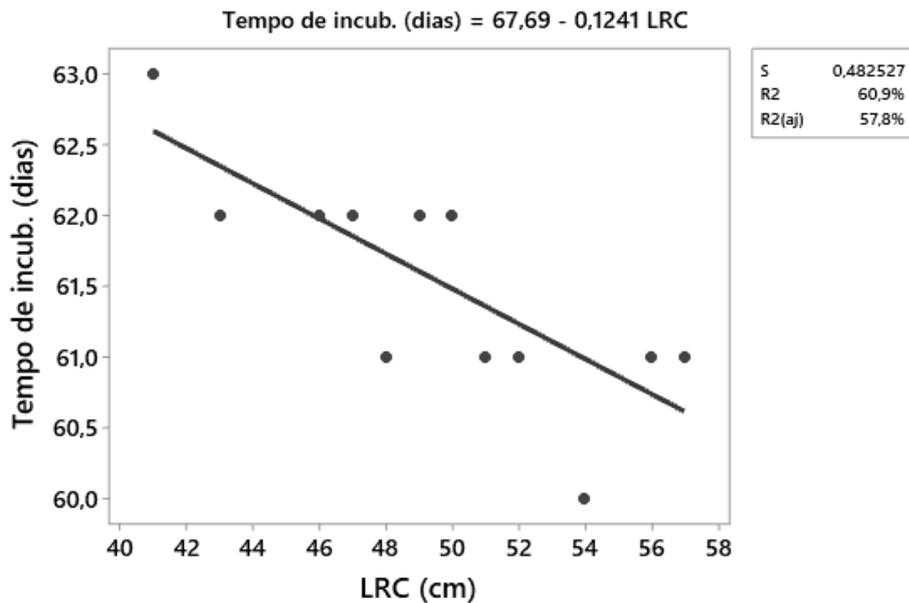


Figura 22 - Análise de regressão linear entre largura da carapaça de fêmeas de *P. expansa* com tempo de incubação dos filhotes.

Quanto ao comprimento do plastrão, foram encontradas relações significativas com largura da carapaça ($P=0,043$; $R^2=27,85$), assim como houve relação entre tempo de incubação ($P=0,05$; $R^2=46,80$). A largura do plastrão também mostrou relação significativa com: tempo de incubação ($P=0,031$; $R^2=31,03$), para número de ovos $Y=-47,96+3,108X$ ($P=0,003$; $R^2=56,3\%$) e massa total da desova $Y=-38,78+189,3X$ ($P=0,0013$; $R^2=51,15\%$) (Figura 23). Fêmeas mais largas puseram mais ovos e maior massa total de ovos na desova.

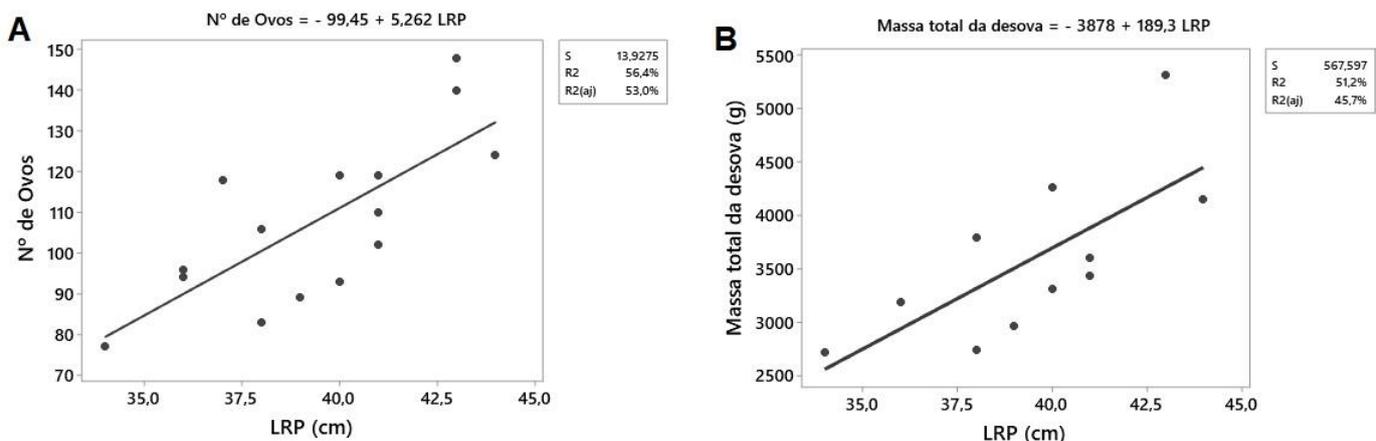


Figura 23 - Análise de regressão linear entre largura de carapaça de matrizes com número de ovos (A) e massa total da desova (B).

Com a análise de regressão linear simples podemos verificar que a idade mostrou afetar significativamente a altura ($P=0,012$; $R^2=42,5$). Assim como, a altura das fêmeas tem relação com distância entre pata ($P=0,018$; $R^2=35,98$). O peso das fêmeas está relacionado significativamente ao nº de ovos ($P=0,009$; $R^2=42,15$).

Como podemos observar na figura 24, o tamanho da pata do animal está relacionado com a distância da água $Y= 18,99 -0,2809X$ ($P=0,001$; $R^2=56,28\%$), com a distância entre pata $Y=31,56-0,3310X$ ($P=0,002$; $R^2=51,88\%$) (Figura 24) e com tempo de incubação do filhote ($P=0,017$; $R^2=36,60$). Assim como a distância entre patas tem relação com a distância da água $Y= 57,55-1,567X$ ($P=0,002$; $R^2=51,8\%$) e o período de incubação $Y= 66,12-0,1791X$ ($P=0,001$; $R^2=55,58\%$) (Figura 25). Animais com menor rastro e pegada (e, portanto, menores) conseguiram se distanciar mais da água para desovar.

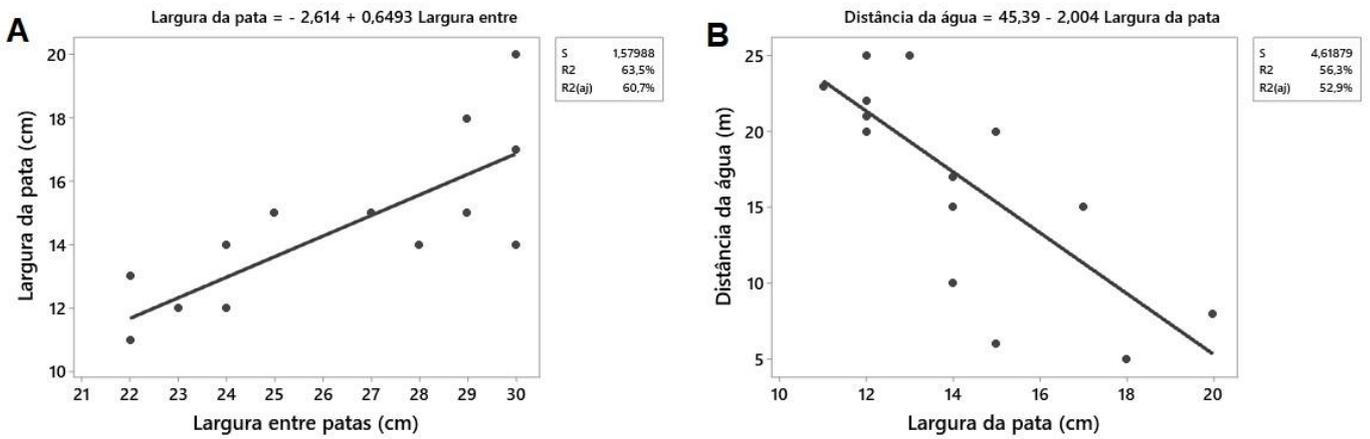


Figura 24 - Análise de regressão linear entre largura da pata de matrizes com largura entre patas (A) e distância da água (B).

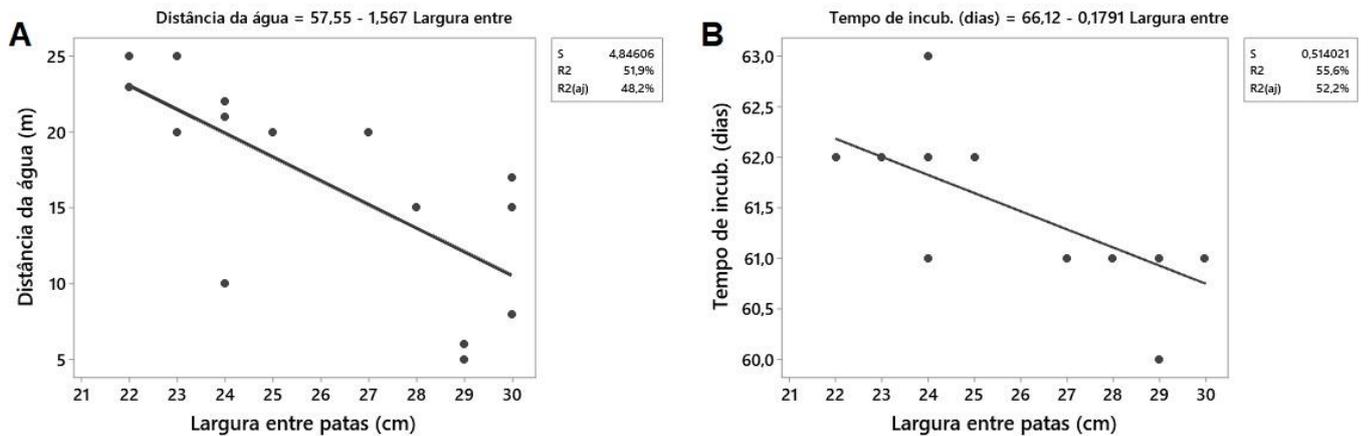


Figura 25 - Análise de regressão linear entre largura entre patas de matrizes com distância da água (A) e tempo de incubação dos filhotes (B).

Com base nas medidas coletadas dos ovos podemos verificar relação significativa entre n° de ovos com: massa total da desova $Y = -257,9 + 36,98X$ ($P = 0,000$; $R^2 = 97,23\%$), ovos gorados $Y = 53,68 + 1,157,98X$ ($P = 0,001$; $R^2 = 55,62\%$), e com tempo de incubação ($P = 0,026$; $R^2 = 32,67$) (Figura 26).

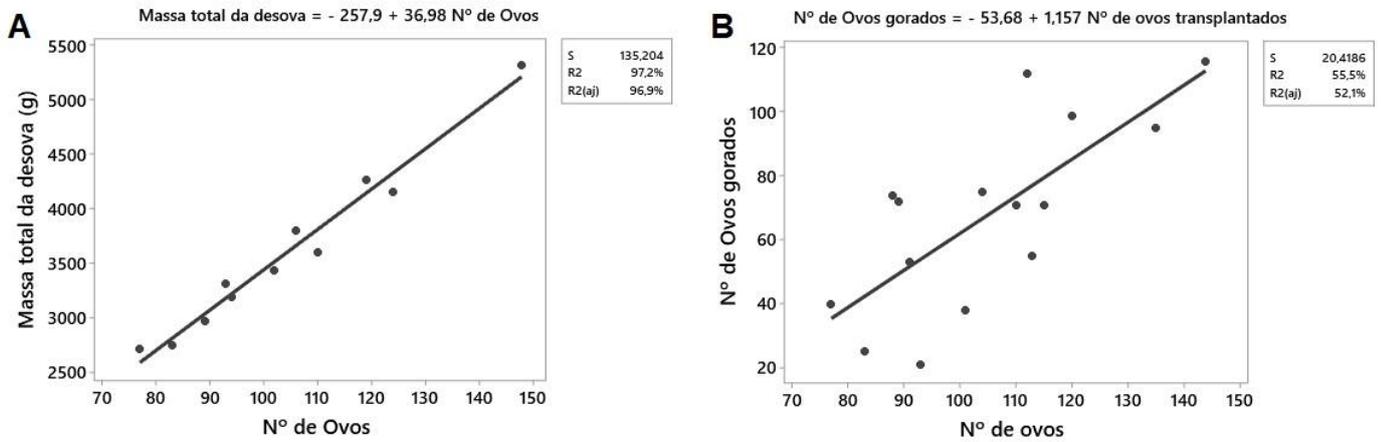


Figura 26 - Análise de regressão linear entre n° de ovos de matrizes com massa total da desova (A) e n° de ovos gorados (B).

Quanto a massa total da ninhada, podemos verificar relações com número de ovos número de ovos gorados $Y = 2308 + 20,67X$ ($P = 0,003$; $R^2 = 64,41\%$) (Figura 27), comprimento do filhote $Y = 40,28 + 0,001755X$ ($P = 0,010$; $R^2 = 54,10\%$) e largura do filhote $Y = 36,33 + 0,001767X$ ($P = 0,014$; $R^2 = 50,34\%$) (Figura 28). Ninhos com maior massa total de ovos geraram filhotes maiores e mais largos, mas também tiveram maior quantidade de ovos gorados ou inviáveis.

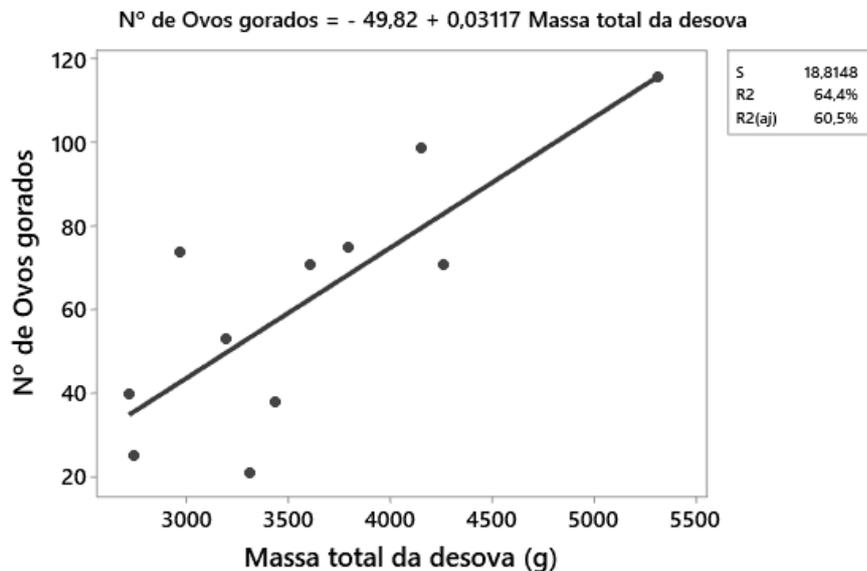


Figura 27 - Análise de regressão linear entre nº de ovos gorados com massa total da desova.

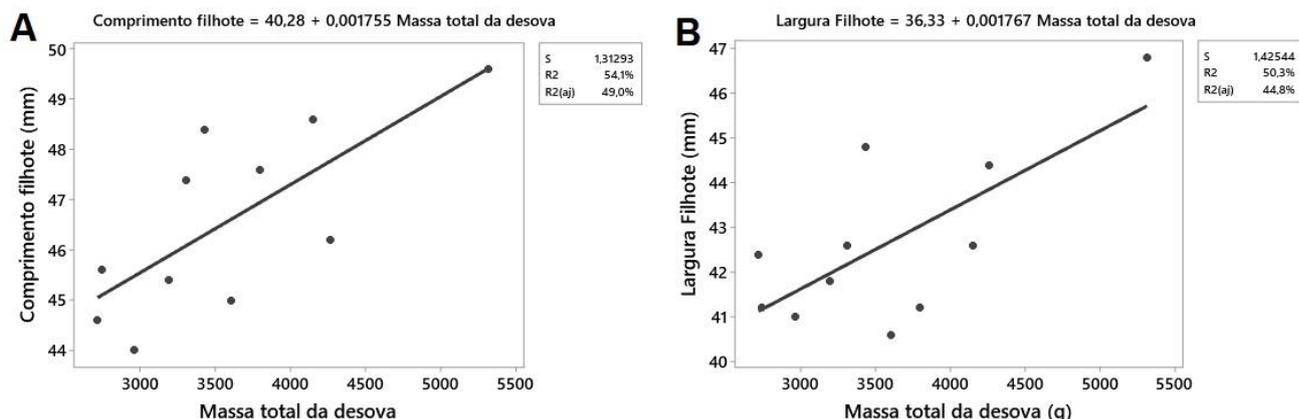


Figura 28 - Análise de regressão linear entre nº de ovos de matrizes com massa total da desova (A) e nº de ovos gorados (B).

Por fim realizamos regressões lineares simples entre medidas biométricas dos filhotes de comprimento e largura de carapaça ao qual encontramos relação de $Y = -1,580 + 0,9470X$ ($P = 0,001$; $R^2 = 60,48\%$) (Figura 29) e com o peso ($P = 0,023$; $R^2 = 33,85\%$). A quantidade de filhotes natimortos também mostrou relação com comprimento dos filhotes ($P = 0,03$; $R^2 = 30,55\%$)

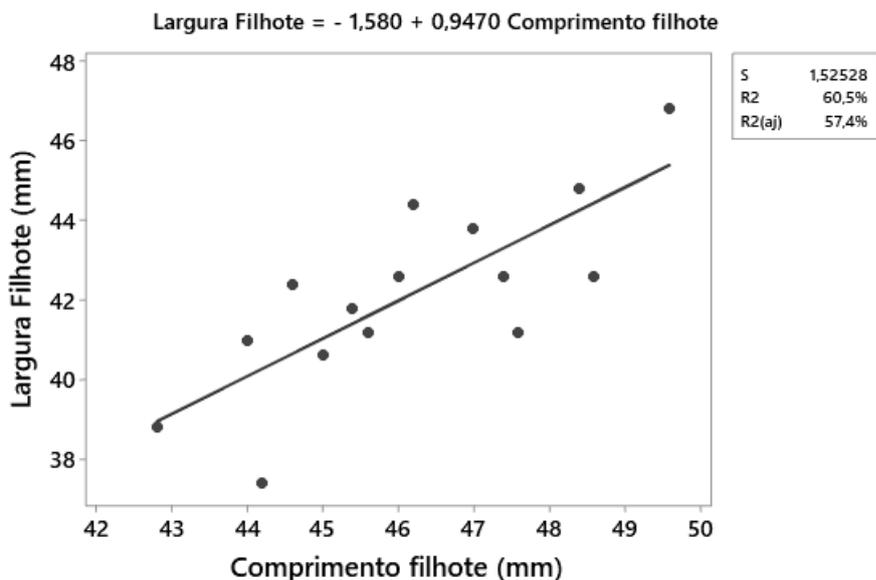


Figura 29 - Análise de regressão entre comprimento de filhotes com largura de filhotes de *P. expansa*

2.6 DISCUSSÃO

2.6.1 Parâmetros ambientais da criação

Para as tartarugas, a água possui fundamental importância nos processos reprodutivos, uma vez que todo seu processo de desova está intimamente ligado ao ciclo hidrológico e características da água (ALHO; PÁDUA, 1982; SANTOS et al., 2013). Ao avaliarmos valores de pH, temperatura e demanda bioquímica de oxigênio. São poucos os registros de avaliação de parâmetros da água em tanques para a espécie.

Lima (2000) registrou em seu trabalho dados avaliativos sobre características da água em tanque e barragem dos criadores de quelônios amazônicos. Os valores de pH obtidos em seu estudo foram de 5,2 a 6,9. Enquanto que os valores encontrados nos nossos foram de 5,97 a 8,2. Os valores de pH encontrados neste estudo, enquadram-se faixa ideal para criação de quelônios (6,2 a 8,5), possibilitando então, que o ambiente estivesse em equilíbrio e que todos seus processos biológicos não fossem inibidos (YOUNG-VALENCIA; ORTEGA-GUIO; BOTERO-BOTERO, 2017).

O maior valor coletado de pH foi encontrado no período assoalhamento (agosto), expressando um valor levemente alcalino. Isso pode estar relacionado a uma menor demanda de oxigênio dissolvido no período (0,2 ml/L) para metabolizar os alimentos, uma vez que quando a diminuição de CO₂ na água poderá influir na elevação do nível de pH.

Em estudo da qualidade da água, com três coletas semanais, para *K. scorpiodes* criados em cativeiro, não foi possível encontrar variações de pH ao longo do ano com médias de 6,3 a 6,4, talvez um estudo com análises mais periódicas de pH em tanques de *P. expansa* seja possível encontrar dados mais conclusivos para variação ao longo do ciclo (FERREIRA et al., 2020).

Quanto aos valores de oxigênio dissolvido os valores encontrados na fase vitelogênese e acasalamento foram bem altos, evidenciando a presença de colunas de água bem oxigenadas, enquanto que nos períodos assoalhamento e desova obtivemos níveis mensurados bem baixos. Estes valores são semelhantes ao descritos por Lima (2000), que obteve valores de 0,0 a 10,08 mg/L, em diversos criadores de quelônios amazônicos. Essa variação entre os períodos pode ser parcialmente explicada pela variação no grau de pureza da água (sólidos em suspensão) e/ou aumento da renovação contínua da água.

O período de desova aconteceu de setembro a novembro. Os animais oriundos dos primeiros lotes de matrizes e reprodutores da propriedade são do rio Purus (AM), onde o período de

desova é setembro, e rio Branco (RR), o período de nidificação é de dezembro a janeiro. Ou seja, o período de desova encontrado neste criador é semelhante aos descritos para indivíduos do rio Solimões, Médio Amazonas (ANDRADE, 2008, 2015; GARCEZ, 2009). O mesmo período de nidificação para *P. expansa* também é relatado por Fachín-Terán et al. (2003) no Rio Solimões e Japurá, RSD, Mamirauá/AM.

Fatores abióticos como precipitação pluviométrica e a temperatura do ar ou da água constituem os principais fatores ambientais que moldam o comportamento biológico reprodutivo de quelônios amazônicos (ANDRADE, 2012; KUHLING, 1999). Por isso, o acompanhamento da temperatura é necessário para avaliar processos reprodutivos dos quelônios, desde a fase embrionária até o momento de nidificação, regulando os processos reprodutivos (BLANVILLAIN; OWENS; KUHLING, 2011; FERREIRA JÚNIOR, 2009).

No presente estudo registrou-se uma média de temperatura da praia durante o período de incubação (outubro a dezembro) de $30,07 \pm 7,74^{\circ}\text{C}$ em 2019 e $29,09 \pm 6,67^{\circ}\text{C}$ em 2020. Garcez (2009) encontrou resultados semelhantes realizando o acompanhamento de temperaturas da praia em criadores comerciais, com temperaturas máximas de $30,3^{\circ}\text{C}$. A temperatura do ambiente tem fundamental influência no processo da desova, principalmente nos meses antecedentes, pois para completar os processos vitelogênico é necessário um certo número de dias quentes (FERREIRA JÚNIOR, 2009). No ano de 2019 foi possível registrar valores de temperatura máxima do ar de até $51,85^{\circ}\text{C}$, um valor muito alto se comparado à encontrada no ano de 2020 para o mesmo período ($46,77^{\circ}\text{C}$).

Efeitos climáticos extremos, com El Niño e La Niña (provoca estiagens no país) também podem interferir em parâmetros reprodutivos de animais de vida longa, ao estudar efeitos do el Niño para três espécies marinhas observou-se que houve variação nos efeitos, para *Dermochelys coreacea* o sucesso reprodutivo diminuiu drasticamente enquanto que para *Chelonia mydas* houve decréscimo pequeno, porém o número de fêmeas desovando foi menor (TOMILLO et al., 2020).

Tendo em vista que esses fenômenos também influem nos processos reprodutivos de espécies amazônicas, o fenômeno climático La Niña, associado ao desmatamento e as queimadas na Amazônia, são responsáveis pela forte seca que ocorre na região. Rodrigues et al. (2012) avaliou a influência das dessas variações climáticas no processo de nidificação e sucesso reprodutivo de quelônios amazônicos.

É certo que o ciclo de águas está intimamente ligado aos processos reprodutivos, por isso o acompanhamento do regime de chuvas também torna-se fundamental para gestão de animais

em cativeiro (RODRIGUES et al., 2012). No reservatório de Araçagi, a Mendes (2013), descreve uma amplitude térmica de 2,6°C enquanto que no nosso estudo este valor chegou a 9,09°C.

Apesar de em 2019 ter denotado temperaturas maiores que de 2020, o sucesso reprodutivo foi maior, mesmo em 2020 registrando ainda temperaturas altas. O que pode ser parcialmente explicado pela influência do ambiente hídrico no tamanho dos filhotes é restrita aos últimos dois terços da incubação. No ano de 2019, os níveis de pluviosidade foram superiores aos mesmos períodos de 2020 (ver figura 12). Rodrigues et al (2012) concluiu em suas análises que quanto menores os níveis de chuva, menor é a taxa de eclosão média dos ovos para tracajá (*Podocnemis unifilis*). Outra parte pode estar ligada a erros de manejo e condições da praia como (granulometria, presença de restos orgânicos)

Fatores relacionados a precipitação também foram encontrados para tamanho dos filhotes. Condições mais úmidas produzem filhotes maiores do que condições secas, provavelmente porque a água é necessária para o metabolismo do vitelo, utilizado durante o desenvolvimento embrionário (RODRIGUES et al., 2012). Confirmado por nossos resultados, pois filhotes nascidos no ano de 2019 apresentam média maior de comprimento (45,82±2,91 mm) e peso (21,95±2,36 g) quando comparados à média de 2020 (43,10±2,49 mm); (19,98±2,38 g).

Em relação a temperatura dos ninhos, foram encontradas médias semelhantes (ANOVA F:2,93; P=0,058) nos anos de 2019 (30,36±0,38°C) e 2020 (30,35±0,35°C). Em Terra Santa/PA, a temperatura média dos ninhos de *P. expansa* variaram de 31,3 a 32°C (ANDRADE, 2015).. A amplitude térmica em ninhos do ano de 2020 foi de 12,37±0,35°C), com taxas de mortalidade acima de 80%. Resultados de amplitudes altas também são descritas por Malvasio (2002) com valor de 13,3°C em ninhos de *P. expansa*, o que possivelmente causou a morte embrionária.

2.6.2 Biometria de matrizes e reprodutores de *P. expansa*

No criador comercial Bicho do Rio, em Iranduba, as tartarugas fêmeas tiveram um comprimento retilíneo da carapaça (CRC) de 67,08±4,74 cm e peso médio 32,61±6,25 kg e encontramos para os machos 37,33±4,74 cm de CRC e pesaram em média 6,15±1,82 kg com idades de 19,78±3,08 anos e 14,47±2,29 anos para fêmeas e machos respectivamente.

De acordo com Ferrara et al. (2017) a maturidade sexual da fêmea de *P. expansa* é alcançada quando animal atinge minimamente 45 cm, ou quando atinge entre 10 e 15 anos, todavia não existe comprovação científica para tal parâmetro. Em cativeiro Andrade (2008) afirma que a

idade média do plantel reprodutivo nas primeiras desovas de tartaruga em cativeiro é de $8,57 \pm 0,79$ anos, com fêmeas pesando em média $14,2 \pm 2,3$ kg e machos com peso de $4,2 \pm 0,8$ kg. Corroborando com os resultados encontrados neste estudo, o qual a menor fêmea mede 51 cm e a fêmea mais nova possui 13 anos. Andrade (2015) analisando o peso e comprimento de quelônios amazônicos, encontrou para fêmeas de *P. expansa*, capturadas no Médio Juruá, uma média de CRC de $50,4 \pm 22,4$ cm, assim como o peso de $19,7 \pm 18,3$ kg e idade média de $12,7 \pm 7,6$ anos, valores inferiores aos observados no estudo.

No mesmo criador comercial de quelônios, foi registrado por Garcez (2009) valores menores de peso médio de $20,12 \pm 11,46$ kg para fêmeas adultas e de $6,90 \pm 2,27$ kg para machos adultos em idade reprodutiva. O peso dos machos deste estudo fora semelhante aos descritos pelo autor, contudo, nas fêmeas média de peso superior. A idade dos animais considerados sexualmente maduros no estudo foi de 8 a 25 anos, com média de 12 anos. Neste experimento foram encontrados animais de até 28 anos no lote das matrizes.

Lustosa (2017) ao avaliar animais adultos da área de proteção ambiental meandros do Rio Araguaia encontrou valores mais altos para fêmeas adultas que subiam para desovar com CRC variando de 60 a 66 cm, concluindo que tais fêmeas seriam animais mais velhas e com mais experiência no processo reprodutivo. Tais registros nos levam a observar que há diferenças morfométricas e que podem variar de acordo com a região na qual a população está inserida, e quando submetidos ao cativeiro devemos levar em conta o tipo de manejo utilizado e da disponibilidade de alimento, principalmente nos primeiros meses de cultivo (ANDRADE, 2008; 2012; ANDRADE et al., 2021).

2.6.3 Transferência de ninhos e biometria de ovos

Informações sobre a estrutura física das covas, bem como os locais de nidificações são cada vez mais importantes para adoção das melhores estratégias de manejo de quelônios baseados na coleta de ovos, na incubação artificial ou até mesmo na transferência de ovos (ALVES JÚNIOR et al., 2010; ANDRADE, 2015). A tartaruga-da-Amazônia põe em média 100 ovos (FERRARA et al., 2017; RUEDA-ALMONACID et al., 2007). Neste estudo a média de ovos em 2019, foi de $106,48 \pm 18,58$ e 2020 foi de $109,6 \pm 1294$. Garcez (2009) relata que para este mesmo local encontrou valores inferiores com média de $60,5 \pm 4,95$, $76,39 \pm 23,93$ e $86 \pm 13,37$, nos anos de 2007, 2008 e 2009, ou seja, quando os animais estavam mais novos, a quantidade de ovos por ninho era menor. Andrade (2015) apresenta que em ninhos na areia a *P. expansa*

pode colocar em média $94,1 \pm 23,6$ ovos (max=151 e mín=41) e na argila em média $81 \pm 12,7$ ovos (max=90 e min =72) na região do médio-baixo Amazonas, sendo a média geral de $77,9 \pm 30,7$ ovos (max=171; min=41). Andrade (2015) encontrou como média para ninhos de *P. expansa* coletados no Médio Amazonas, em Barreirinha (N=10) $82,5 \pm 23,7$, Nhamundá (N=5) $73,0 \pm 1,3$ e Parintins (N=128) $90,7 \pm 29,4$. Podemos assim verificar que podem ocorrer variações na quantidade de ovos de acordo com fêmea, ou ano com a interferência de fatores ambientais em conjunto com a disponibilidade de alimento ofertado ao animal, para mobilização energética no processo da vitelogênese, mesmo se tratando de mesmas regiões ou áreas próximas.

A média de profundidade total descrita em nosso estudo foi de $55,10 \pm 12,66$ cm em 2019 e $50,88 \pm 11,14$ cm em 2020, estes valores são semelhantes aos encontrados por Bonach, Pinã e Verdade (2006), que relataram 51,85 cm (amplitude 37,5 - 83,0; N=10) para covas de *P. expansa* no Crixás-Açu, e aos valores encontrados por Andrade (2015) em Terra Santa/PA (profundidade= $55,1 \pm 4,8$ cm). Valores superiores foram relatados por Ferreira-Júnior, Castro e Castro (2007) na mesma área de estudo, obtiveram valor de 59,3 cm (amplitude 53,7 - 64,8; N=16). Isso pode ser explicado pelas diferenças entre a granulometria da areia, fator ao qual pode interferir na construção da cova e pelo tamanho das mães (PORTELINHA et al., 2013). A profundidade da cova é uma variável importante, tanto para populações naturais quanto para fins comerciais pois ninhos mais profundos têm temperaturas mais frias e tendem a produzir uma porcentagem maior de machos do que os ninhos mais superficiais, alterando então a razão sexual da ninhada (BLANVILLAIN; OWENS; KUCHLING, 2011; FERREIRA JÚNIOR, 2009).

A média de comprimento e peso dos ovos no ano de 2019 foram respectivamente, $37,96 \pm 1,37$ mm $34,52 \pm 2,56$ g e em 2020 foram, $35,56 \pm 2,09$ mm e $29,68 \pm 4,34$ g. Andrade (2015) descreveu características morfométricas de ovos de *P. expansa* no Lago do Piruacá/PA (N=15), comprimento de $36 \pm 4,2$ mm e peso de $30,3 \pm 8$ g, mas em Barreirinha, no rio Andirá, os ovos das tartarugas foram maiores (40,3mm) e mais pesados (41,3 g). O tamanho da fêmea pode estar relacionado diretamente com as características da desova (número de ovos, comprimento e peso, massa total da desova) podendo explicar tais variações (PORTELINHA et al., 2013).

2.6.4 Incubação, taxa de eclosão e morfometria dos filhotes

Ao avaliar o período de incubação observou-se uma média de $61,86 \pm 0,96$ dias em 2019 e $61,6 \pm 1,21$ dias em 2020. Andrade (2015) descreve um período de incubação de $52,8 \pm 5,4$ dias (N=15), enquanto que Ferreira Júnior e Castro (2003) relatam um período de 36 a 75 dias. O que vai influenciar o número de dias são granulometria da areia, trocas gasosas entre o meio externo e o interior do ninho e principalmente valores das temperaturas e umidade durante esse período, que quando submetidos a altas temperaturas de incubação aceleram o desenvolvimento embrionário, aumento o sucesso de eclosão (CAMPBELL, 2006; FERREIRA JÚNIOR, 2009; IBAMA, 2016; MICHALSKI et al., 2020). Além de Ferreira Junior (2009) afirmar que o período de incubação pode ser uma metodologia simples e não invasiva para determinar a razão sexual da ninhada.

Por serem animais que tem o sexo influenciado pela temperatura, a escolha do local e momento da desova são cruciais para o embrião, além de exercerem influência no sexo, são importantes para comportamento e tamanho dos filhotes (FERREIRA JÚNIOR, 2009; LUBIANA; FERREIRA JÚNIOR, 2009). Em locais onde se há ameaça, seja por predação ou alagamento, tem sido adotada estratégia de conservação de translocação de ovos (ANDRADE, 2012; IBAMA, 2016). Além do mais evita-se que fêmeas que desovam posteriormente removam covas das noites anteriores (PANTOJA-LIMA et al., 2009). Para criadores comerciais é importante conhecer as taxas de eclosão, período de incubação afim de fazer ajustes no seu manejo.

A taxa de eclosão no criador Bicho do Rio foram de $35,69 \pm 21,44\%$ em 2019 e $23,73 \pm 22,24\%$ em 2020. Andrade (2015) encontrou taxas de eclosão que variaram de 69 a 93,6% em ninhos naturais e de 43 a 59% em ninhos transferidos de *P.expansa* em Terra Santa/PA, 53,3% em Oriximiná/PA, 63,4% em Parintins, 64,4% em Barreirinha até 71,7% em Maués. Quanto as taxas de eclosão de ninhos, estas apresentam valores inferiores a 50%, normalmente explica-se pela falta de cuidados básicos na transferência, imperícia da equipe ou grande variação microclimática nas condições dos ninhos artificiais (ANDRADE, 2012; IBAMA, 2016).

Tais variações de temperatura nos ninhos podem ser atribuídas até mesmo ao local escolhido para a transferência. O local da chocadeira deve ter uma boa drenagem, para escoamento de águas da chuva, caso contrário poderá haver a proliferação demasiada de fungos e bactérias indesejadas, bem como não deve haver raízes ou predadores como formigas por perto (ANDRADE, 2008; GARCEZ, 2009; IBAMA, 2016). No ano de 2020 observou-se número grande de ovos acometidos por larvas de mosca, o que pode explicar parcialmente a

queda na taxa de eclosão. Outro fator de perda de ninhos foi a predação de jacurarus (*Tupinambis tegunxi*) nos ninhos naturais, onde esses lagartos abriram as covas e comeram os ovos.

Outro fator a considerar na elevação de perdas de ovos, seria as condições da praia. Fatores como: umidade, granulometria da praia e presença de matéria orgânica também influenciam nas taxas de eclosão (ANDRADE, 2008; CATIQUE, 2011). Níveis muito elevados de umidade podem reduzir o sucesso da eclosão, possivelmente porque as trocas gasosas são prejudicadas no ambiente saturado assim como também o substrato seco pode causar morte embrionário por dessecação (FERREIRA JÚNIOR, 2009) . A composição granulométrica da areia também pode acarretar perdas para o sistema de criação, dependendo do tamanho do grão. (TACCHI et al., 2019). E por fim, a Garcez (2009) relata que ao avaliar sucesso reprodutivo em propriedades, verificou que praias artificiais com muita vegetação tem seu sucesso de eclosão reduzido.

A técnica de transferência requer bastante cautela pois em ovos com cascas flexíveis, como os de *P. expansa*, é comum que haja uma influência negativa no sucesso de eclosão dos filhotes, devido a um aumento na mortalidade embrionária, pois nos primeiros estágios embrionários a ligação do embrião com a casca do ovo é frágil, que poderá acarretar perdas se não houver cuidado necessário (ANDRADE, 2012; MAGALHÃES et al., 2017). Por isso aconselha-se o manuseio na posição dos ovos no período do 1º ao 3º dia e a partir do 29º dia após a postura, afim de proporcionar maiores chances de sobrevivência ao embrião (ANDRADE, 2015; MALVASIO et al., 2005).

Os filhotes nascidos no criador Bicho do Rio apresentaram médias de comprimento de 45,82±2,91 mm em 2019 e 43,10±2,49 mm em 2020. E o peso dos filhotes de *P. expansa* no primeiro dia, em 2019, foi 21,95±2,36 g, e em 2020, foi de 19,98±2,38 g. Garcez (2009), analisando peso e comprimento de filhotes de tartaruga-da-Amazônia oriundos também de criadores, encontrou médias de 44,60 a 48,5 mm de comprimento de carapaça e 18,71 a 22,13 g de peso. Alves Júnior et al. (2010) avaliou filhotes de ninhos transferidos que mediam 47,3±0,24 mm de comprimento de carapaça e peso 25,9±1,59 g, valores superiores aos encontrados neste estudo. Andrade (2015) encontrou para filhotes de *P. expansa* recém-nascidos na zona fisiográfica do médio Amazonas animais com 42,9 a 49,9 mm e 17,1 a 23,6 g. A variação do tamanho dos filhotes em diferentes localidades pode ser explicada pela diferença do tamanho das fêmeas adultas que desovaram (MALVASIO et al., 2005; PORTELINHA et al., 2013).

A razão sexual e sucesso de eclosão estão intimamente ligados a temperaturas a que os ovos são submetidos no ninho. Em temperaturas mais elevadas ocorre o desenvolvimento preferencial de fêmeas, enquanto que em situação inversa, há maior geração de machos (MALVASIO et al., 2012). Como o sexo dos embriões é determinado no segundo terço da incubação, durante o período termo-sensitivo, importam apenas as condições desta fase e não de toda a incubação (YNTEMA; MROSOSKY, 1979). A razão sexual encontrada em nosso estudo 0,2F:1M com 10% de fêmeas, com temperatura média durante o segundo terço 29,58°C, Valenzuela, Botero e Martínez (1997) reportaram dada temperatura pivotal para *P. expansa* (temperatura capaz de produzir uma proporção de machos e fêmeas de 50%) bem mais alta 32,5°C porém inferior à relatada por Lubiana e Ferreira Junior (2009) de 33,5°C. Talvez a soma destes fatores explique a alta incidência masculina nos ninhos estudados.

2.6.5 Alometria reprodutiva

Nas tartarugas, geralmente, utiliza-se como padrão, para verificar por meio de características morfológicas se o indivíduo atingiu a maturidade sexual, a avaliação do tamanho da carapaça ou a contagem de anéis das placas para saber a idade (FERRARA et al., 2017; RUEDA-ALMONACID et al., 2007). Como resultado, o comprimento corporal tem sido usado em muitos estudos de alometria reprodutiva como base para obter informações sobre o estado reprodutivo do animal (BONACH; PIÑA; VERDADE, 2006; MIORANDO; GIARRIZZO; PEZZUTI, 2015; URL; WHITAKER; VALENZUELA, 2001).

As fêmeas apresentam uma média de comprimento retilíneo de carapaça de 69,80±4,85 cm e massa de 32,76±3,8 Kg, portanto são animais mais velhos entre 13 e 21 anos e em plena atividade sexual. Neste experimento, usamos medidas biométricas das fêmeas, as variáveis do ninho e da ninhada, rastros, ovos e crias para estabelecer relações entre si (ver anexo 7).

Lustosa (2017) descreve em seu trabalho que fêmeas de vida livre com carapaças maiores, ou seja, com comprimento retilíneo maiores e mais pesadas, tinham número de ovos superior as matrizes menores. No nosso estudo também encontramos esta relação para comprimento ($P=0,019$; $R^2=35,63\%$) e peso ($P= 0,009$; $R^2= 42,15\%$), porém uma relação fraca ($R^2<50\%$). Assim como, Portelinha et al. (2013) que, ao avaliar medidas alométricas (*P. expansa*), encontrou relações significativas para tamanho corpóreo e peso com o tamanho da ninhada.

Além disso, foi possível encontrar relação positiva para largura da carapaça e largura do plastrão com número de ovos. Assim também, como Andrade (2015) encontrou relações

significativas com a largura da carapaça para fêmeas de vida livre. Analisando os efeitos maternos sobre as ninhadas de *P.expansa*, Valenzuela (2001) observou que fêmeas maiores produziam maior número de ovos e ovos maiores, que eram enterrados em ninhos mais profundos, sendo que esses ovos maiores produziram filhotes que tinham melhor sobrevivência.

Informações deixadas na praia, tais como: tamanho e formato da pegada, distância entre patas são indicadores confiáveis para reconhecer a espécie que desovou no local (ANDRADE, 2012). Com a avaliação dessas variáveis, verificamos que tamanho do animal mostrou-se significativamente relacionado também com o tamanho do rastro do animal e a distância entre patas. O que nos permite afirmar, que apenas pegadas deixadas na areia é possível posteriormente estimar o tamanho do animal, e assim o tamanho da ninhada. Dados que corroboram com estudo de Bonach et al. (2007) que encontrou correlações positivas com o tamanho da ninhada (*P. expansa*).

A tartaruga-da-Amazônia seleciona seus locais de desova e deposita seus ovos nos locais mais elevados das praias (VOGT, 2008). A seleção do local pode influenciar diretamente as probabilidades de sucesso de eclosão (PANTOJA-LIMA et al., 2009). Neste estudo observamos uma relação negativa com tamanho de comprimento da carapaça, bem como tamanho da pata, e distância entre patas com a distância da água ao qual o animal percorreu para desovar. Animais maiores colocavam seus ninhos em pontos mais próximos da água.

Em Santarém/PA, foram observados relações significativas para tamanho do animal e a massa da ninhada para *P. unifilis* (PIGNATI; PEZZUTI, 2012). Neste estudo foi possível identificar uma relação positiva entre a largura do plastrão e massa total da ninhada. A mesma relação é descrita por Portelinha et al. (2013) que encontrou também relações positivas entre o tamanho do animal com a massa da ninhada. A massa total da ninhada parece também ter relação com a quantidade de ovos gorados, refletindo no sucesso reprodutivo. Andrade (2015) também verificou uma relação positiva entre estes parâmetros em *P. expansa* de vida livre, Terra Santa/PA.

Neste experimento o tamanho da fêmea (CRC, LRC, CRP, LRP, tamanho da pata e distância entre patas) teve relação negativa com o número de dias do período de incubação dos filhotes, ou seja, quanto maior o tamanho do animal menor será o número de dias de incubação. Lustosa (2017), em seu estudo para a mesma espécie em vida livre não encontrou relações significativas entre estas variáveis. É certo que além disso, fatores ambientais como: temperatura, umidade e granulometria podem interferir no período de incubação (FERREIRA JÚNIOR, 2009; TACCHI et al., 2019).

Como esperado, o comprimento da carapaça em filhotes está associado à largura de filhotes. Araújo (2020) em seu estudo com filhotes do gênero *Podocnemis* também encontrou relações biométricas entre as medidas de filhotes recém-eclodidos. Animais criados em cativeiro apresentam crescimento inicial superior aos criados em vida livre, por isso o ganho de peso nas primeiras etapas da vida seria interessante ao criador de quelônio (ANDRADE, 2012, 2015; PANTOJA-LIMA et al., 2014). Neste estudo verificamos também a relação positiva da massa total da desova com relação às medidas de comprimento e largura dos filhotes. Considerando que o tamanho dos filhotes é afetado pela reserva energética (vitelínica) presente no ovo (BLANVILLAIN; OWENS; KUCHLING, 2011).

2.7 CONCLUSÕES

- a) Os teores de pH e DBO variam ao longo ciclo reprodutivo para *P. expansa* criadas em cativeiro, recomenda-se a avaliação periódica dos níveis, a fim de que processos biológicos não sejam inibidos;
- b) Há variância nos níveis de temperatura e pluviosidade nos diferentes anos (2019-2020);
- c) O tamanho e peso de machos e fêmeas de *P. expansa* não varia ao longo do ciclo reprodutivo em animais de cativeiro;
- d) O tamanho e peso dos ovos de *P. expansa* varia nos diferentes anos (2019 e 2020);
- e) A média de número de ovos por cova de *P. expansa* não varia a longo dos anos (2019 e 2020), todavia a média total no ano de 2020 é inferior;
- f) Em 2020, verificamos que houve diferenças nas médias de temperatura dos ninhos de *P. expansa*;
- g) Não há relação entre o número de fêmeas no ninho de *P. expansa* e a temperatura do 2/3 do período de incubação;
- h) O tamanho (CRC, LRC, LRP) e peso das fêmeas de *P. expansa* está relacionado positivamente com número de ovos;
- i) O tamanho do animal influencia na distância percorrida na praia para desovar, animais maiores desovam mais perto da água;
- j) O tempo de incubação dos filhotes de *P. expansa* são influenciados pelo tamanho da fêmea (CRC, LRC, CRP, LRP, largura da pata, distância entre pata), quanto maior a mãe menor o tempo de incubação;
- k) A quantidade de ovos tem relação com o número de dias de incubação do filhote de *P. expansa*;
- l) O número de ovos de *P. expansa* tem relação com número de ovos gorados;
- m) A massa total da desova tem relação positiva com comprimento e largura de filhotes de *P. expansa*;
- n) O comprimento da carapaça de *P. expansa* tem influência com o número de filhotes natimortos.

2.8 REFERÊNCIAS

- ALHO, C. J. R.; PÁDUA, L. F. M. Sincronia entre o regime de vazante do rio e o comportamento de nidificação da tartaruga da Amazônia *Podocnemis expansa* (Testudinata: Pelomedusidae). **Acta Amazonica**, v. 12, n. 2, p. 323–326, 1982.
- ALVES JÚNIOR, J. R. F. et al. Biometria de neonatos de tartaruga-da-Amazônia *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) (Testudines, Podocnemididae) oriundos de ninhos translocados. **Publicações em medicina veterinária e zootecnia**, v. 4, n. 17, p. 1–8, 2010.
- ANDRADE, P. C. M. **Criação e manejo de quelônios no Amazonas**. Manaus: Provárzea/Ibama, 2008.
- ANDRADE, P. C. M. **Manejo Comunitário de Quelônios – Projeto Pé de Pincha**. Manaus: Graf. Moderna, 2012.
- ANDRADE, P. C. M. **Manejo Comunitário de Quelônios no Médio Rio Amazonas e Juruá**. Manaus: UFAM/UNISOL, 2015.
- ANDRADE, P. C. M. **Projeto Pé-de-pincha : Conservação e Manejo de Quelônios Manual para Gestores Ambientais**. Manaus: UFAM/UNISOL, 2016.
- ANDRADE, P. C. M. et al. Panorama da Quelonicultura no Brasil – uma estratégia para conservação das espécies e geração de renda. **Aquaculture Brasil**, v. 22, p. 41–48, 2021.
- ARAÚJO, M. D. C. R. **Alometria reprodutiva da tartaruga-da-amazônia *Podocnemis expansa* (schweigger, 1812), tracajá *Podocnemis unifilis* (troschel, 1848) e iaçá *Podocnemis sextuberculata* (cornalia, 1849) na praia do jamanduá, médio rio purus no município de canutama, sudoeste do Amazonas**. Dissertação - Universidade Federal do Amazonas. Manaus, p. 100. 2019.
- BLANVILLAIN, G. D.; OWENS, D. W. M.; KUCHLING, G. Hormones and Reproductive Cycles in Turtles. In: NORRIS, D. O.; LOPEZ, K. H. (Eds.). **Hormones and Reproduction of Vertebrates - Volume 3**. [s.l.] Academic Press, 2011. v. 3, p. 277–303.
- BONACH, K. et al. Physical Characteristics of Giant Amazon Turtle (*Podocnemis expansa*) Nests. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 6, n. 2, p. 252–255, 2007.
- BONACH, K.; PIÑA, C. I.; VERDADE, L. M. Allometry of reproduction of *Podocnemis expansa* in Southern Amazon basin. **Amphibia Reptilia**, v. 27, n. 1, p. 55–61, 2006.
- BOWKETT, A. E. Recent captive-breeding proposals and the return of the ark concept to global species conservation. **Conservation Biology**, v. 23, n. 3, p. 773–776, 2009.
- CAMPBELL, T. W. Clinical Pathology of Reptiles. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile Medicine and Surgery**. Missouri: SAUNDERS Elsevier, 2006. p. 490–532.
- CATIQUE, T. S. **Caracterização e influência do substrato de áreas naturais e artificiais de reprodução da tartaruga da amazônia *Podocnemis expansa* e tracajá *Podocnemis unifilis* na amazônia**. Monografia - Universidade Federal do Amazonas, 2011.
- DANTAS FILHO, J. V. et al. Cultivo de quelônios promove conservação e o desenvolvimento social e econômico da Amazônia. **Revista Ciência e Saúde Animal**, v. 2, n. 1, p. 1–31, 2020.
- FACHÍN-TERÁN, A.; VOGT, R. C.; THORBJARNARSON, J. B. Estrutura populacional,

razão sexual e abundância de *Podocnemis sextuberculata* (Testudines, Podocnemididae) na reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Amazonas, Brasil. **Phyllomedusa**, v. 2, n. 1, p. 43–63, 2003.

FELDMAN, M. L. Some options to induce oviposition in turtles. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 6, n. 2, p. 313–320, 2007.

FERRARA, C. R. et al. **Quelônios Amazônicos: Guia de identificação e distribuição**. Manaus: WCS. 2017. 182 p.

FERREIRA JÚNIOR, P. D. Efeitos de Fatores Ambientais na Reprodução de Tartarugas. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 319–334, 2009.

FERREIRA JÚNIOR, P. D.; CASTRO, A. Z.; CASTRO, P. T. A. the Importance of Nidification Environment in the *Podocnemis Expansa* and *Podocnemis Unifilis* Phenotypes (Testudines: Podocnemididae). **South American Journal of Herpetology**, v. 2, n. 1, p. 39–46, 2007.

FERREIRA JÚNIOR, P. D.; CASTRO, P. T. A. Geological control of *Podocnemis expansa* and *Podocnemis unifilis* nesting areas in Javaés River, Bananal Island, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 33, n. 3, p. 445–468, 2003.

FERREIRA, L. K. S. et al. Indicators of water quality in the creation of jurará (*Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1976). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e36996543, 2020.

GARCEZ, J. R. **Comercialização e reprodução da tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) e do tracajá (*Podocnemis unifilis*) em cativeiro no estado do Amazonas**. [s.l.] Universidade Federal do Amazonas, 2009.

GONG, S. P. et al. The chelonian trade in the largest pet market in China: scale, scope and impact on turtle conservation. **Oryx**, v. 43, n. 2, p. 213–216, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS - IBAMA. **Manejo conservacionista e monitoramento populacional de quelônios amazônicos**. Brasília: IBAMA, 2016.

KUCHLING, G. **The Reproductive Biology of the Chelonia**. 1. ed. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1999. v. 38

LIMA, A. C. **Caracterização Socioeconômica e Ambiental da Criação de Quelônios no Estado do Amazonas**. [s.l.] Universidade Federal do Amazonas, 2000.

LUBIANA, A.; FERREIRA JÚNIOR, P. D. Pivotal temperature and sexual dimorphism of *Podocnemis expansa* hatchlings (Testudines: Podocnemididae) from Bananal Island, Brazil. **Zoologia**, v. 26, n. 3, p. 527–533, 2009.

LUSTOSA, A. P. G. **Aspectos reprodutivos da *Podocnemis expansa* (testudines, podocnemididae) na área de proteção ambiental meandros do rio Araguaia**. Dissertação-Instituto Federal de Educação e Tecnolgis Goiano, 2017.

MAGALHÃES, M. S. et al. Embryonic development of the Giant South American River Turtle, *Podocnemis expansa* (Testudines: Podocnemididae). **Zoomorphology**, v. 136, n. 4, p. 523–537, 2017.

MALVASIO, A. et al. 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, Podocnemididae). **Publicações avulsas do Instituto Pau Brasil**, p. 11–25, 2002.

MALVASIO, A. et al. Análise da interferência do manuseio dos ovos no índice de eclosão e no padrão de escutelação do casco e as correlações encontradas entre as medidas das covas, ovos e filhotes em *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) e *P. unifilis* (Troschel, 1848). **Publicações avulsas do Instituto Pau Brasil de História Natural**, v. 8, p. 15–38, 2005.

MALVASIO, A. et al. Morfometria e histologia das gônadas de machos e fêmeas recémeclodidos de *Podocnemis expansa* e *podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae). **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 1, p. 105–112, 2012.

MARTÍNEZ-SILVESTRE, A.; LAVIN, S.; CUENCA, R. La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. **Consulta de difusión veterinária**, v. 200, p. 31–40, 2013.

MENDES, C. F. **Avaliação da qualidade da água e análise de microcistina em pescado de tanques-rede em reservatórios de abastecimento público**. Dissertação - Universidade Estadual da Paraíba, 2013.

MICHALSKI, F. et al. Substrate influences human removal of freshwater turtle nests in the eastern Brazilian Amazon. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 990–1007, 2020.

MIORANDO, P. S.; GIARRIZZO, T.; PEZZUTI, J. C. B. Population structure and allometry of *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae) in a protected area upstream Belo Monte dam in Xingu River, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 4, p. 2067–2079, 2015.

NORRIS, D. O.; LOPEZ, K. H. **Hormones and Reproduction of Vertebrates. Volume 3: Reptiles**. 1. ed. San Diego, CA: Elsevier B.V., 2011.

PANTOJA-LIMA, J. et al. Nest site selection and survival of *Podocnemis* fresh water turtles in low Purus River, Amazon, Brazil. **Revista Colombiana ciencia Animal**, v. 1, n. 1, p. 37–59, 2009.

PANTOJA-LIMA, J. et al. Chain of commercialization of *Podocnemis* spp. turtles (Testudines: Podocnemididae) in the Purus River, Amazon basin, Brazil: Current status and perspectives. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 10, n. 8, p. 1–10, 2014.

PIGNATI, M. T.; PEZZUTI, J. C. B. Alometria reprodutiva de *Podocnemis unifilis* (Testudines: Podocnemididae) na várzea do baixo rio Amazonas, Santarém, Pará, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 102, n. 1, p. 48–55, 2012.

PORTELINHA, T. C. G. et al. Reproductive Allometry of *Podocnemis expansa* (Testudines: Podocnemididae) in Southern Brazilian Amazon. **Journal of Herpetology**, v. 47, n. 2, p. 232–236, 2013.

RODRIGUES, W. DA S. et al. Influência das mudanças climáticas sobre o processo de nidificação de tracajá (*Podocnemis unifilis*), tartaruga (*P. expansa*) e iaçá (*P. sextuberculata*) no médio Amazonas. In: ANDRADE, P. C. M. (Ed.). **Manejo Comunitário de quelônios: Projeto Pé-de-pincha**. Manaus: Graf. Moderna, 2012. p. 541–568.

RUEDA-ALMONACID, J. V. et al. **Las tortugas y los crocodylia de los países andinos Del Trópico: manual para su identificación**. 6. ed. Bogotá, Colômbia: Conservation International, 2007.

- SANTOS, S. et al. Influência da temperatura no comportamento alimentar e interação de filhotes de *Kinosternon scorpioides* em cativeiro. In: **Anais do XI Seminário Anual de Iniciação Científica da UFRA**, 2013.
- STANFORD, C. B. et al. Turtles and Tortoises Are in Trouble. **Current Biology**, v. 30, n. 12, p. R721–R735, 2020.
- TACCHI, M. F. et al. Efeito da granulometria da areia no sucesso de eclosão de ovos da tartaruga marinha *Caretta caretta*. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 14, n. 1, p. 43–54, 2019.
- TOMILLO, P. S. et al. The impacts of extreme El Niño events on sea turtle nesting populations. **Climatic Change**, v. 159, n. 2, p. 163–176, 2020.
- URL, S.; WHITAKER, Z.; VALENZUELA, N. Maternal Effects on Life-History Traits in the Amazonian Giant River Turtle *Podocnemis expansa*. **Journal of Herpetology**, v. 35, n. 3, p. 368–378, 2001.
- VALENZUELA, N.; BOTERO, R.; MARTÍNEZ, E. Field study of sex determination in *Podocnemis expansa* from Colombian Amazonia. **Herpetologica**, v. 53, n. 3, p. 390–398, 1997.
- VOGT, R. C. **Tartarugas da Amazônia**. Lima, Peru. 2008.
- YNTEMA, C. L.; MROSOSKY, N. Incubation temperature and sex ratio in hatchling loggerhead turtles: a preliminary report. **Marine Turtle Newsletter**, n. 11, p. 9–10, 1979.
- YOUNG-VALENCIA, K.; ORTEGA-GUIO, A.; BOTERO-BOTERO, Á. Influencia de las variables de hábitat sobre la presencia de la tortuga pímpano (*Chelydra acutirostris*, Peters 1862) (Chelydridae) en las quebradas Cajones y los Coclí, Quindío, Colombia. **Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA**, v. 9, n. 1, p. 6, 2017.

ANEXO 1

Tabela 2.9 - Resultados das determinações da DBO, leitura dos valores de pH e temperatura da água do tanque de matrizes de *P. expansa* durante as coletas acasalamento (maio), assoalhamento (agosto), desova (outubro/novembro), vitelogênese (março) de 2019/2020.

Variáveis	Período Reprodutivo			
	Vitelogênese	Acasalamento	Assoalhamento	Desova
pH	7,46	5,97	8,2	7,35
DBO (mg/L)	4,4	7,6	0,2	1,3
Temperatura da água (°C)	31,6	28,5	32,5	25,7

Tabela 2.10 -Valores de temperaturas da praia e do tanque das matrizes de *P. expansa* no criador Bicho do Rio em 2019 e 2020.

Média de temperatura em °C						
Ano	Local	Período de dias	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo
2019	praia	20/11 á 13/03	30,07	7,47	51,85	21,46
2020	praia	07/10 á 28/12	29,09	6,67	49,28	20,84
	água	07/10 á 28/12	30,26	1,72	33,99	24,90

ANEXO 2

Tabela 2.11 - Sumário de medidas biométricas (cm) de fêmeas e machos adultos de *P. expansa*: comprimento retilíneo de carapaça (CRC), largura retilínea de carapaça (LRC), comprimento retilíneo do plastrão (CRP), largura retilínea do plastrão (LRP), altura (H), peso (kg) e idade (anos) em criador comercial Bicho do Rio, Iranduba/AM ao longo do período reprodutivo.

Sexo	CRC	LRC	CRP	LRP	H	Peso	Idade
<i>Vitelogênese (março)</i>							
FÊMEA	N=20						
Média	67,44	46,96	55,15	34,21	20,50	34,63	21
DP	4,43	7,63	3,55	5,54	2,05	6,17	2,81
Máximo	78	58	78,5	60	40,5	45	28
Mínimo	51	19	43,3	20,2	13	16,5	18
MACHO	N=20						
Média	37,39	30,60	29,60	21,92	13,62	7,84	13,63
DP	5,35	2,65	3,59	3,08	1,85	1,77	1,99
Máximo	43,2	33,6	39,2	28,6	17,3	9	16
Mínimo	27,1	23,5	21,3	14,3	10,6	3,5	10
<i>Acasalamento (maio)</i>							
FÊMEA	N=20						
Média	67,44	46,96	55,15	34,21	20,50	34,63	21
DP	4,43	7,63	3,55	5,54	2,05	6,17	2,81
Máximo	73,5	54	60	40,3	24	43	28
Mínimo	52,9	19	45	20,2	15,9	16,5	18
MACHO	N=20						
Média	37,75	28,62	27,94	14,58	11,43	6,25	15,55
DP	3,78	3,08	2,32	2,96	1,31	1,65	1,82
Máximo	44	33,5	32	20	14	8,8	18
Mínimo	32	23,2	24,5	11	9	3,7	13
<i>Assoalhamento (agosto)</i>							
FÊMEA	N=21						
Média	66,35	48,65	55,07	37,41	20,17	32,50	20,3
DP	8,97	6,66	7,41	5,79	2,72	5,89	2,72
Máximo	78	54	67	43,8	24	45	25
Mínimo	30,6	22,3	25,9	17,5	10,1	25	13
MACHO	N=20						
Média	37,29	28,30	27,72	21,13	11,65	5,61	14,16
DP	5,76	4,65	5,10	3,15	2,31	2,36	3,04
Máximo	47,8	37,5	39,5	28,8	16,3	12	19
Mínimo	27,1	20,5	20,8	16	8,6	2	7
<i>Desova (outubro-novembro)</i>							
FÊMEA	N=26						
Média	66,38	47,81	54,33	37,99	19,13	31,39	18,35
DP	4,35	4,52	3,44	5,52	2,62	6,17	2,98
Máximo	74,30	57,70	60,00	60,00	24,50	44,00	24
Mínimo	57,60	41,00	47,00	30,58	13,00	19,40	13
MACHO	N=20						
Média	37,13	26,51	26,56	19,54	11,50	5,58	13,42
DP	4,82	3,56	2,86	2,48	1,49	1,82	2,27
Máximo	49,00	36,00	32,00	26,30	14,10	8,00	17
Mínimo	30,00	21,20	21,40	15,00	8,00	3,06	8

ANEXO 3

Tabela 2.12 - Análise de todas as variáveis testadas com correlação de Pearson significativa. Filh. =filhote

Correlação de Pearson	P=
CRC X LRP	0,001
CRC X LRC	0,018
CRC X Altura	0,009
CRC X Distância da água	0,006
CRC X Largura da pata	0,009
CRC X Largura entre patas	0,003
CRC X Tempo de incubação	0,004
LRC X LRP	0,03
LRC X Peso	0,046
LRC X Distância da água	0,024
LRC X Tempo de incubação	0,004
LRC X Comprimento filh.	0,011
CRP X Distância da água	0,027
CRP X Tempo de incubação	0,02
CRP X Comprimento filh.	0,013
LRP X N° de ovos	0,001
LRP X Largura da pata	0,029
LRP X Massa total desova	0,017
LRP X Tempo de incubação	0,014
LRP X Comprimento filh.	0,027
Altura X Largura da pata	0,00
Altura X Largura entre patas	0,00
Peso X N° de ovos	0,023
Idade X Altura	0,045
Distância da água X Altura	0,024
Distância da água X Distância da vegetação	0,017
Distância da água X Largura do ninho	0,023
Distância da água X Largura da pata	0,17
Distância da água X Largura entre patas	0,002
Distância da água X Comprimento filh.	0,039
Distância da água X Largura filh.	0,018
Distância da água X Tempo de incubação	0,002
N° de ovos X Comprimento filh.	0,011
N° de ovos X Largura filh.	0,05
Largura do ninho X Largura da pata	0,047
Largura do ninho X Largura entre patas	0,043
Profundidade 1° ovo X Profundidade total ninho	0,005
Profundidade 1° ovo X Peso do ovo	0,032
Tamanho do ovo X Peso do ovo	0,042
Tempo de incubação X Largura entre patas	0,026
Tempo de incubação X Comprimento filh.	0,015
Tempo de incubação X Largura filh.	0,048
Comprimento filh. X N° de ovos	0,011
Comprimento filh. X Largura filh.	0,012

ANEXO 4

Tabela 2.13 - Valores de r, com teste de correlação pelo método de Pearson entre medidas das fêmeas e dos ninhos de *P. expansa* em cativeiro, Iranduba/AM.

	CRC	LRC	CRP	LRP	Altura	Peso	Idade	Nº de Ovos	Dist. da água	Dist. Veget.	Largura do ninho	Profund. do 1º ovo	Profund. total do ninho	Largura da pata	Largura entre patas	Tamanho médio dos ovos	Peso ovos	Massa total
CRC		0,722	0,514	0,872	-0,771	0,509	-0,196	0,602	-0,799	-0,579	-0,575	0,291	0,450	0,779	0,834	-0,611	-0,470	0,499
LRC	0,722		0,730	0,682	-0,632	0,640	0,081	0,627	-0,700	-0,416	-0,218	-0,010	0,125	0,569	0,593	-0,541	-0,141	0,563
CRP	0,514	0,730		0,512	-0,597	0,174	-0,092	0,443	-0,690	-0,594	-0,264	-0,445	-0,369	0,616	0,545	-0,304	0,077	0,449
LRP	0,872	0,682	0,512		-0,598	0,539	-0,123	0,799	-0,627	-0,473	-0,505	0,154	0,379	0,683	0,548	-0,593	-0,246	0,730
Altura	-0,771	-0,632	-0,597	-0,598		-0,111	0,644	-0,255	0,701	0,387	0,592	-0,118	0,055	-0,919	-0,901	0,326	0,345	-0,178
Peso	0,509	0,640	0,174	0,539	-0,111		0,521	0,706	-0,447	-0,261	-0,147	0,078	0,484	0,255	0,241	-0,606	-0,188	0,622
Idade	-0,196	0,081	-0,092	-0,123	0,644	0,521		0,352	0,035	-0,188	0,394	-0,268	0,215	-0,537	-0,440	-0,003	0,353	0,392
Nº de Ovos	0,602	0,627	0,443	0,799	-0,255	0,706	0,352		-0,625	-0,509	-0,370	-0,265	0,197	0,414	0,292	-0,445	0,191	0,986
Distância da água	-0,799	-0,700	-0,690	-0,627	0,701	-0,447	0,035	-0,625		0,728	0,705	0,181	-0,066	-0,729	-0,848	0,468	0,083	-0,579
Distância da vegetação	-0,579	-0,416	-0,594	-0,473	0,387	-0,261	-0,188	-0,509	0,728		0,460	0,290	-0,039	-0,481	-0,475	-0,035	-0,204	-0,525
Largura do ninho (cm)	-0,575	-0,218	-0,264	-0,505	0,592	-0,147	0,394	-0,370	0,705	0,460		-0,067	-0,156	-0,637	-0,647	0,283	0,057	-0,336
Profundidade do 1º ovo	0,291	-0,010	-0,445	0,154	-0,118	0,078	-0,268	-0,265	0,181	0,290	-0,067		0,808	-0,056	0,115	-0,272	-0,676	-0,372
Total do ninho	0,450	0,125	-0,369	0,379	0,055	0,484	0,215	0,197	-0,066	-0,039	-0,156	0,808		-0,088	0,093	-0,430	-0,517	0,098
Largura da pata	0,779	0,569	0,616	0,683	-0,919	0,255	-0,537	0,414	-0,729	-0,481	-0,637	-0,056	-0,088		0,863	-0,400	-0,331	0,337
Largura entre patas	0,834	0,593	0,545	0,548	-0,901	0,241	-0,440	0,292	-0,848	-0,475	-0,647	0,115	0,093	0,863		-0,500	-0,473	0,196
Tam. ovos	-0,611	-0,541	-0,304	-0,593	0,326	-0,606	-0,003	-0,445	0,468	-0,035	0,283	-0,272	-0,430	-0,400	-0,500		0,649	-0,325
Peso ovos	-0,470	-0,141	0,077	-0,246	0,345	-0,188	0,353	0,191	0,083	-0,204	0,057	-0,676	-0,517	-0,331	-0,473	0,649		0,341
Massa total da desova	0,499	0,563	0,449	0,730	-0,178	0,622	0,392	0,986	-0,579	-0,525	-0,336	-0,372	0,098	0,337	0,196	-0,325	0,341	

ANEXO 5

Tabela 2.14 – Valores de r, com teste de correlação pelo método de Pearson entre de fêmeas de *P. expansa* e período de incubação e tamanho de filhotes.

	CRC	LRC	CRP	LRP	Altura (cm)	Peso	Idade	Nº de Ovos	Filhotes totais	Nº de Ovos gorados	Filhotes natimortos	Tempo de incub. (dias)	Taxa de eclosão %	CRC Filhote	LRC Filhote	Peso Filhote
CRC		0,635	0,538	0,750	-0,572	0,467	-0,114	0,592	-0,111	0,429	0,257	-0,755	-0,249	0,327	0,257	-0,158
LRC	0,635		0,731	0,675	-0,530	0,522	0,157	0,711	0,060	0,362	0,339	-0,777	-0,122	0,203	-0,128	-0,036
CRP	0,538	0,731		0,543	-0,452	0,260	0,026	0,530	-0,005	0,314	0,176	-0,675	-0,100	0,382	0,227	0,168
LRP	0,750	0,675	0,543		-0,203	0,577	0,209	0,752	0,138	0,378	0,311	-0,556	-0,078	0,244	-0,029	-0,220
Altura	-0,572	-0,530	-0,452	-0,203		0,054	0,652	-0,338	0,392	-0,426	-0,078	0,673	0,437	-0,083	0,013	-0,131
Peso	0,467	0,522	0,260	0,577	0,054		0,539	0,641	-0,144	0,492	0,350	-0,267	-0,273	0,095	0,063	-0,190
Idade	-0,114	0,157	0,026	0,209	0,652	0,539		0,328	0,297	-0,002	0,387	0,130	0,205	-0,060	-0,008	-0,393
Nº de Ovos	0,592	0,711	0,530	0,752	-0,338	0,641	0,328		-0,278	0,777	0,412	-0,595	-0,496	0,209	0,055	-0,157
Filhotes totais	-0,111	0,060	-0,005	0,138	0,392	-0,144	0,297	-0,278		-0,811	-0,042	0,042	0,965	0,072	-0,115	-0,239
Nº de Ovos gorados	0,429	0,362	0,314	0,378	-0,426	0,492	-0,002	0,777	-0,811		0,189	-0,371	-0,918	0,150	0,166	0,103
Filhotes natimortos	0,257	0,339	0,176	0,311	-0,078	0,350	0,387	0,412	-0,042	0,189		-0,145	-0,133	-0,556	-0,443	-0,556
Tempo de incub.	-0,755	-0,777	-0,675	-0,556	0,673	-0,267	0,130	-0,595	0,042	-0,371	-0,145		0,207	-0,371	-0,234	0,007
Taxa de eclosão %	-0,249	-0,122	-0,100	-0,078	0,437	-0,273	0,205	-0,496	0,965	-0,918	-0,133	0,207		0,028	-0,084	-0,174
Comprimento filhote	0,327	0,203	0,382	0,244	-0,083	0,095	-0,060	0,209	0,072	0,150	-0,556	-0,371	0,028		0,806	0,638
Largura Filhote	0,257	-0,128	0,227	-0,029	0,013	0,063	-0,008	0,055	-0,115	0,166	-0,443	-0,234	-0,084	0,806		0,421
Peso Filhote	-0,158	-0,036	0,168	-0,220	-0,131	-0,190	-0,393	-0,157	-0,239	0,103	-0,556	0,007	-0,174	0,638	0,421	

ANEXO 6

Tabela 2.15 – Valores de r, com teste de correlação pelo método de Pearson entre medidas dos ovos transplantados, informações do período de incubação e biometria dos filhotes.

	Nº de Ovos	Nº de ovos transplantados	Tamanho médio dos ovos	Peso médio dos ovos	Massa total da desova	Filhotes totais	Nº de Ovos gorados	Filhotes natimortos	Tempo de incubação	Taxa de eclosão %	Comprimento do filhote	Largura Filhote	Peso Filhote
Nº de Ovos		0,998	-0,360	0,256	0,986	-0,306	0,831	-0,223	-0,611	-0,538	0,720	0,658	0,036
Nº de ovos transplantados	0,998		-0,369	0,237	0,983	-0,286	0,820	-0,216	-0,607	-0,520	0,722	0,653	0,017
Tamanho médio dos ovos	-0,360	-0,369		0,675	-0,230	0,365	-0,454	-0,047	0,507	0,440	-0,173	0,038	-0,032
Peso médio dos ovos	0,256	0,237	0,675		0,406	0,060	0,123	-0,240	0,080	-0,006	0,323	0,474	0,215
Massa total da desova	0,986	0,983	-0,230	0,406		-0,272	0,803	-0,284	-0,565	-0,501	0,735	0,709	0,052
Filhotes totais	-0,306	-0,286	0,365	0,060	-0,272		-0,782	0,038	-0,153	0,959	0,139	0,138	-0,237
Nº de Ovos gorados	0,831	0,820	-0,454	0,123	0,803	-0,782		-0,190	-0,304	-0,909	0,392	0,345	0,158
Filhotes natimortos	-0,223	-0,216	-0,047	-0,240	-0,284	0,038	-0,190		0,178	0,060	-0,377	-0,256	-0,224
Tempo de incub.	-0,611	-0,607	0,507	0,080	-0,565	-0,153	-0,304	0,178		0,067	-0,691	-0,664	0,004
Taxa de eclosão %	-0,538	-0,520	0,440	-0,006	-0,501	0,959	-0,909	0,060	0,067		-0,050	-0,043	-0,193
Comprimento do filhote	0,720	0,722	-0,173	0,323	0,735	0,139	0,392	-0,377	-0,691	-0,050		0,697	0,429
Largura Filhote	0,658	0,653	0,038	0,474	0,709	0,138	0,345	-0,256	-0,664	-0,043	0,697		-0,120
Peso Filhote	0,036	0,017	-0,032	0,215	0,052	-0,237	0,158	-0,224	0,004	-0,193	0,429	-0,120	

ANEXO 7

Tabela 2.16 - Estatística descritiva de fêmeas e filhotes de *P. expansa* avaliados nas análises alométricas

Variável	N	Média	DesvPad	Mínimo	Máximo
<i>CRC (cm)</i>	15	69,8	4,95	63	78
<i>LRC (cm)</i>	15	50,13	4,67	41	57
<i>CRP (cm)</i>	15	55,73	3,39	48	60
<i>LRP (cm)</i>	15	39,4	2,90	34	44
<i>Altura (cm)</i>	15	17,467	2,39	13	22
<i>Peso (Kg)</i>	15	32,36	3,79	25,75	37,39
<i>Idade (anos)</i>	15	16,57	2,34	13	21
<i>Nº de Ovos</i>	15	107,87	20,31	77	148
<i>Distância da água (m)</i>	15	16,8	6,73	5	25
<i>Distância da vegetação (m)</i>	15	13,53	2,9	10	19
<i>Largura do ninho (cm)</i>	15	17,67	2,94	13	24
<i>Profundidade 1º OVO (cm)</i>	15	40,73	10,09	22	63
<i>Profundidade total cova (cm)</i>	15	55,07	12,18	40	86
<i>Largura da pata (cm)</i>	15	14,27	2,52	11	20
<i>Largura entre patas (cm)</i>	15	26	3,09	22	30
<i>Tamanho dos ovos (cm)</i>	15	38,02	1,33	36,8	40,4
<i>Peso médio dos ovos (g)</i>	15	34,53	1,26	32,78	35,94
<i>Massa total da desova (g)</i>	15	3591	770	2717	5319
<i>Filhotes totais</i>	15	35,93	19,83	0	72
<i>Nº de Ovos gorados</i>	15	67,8	29,5	21	116
<i>Filhotes natimortos</i>	15	1,27	3,06	0	12
<i>Tempo de incub. (dias)</i>	15	61,47	0,743	60	63
<i>Taxa de eclosão (%)</i>	15	35,86	21,97	0	77,42
<i>Comprimento filhote</i>	15	46,16	1,92	42,8	49,6
<i>Largura Filhote</i>	15	42,133	2,338	37,4	46,8
<i>Peso Filhote</i>	15	22,085	1,309	20,17	24,5

Capítulo 3 Fisiologia reprodutiva no plantel de matrizes e reprodutores de *Podocnemis expansa*: testosterona, estradiol e bioquímica plasmática

Resumo

Os eventos reprodutivos ao longo de um ciclo anual são acompanhados de variações nos níveis de hormônios esteroides gonadais e, conseqüentemente provocam profundas mudanças nos parâmetros bioquímicos do sangue. A análise de sangue tem se mostrado uma ferramenta pouco-invasiva usada para compreender a fisiologia da reprodução de quelônios. Contudo, pouco aplicada nos estudos com quelônios aquáticos da Amazônia. O objetivo deste trabalho consiste em relacionar os níveis de hormônios esteroides gonadais circulantes e perfil bioquímico do plasma com os eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) de *Podocnemis expansa* Schweigger (1812) criadas em cativeiro. Para isso, foram coletadas 167 amostras de sangue durante o período estudado (maio, outubro/novembro de 2019 e março e agosto de 2020). Destas, 87 são fêmeas e 80 são machos com idades e tamanhos homogêneos dentro de cada sexo. Foram realizadas análises hormonais de testosterona e estradiol, pela técnica ELISA. Os teores de proteínas totais, cálcio, colesterol, triglicerídeos, glicose, sódio e potássio também foram analisados nas mesmas amostras. Para os teores hormonais, o estradiol variou em fêmeas, assim também houve variações significativas ao longo dos estados reprodutivos em machos, com maiores médias na fase de vitelogênese. Não houve diferenças significativas entre os teores de testosterona em ambos os sexos. Dentre os parâmetros bioquímicos, os teores de colesterol e triglicerídeos, em fêmeas, tiveram suas maiores médias entre as fases vitelogênica e acasalamento, apresentando variações ao longo do ciclo reprodutivo. Enquanto que nos machos, apenas houve variações para triglicerídeos, com aumento na fase de desova. Os valores encontrados para de glicose para fêmeas também variam ao longo dos estados reprodutivos. A fase de assoalhamento mostra uma queda nos teores, indicando que estes animais possam se manter de jejum. Como também há variação para os reprodutores, em vista que há um aumento no estado de vitelogênese. Houve também alterações significativas ao longo do período do ciclo reprodutivo, nos níveis de proteína total em fêmeas e machos. Que de maneira semelhante apresentaram maiores teores na fase da

desova em ambos os sexos. Diferenças significativas nos níveis de cálcio em fêmeas não foram observadas, em contraste com os resultados encontrados para machos, que apresentaram variações, tendo menores níveis de assoalhamento. Alterações nos níveis de sódio foram encontradas em fêmeas durante as diferentes etapas do ciclo reprodutivo, visto que há níveis elevados na fase de vitelogênese e uma redução no assoalhamento. Posto que, nos machos, ocorrem também variações conforme o estado reprodutivo, mas a redução acontece na vitelogênese. Os níveis de lipídios circulantes estão significativamente associados positivamente à relação E2:T em fêmeas. Visto que poderão subsidiar outros estudos com fins de indução de desova e melhor gestão de manejo em cativeiro.

Palavras-chave: quelônios; esteroides; ciclo reprodutivo; reprodução; perfil bioquímico

Abstract

Reproductive events throughout an annual cycle are accompanied by variations in the levels of gonadal steroid hormones and, consequently, cause profound changes in the biochemical parameters of the blood. Blood analysis has been shown to be a minimally invasive tool used to understand the physiology of turtle reproduction. However, little applied in studies with aquatic turtles in the Amazon. The objective of this work is to relate the levels of circulating gonadal steroid hormones and plasma biochemical profile with the reproductive events (vitellogenesis, mating, sunbathe and spawning) of *Podocnemis expansa* Schweigger (1812) raised in captivity. For this, 167 blood samples were collected during the study period (May, October/November 2019 and March and August 2020). Of these, 87 are females and 80 are males with homogeneous ages and sizes within each sex. Hormonal analyzes of testosterone and estradiol were performed using the ELISA technique. The samples were also subjected to analysis to verify the levels of total protein, calcium, cholesterol, triglycerides, glucose, sodium and potassium. For hormone levels, estradiol varied in females, and there were also significant variations along the reproductive stages in males, with higher averages in the vitellogenesis phase. There were no significant differences between testosterone levels in either sex. Among the biochemical parameters, the levels of cholesterol and triglycerides, in females, had their highest averages between the vitellogenic and mating phases, showing variations

throughout the reproductive cycle. While in males, there were only variations for triglycerides, with an increase in the spawning phase. The values found for glucose for females also vary along the reproductive states. The sunbathe phase shows a drop in contents, indicating that these animals can keep fasting. As there is also variation for the male, as there is an increase in the vitellogenic state. There were also significant changes over the period of the reproductive cycle in total protein levels in females and males. That similarly showed higher levels in the spawning phase in both sexes. Significant differences in calcium levels in females were not observed, in contrast to the results found for males, which showed variations, having lower sunbathe levels. Changes in sodium levels were found in females during different stages of the reproductive cycle, as there are high levels in the vitellogenic phase and a reduction in sunbathe. Since, in males, variations also occur depending on the reproductive state, but the reduction occurs in vitellogenesis. Circulating lipid levels are significantly positively associated with the E2:T ratio in females. Since they can support other studies with the purpose of inducing spawning and better management of management in captivity.

Keywords: turtles; steroids; reproductive cycle; reproduction; biochemical profile

3.1 INTRODUÇÃO

A tartaruga-da-amazônia adulta passa a maior parte da vida no ambiente aquático, dispersas pelos rios e lagos amazônicos, o que as torna logisticamente e financeiramente difíceis de estudá-las (IBAMA, 2016). Como base, quase tudo que sabemos sobre comportamento reprodutivo das tartarugas adultas foi aprendido a partir do curto espaço de tempo em que as fêmeas saem para desovar (ECKERT et al., 1999).

Os resultados obtidos em estudos sobre estados reprodutivos de tartarugas amazônicas são semelhantes às mesmas condições observadas para tartarugas marinhas. Enquanto que a reprodução de tartarugas marinhas é direcionada para ocorrer durante os períodos do ano que são mais propícios (temperaturas altas) à sobrevivência adultos e filhotes (KUCHLING, 1999; LUTZ; MUSICK, 1997; OWENS, 1997), a reprodução de quelônios amazônicos está intimamente associada ao ciclo hidrológico anual, que varia conforme a localidade na bacia Amazônica (ALHO; PÁDUA, 1982; ANDRADE, 2008). Quando inicia o período da seca, ocorrendo a exposição dos primeiros bancos de areia, os animais migram para canais principais em busca dos sítios de nidificação (FERRARA et al., 2017).

O acasalamento ocorre dentro da água, assim como em animais marinhos, com uma série de comportamentos padrões entre corte e cópula (ANDRADE, 2008; GARCEZ, 2009; OWENS, 1997). Um mês antes da desova, os animais agrupam-se em frente as praias de nidificação e os animais saem da água para tomar banho de sol, o que aumenta sua taxa metabólica e acelerando a vitelogênese (ANDRADE, 2008; FERRARA et al., 2017; RUEDA-ALMONACID et al., 2007; VOGT, 2008). O comportamento de nidificação é estereotipado ao qual andam pela praia em busca de um local adequado para postura, podendo durar de 90 minutos a 240 minutos aproximadamente, ocorrendo geralmente à noite e, ocasionalmente pela manhã ou de tarde (ANDRADE, 2008, 2016). Após a postura, as fêmeas continuam agregadas em frente à praia aguardando o nascimento dos filhotes. Quando termina o nascimento, adultos, jovens e filhotes podem migrar juntos para a floresta alagada em busca de proteção e alimentação (FERRARA et al., 2017; IBAMA, 2016).

Estudos em animais em cativeiros proporcionam uma melhor compreensão do comportamento reprodutivo. O confinamento facilita a obtenção de dados e permite ao pesquisador organizar um delineamento experimental visando obter uma melhor compreensão da fisiologia básica do animal em estudo (OWENS, 1997). Dados básicos

para obtenção de informações o ciclo reprodutivo em quelônios podem ser obtidos por meio de ultrassonografia, laparoscopia e a análise de hormônios reprodutivos no sangue (BLANVILLAIN; OWENS; KUCHLING, 2011).

Até o momento, pelo que sabemos, nenhuma destas técnicas foi utilizada para compreender o ciclo reprodutivo de tartarugas amazônicas. Neste trabalho, será utilizada análises dos hormônios esteroides do sangue de adultos reprodutores de *Podocnemis expansa* Schweigger (1812) criados em cativeiro ao longo de um ciclo reprodutivo. Este estudo, baseia-se no comportamento estereotipado de animais criados em cativeiros, que aparentemente sincronizam seus eventos reprodutivos com aqueles animais de vida livre. A maioria dos estudos que avaliam o perfil hormonal ao longo do ciclo reprodutivo foi feito com tartarugas marinhas. Como estudos para *Chelonia mydas*, *Caretta caretta*, *Eretmochelys imbricata*, *Dermochelys coriacea* e *Lepidochelys kempfi* (HAMANN et al., 2005; HECK et al., 1997; JESSOP et al., 2004; MAHMOUD et al., 2011; ROSTAL et al., 1998, 2001; SÖZBILEN; KASKA, 2018; VALENTE et al., 2011). Estudos com tartarugas de água doce foram realizados com aquelas de regiões temperadas para tartaruga-pintada (*Chrysemys picta*), terrapim (*Batagur borneoensis*), tartaruga-almiscarada (*Sternotherus odoratus*) e tartaruga-mordedora (*Chelydra serpentina*) (FELDMAN, 2007; KOLANDAIVELOO et al., 2020; LICHT; KHORRAMI-YAGHOobi; LICHT, 1985; POLICH, 2018; SCHROEDER; RHEN, 2019) e de espécie australiana *Natator depressus* (tartaruga-marinha-australiana) (IKONOMOPOULOU et al., 2014). Poucos estudos foram realizados com espécies de tartarugas amazônicas, como no muçua (*Kinosternon scorpioides*) e tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) (FRENEAU et al., 2017; VIANA et al., 2014).

Os hormônios esteroides têm sido amplamente utilizados para compreender os eventos reprodutivos dos vertebrados. Os principais esteroides gonadais estudados são: testosterona (T) e β -estradiol (E_2) (NORRIS; LOPEZ, 2011). O andrógeno, em machos, é responsável pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias e comportamentos de cortejo e acasalamento (BLANVILLAIN; OWENS; KUCHLING, 2011). O estrogênio é relatado como um esteroide ovariano que atua no desenvolvimento folicular, controlando a vitelogênese. Durante as atividades reprodutivas de quelônios, os indivíduos apresentam mudanças metabólicas significativas coordenadas por flutuações sazonais de níveis hormonais plasmáticos (KUCHLING, 1999).

É necessário metabolizar grandes níveis de energia para atividades de migração e acasalamento, o que pode ser em machos antecedido por altos teores de T (ROSTAL et

al., 1998). As concentrações de glicose no sangue são reguladas por um delicado equilíbrio de mecanismos envolvendo hormônios, captação de glicose e oxidação (KUNZE et al., 2020). O sódio (Na^+), quando em níveis decrescentes, atua na atividade migratória e na mobilização espermática em alguns répteis (BLANVILLAIN; OWENS; KUCHLING, 2011; RAI; HAIDER, 1991). Nas fêmeas, quando há aumento nos níveis de E_2 ocorre a mobilização de vitelogenina (proteína da gema do ovo), aumento do peso oviducal e elevação da proteína sérica circulante e níveis de cálcio (produção e qualidade da casca) (NORRIS; LOPEZ, 2011). Assim também, há crescimento na concentração colesterol, triglicerídeos e fosfolípidios, tanto no tecido adiposo quanto plasmático de fêmeas, que podem ser encontrados até mesmo no vitelo, aos quais contribuirão como suprimento de energia para embrião (DUGGAN; CALLARD, 2003; TADA et al., 2007). Durante a fase da desova, altas concentrações lipídicas são essenciais para que o processo ocorra dentro da normalidade e, portanto, possibilite um desempenho reprodutivo satisfatório às fêmeas (ARAÚJO et al., 2015). Assim como a química do sangue funciona para íons ou açúcares, tais quais podem indicar o estado de saúde de um animal, os níveis específicos de certos hormônios na circulação também podem fornecer pistas sobre o status reprodutivo ou comportamental preciso do indivíduo (KUCHLING, 1999; NORRIS; LOPEZ, 2011; SÖZBILEN; KASKA, 2018).

3.2 JUSTIFICATIVA

Levando-se em conta que, para tartarugas amazônicas o ciclo hidrológico (seca, enchente, vazante) na natureza afeta diretamente seu período reprodutivo. Vários autores recomendam que os perfis dos hormônios esteroides de cada espécie sejam previamente estudados, devido a variações espécie-específicas (BLANVILLAIN; OWENS; KUCHLING, 2011; ECKERT et al., 1999; KUCHLING, 1999). Amostras sanguíneas podem ser facilmente obtidas e são de grande importância para diversos diagnósticos (PERPIÑÁN, 2017). Tais amostras de plasma, podem ser utilizadas em análises bioquímicas que constituem uma relevante técnica com finalidade de se obter informações das condições gerais dos animais e auxiliar no diagnóstico de doenças (WYNEKEN; GODFREY; BELS, 2007).

Devido a relevância que a tartaruga-da-amazônia tem para o mercado, dados que possam auxiliar na criação e reprodução em cativeiro, com fins comerciais ou até mesmo para repovoamento de populações de vida livre são fundamentais para decisão de gestão (SANTOS et al., 2005). Quando bem interpretados, resultados do perfil hormonal e bioquímicos implicam na utilização de valores referenciais específicos a espécie, condições de manejo, alimentação propiciada, situação demográfica, estágio de vida (BLOODGOOD et al., 2019). Outro fator a considerar é que parâmetros como dieta, sexo, idade, habitat, condição corpórea e até mesmo a época da coleta podem ser influenciados por variações sazonais (CAMPBELL, 2006). Harden et al. (2018), em seu estudo determinam valores bioquímicos sanguíneos e sazonais para *Terrapene ornata* durante sua estação reprodutiva verificando diferenças individuais nos valores bioquímicos do sangue impulsionados pela temperatura da carapaça.

A motivação para a realização do trabalho consiste na carência de informações sobre parâmetros reprodutivos a respeito da espécie contemplada na pesquisa. Os avanços da tecnologia de manejo reprodutivo de tartarugas em cativeiro, permitirá uma maior produção de ovos e filhotes. Assim, possibilitando a apresentação de um pacote tecnológico completo sobre a reprodução deste animal em cativeiro aos quelonicultores do estado.

3.3 HIPÓTESES

H0: O perfil de hormônios reprodutivos não está associado aos eventos reprodutivos (vitelogenese, acasalamento, assoalhamento e desova) de matrizes (machos e fêmeas) de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro;

H1: O perfil de hormônios reprodutivos está associado aos eventos reprodutivos (vitelogenese, acasalamento, assoalhamento e desova) de matrizes (machos e fêmeas) de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro;

H0: Os hormônios reprodutivos não influenciam no perfil bioquímico de matrizes (machos e fêmeas) de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro ao longo do ciclo reprodutivo;

H1: Os hormônios reprodutivos influenciam no perfil bioquímico de matrizes (machos e fêmeas) de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-Amazônia) criadas em cativeiro ao longo do ciclo reprodutivo.

3.4 OBJETIVOS

3.4.1 Objetivo geral

Relacionar os níveis de hormônios esteroides gonadais circulantes e perfil bioquímico do plasma com os eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) de *Podocnemis expansa* Schweigger (1812) criadas em cativeiro.

3.4.2 Objetivos específicos

-Quantificar, avaliar e relacionar os níveis de testosterona (T) e β -estradiol (E2) com os principais eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) do plantel de reprodutores fêmeas e machos de tartarugas-da-Amazônia criadas em cativeiro;

- Quantificar, avaliar e relacionar a concentração dos principais parâmetros bioquímicos do plasma (colesterol, triglicerídeos, glicose, proteína total, cálcio, sódio e potássio) com os principais eventos reprodutivos (vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova) do plantel de reprodutores fêmeas e machos de tartarugas-da-Amazônia criadas em cativeiro;

-Verificar se os hormônios esteroides (testosterona, β -estradiol e a razão E2:T) influenciam na mobilização de lipídios (triglicerídeos e colesterol) ao longo dos principais eventos reprodutivos: vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova do plantel de reprodutores fêmeas e machos de tartarugas-da-Amazônia criadas em cativeiro;

3.5 MATERIAL E MÉTODOS

3.5.1 Área de estudo

As coletas das amostras foram realizadas na Fazenda Agropecuária Nossa Senhora Aparecida (Bicho do Rio) (3°11'11"S 60°17'50"O), de propriedade do Sr. José Silva de Vasconcelos, localizada à Rodovia Manoel Urbano, Am-070, Km 26, ramal 2.5 - Pico Belo Vista, no município de Iranduba/AM. O tanque da propriedade é tipo barragem com uma área de 1500 m² de praia. A área de lâmina d'água de 5200 m² e altura da praia é de 3,4 m. A fonte hídrica que alimenta o cultivo é decorrente de um igarapé perene com vazão de 3,5 l/s que nasce na propriedade vizinha e cruza toda propriedade de norte a sul. Água é renovada periodicamente, esvaziando-se parcialmente o tanque, através de monges ou canos cotovelos instalados nos tanques (Figura 1). A densidade total do cultivo é de 0,08 animais/ m².

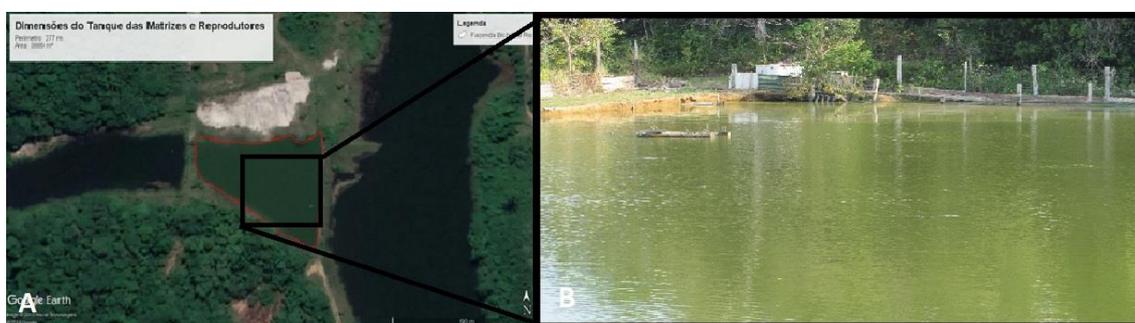


Figura 1 - Localização do tanque das matrizes e reprodutores da propriedade "Fazenda Bicho do Rio" via satélite (A). Fonte: <https://www.google.com/maps> e vista local da barragem da propriedade (B). Fonte: Lopes, T. 2020

3.5.2 Animais do experimento

No total, foram coletadas 167 amostras de sangue durante o período estudado (maio, outubro/novembro de 2019 e março e agosto de 2020). Destas, 87 são fêmeas e 80 são machos com idades e tamanhos homogêneos dentro de cada sexo. Em cada período de coleta, foram capturados em torno de 40 indivíduos, sendo 20 de cada sexo (ver tabela 3.1). Em decorrência da situação de Pandemia da doença SARS- COV-2 (COVID-19), não foi possível realização de coletas planejadas no ano de 2020, por isso utilizamos os dados de desova do ano de 2019.

Todos os procedimentos foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso de

Animais, situado na Universidade Federal do Amazonas-UFAM, com autorização de número (064/2019), de acordo com a Lei No.11.794 e possuindo Licença SISBIO nº 19232.

Tabela 3. 1 - Características amostrais: número de amostras (N), peso médio (Kg) e média de idade (anos) obtidas nas coletas realizadas na Fazenda Bicho do Rio, Iranduba/AM, nos anos de 2019 e 2020.

Período de coleta	Fêmea	Macho
Maio/2019 (Acasalamento)		
N	20	20
Peso	34,63±6,25	6,25±1,65
Idade	21±2,81	15,55±1,82
Outubro/2019 (Desova)		
N	12	6
Peso	32,55±3,74	3,74±0,6
Idade	16,73±2,34	12,5±0,84
Novembro/2019 (Desova)		
N	14	14
Peso	31,2±7,84	6,46±1,39
Idade	19,79±2,89	13,85±2,61
Março/2020 (Vitelogênese)		
N	20	20
Peso	29,40±11,3	7,84±1,77
Idade	18,10±5,09	13,63±1,99
Agosto/2020 (Assoalhamento)		
N	21	20
Peso	32,5±5,9	5,61±2,36
Idade	20,3±2,72	14,16±3,04

Os animais estudados foram alocados numa mesma barragem (Figura 2) e submetidos ao mesmo tratamento nutricional, no qual utilizaram-se rações comerciais para peixe, com níveis protéicos em torno de 28%. A alimentação dos animais consistia basicamente em ração extrusada para pescado da marca *Confiança*®, 10 mm de granulometria. Com proporções diárias baseadas em aproximadamente de 1,5 á 3% da biomassa, sendo 50 kg por dia (ver tabela 2.1). O alimento era fornecido uma vez ao dia, por volta das 16h00. Também se utilizaram-se fontes de “produtos de cultura” a “subprodutos” conforme a disponibilidade.



Figura 2 - Matrizes e reprodutores de tartaruga-da-Amazônia no tanque reprodução.
Fonte: Lopes, T. 2020

3.5.3 Metodologia de captura e biometria

Para captura dos animais utilizamos rede de pesca tipo arrastão (8x70 m), com malha de 50 mm. Utilizamos as metodologias para biometria e marcação usadas por Andrade et al., 2016 (Figura 3-A). A biometria foi realizada com o uso de paquímetro de precisão (Haglofer 80 cm) e balança do tipo Pesola® para animais até 10 kg e balança de mola tipo dinamômetro com capacidade até 50 kg. Foram tomadas medidas do comprimento e largura retilínea da carapaça (CRC e LRC), comprimento e largura do plastrão (CP e LP), altura da carapaça (AC), peso e também foi feita a estimativa de idade pela contagem dos anéis de crescimento nos escudos da carapaça do comprimento da carapaça (CRC), da largura da carapaça (LRC), do comprimento do plastrão (CP), da largura do plastrão (LP) e da altura da carapaça (AC) segundo Andrade et al. (2016). A sexagem foi feita observando a cauda e abertura na parte inferior do plastrão (ANDRADE, 2008). Os resultados da biometria deste experimento estão descritos na tabela 2.1 no capítulo anterior.

Durante o período da nidificação (outubro) foi necessário a adoção de outra metodologia de captura. Ao subirem a praia e concluírem a ovoposição, as fêmeas eram colocadas em decúbito dorsal para coleta de sangue e posteriormente realizávamos a biometria e marcação (Figura 3-B). Para os machos, utilizamos indivíduos retirados na

coleta anterior que ficavam alocados em outro tanque. Tais metodologias foram usadas a fim de causar o mínimo de interferência possível na desova.



Figura 3 - Captura das tartarugas com Rede redes do tipo transmalhas (A) Exemplar de fêmea de *Podocnemis expansa* (B). Fonte: Lopes, T. 2019

3.5.4 Colheita do sangue e obtenção de plasma

Após o processo de biometria e marcação, as amostras de sangue foram retiradas e o plasma separado para análise dos hormônios esteroides durante as coletas no ciclo reprodutivo (maio, outubro, novembro, março e agosto). O sangue foi obtido por meio de punção de cada exemplar, da veia coccígea dorsal com uma seringa previamente preparada com anticoagulante heparina. O volume de sangue coletado foi de 3 ml. A metodologia adotada para retirada das amostras será de acordo com a forma descrita por (PERPIÑÁN, 2017).

Para coleta de sangue, o animal foi posicionado em decúbito dorsal e os membros posteriores foram contidos. Foi feita aplicação de líquido desinfetante e a agulha foi

introduzida em um ângulo de 45 graus. Quando não havia aspiração de sangue, a agulha era levemente retirada e redirecionada até que o sangue aparecesse no centro da seringa.

As amostras coletadas foram acondicionadas em tubos eppendorf de 2 mL e mantidos sob refrigeração. Logo após a coleta, o plasma foi obtido por meio de centrifugação (5.000 rpm por minuto) por dez minutos, separado (Figura 4) e armazenado em freezer -20 °C para as análises posteriores dos hormônios esteroides (testosterona e estradiol).

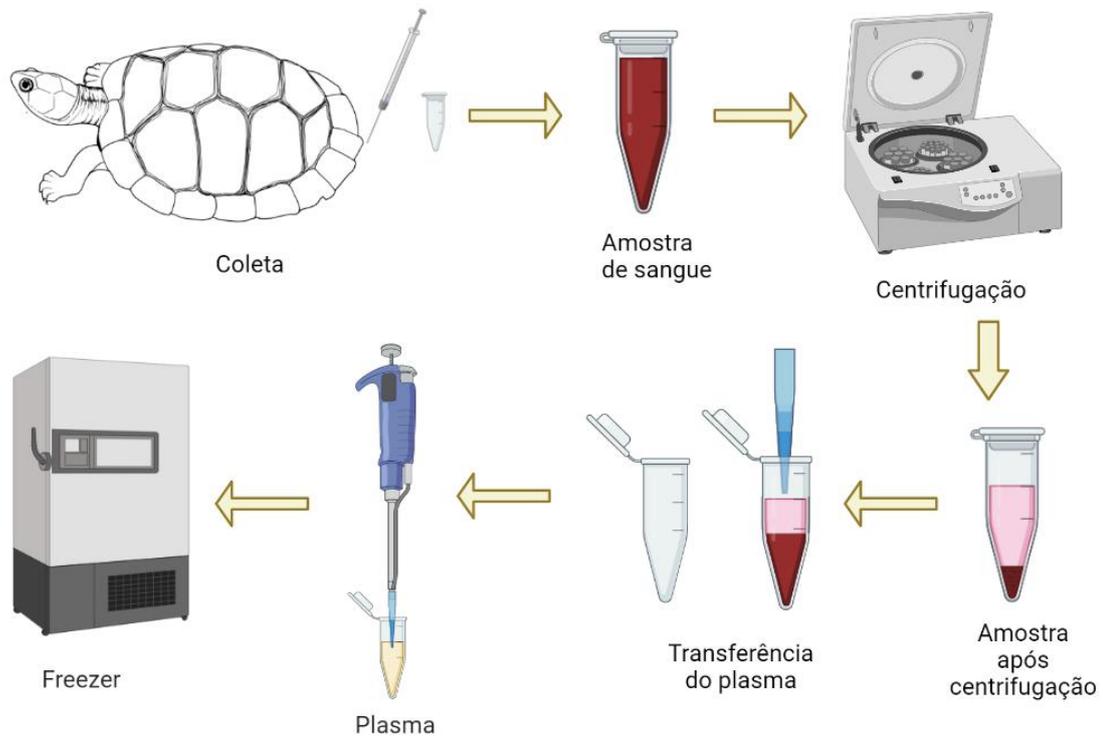


Figura 4 - Fluxograma de coleta de sangue e obtenção de plasma. Fonte: <https://app.biorender.com>

3.5.5 Análise dos hormônios esteroides (testosterona e estradiol)

Os hormônios testosterona e estradiol foram avaliados por meio do método ELISA. Para leitura dos níveis séricos de estradiol e testosterona utilizamos o espectrofotômetro de microplacas Thermo Scientific™ Multiskan™ GO (Figura 5-A). O DGR ELISA é um kit comercial imuno-ensaio-enzimático para a determinação quantitativa por diagnóstico *in vitro* de esteroides no plasma.

O kit DRG Elisa é baseado no princípio da competição pelos sítios de ligação do anticorpo com enzima. Ao adicionarmos 25 µl das amostras ou calibradores (padrões de esteroides) em cada um dos poços e 100 µl do conjugado (para estradiol) ou 200 µl (para testosterona), o esteroide endógeno da amostra compete com o anticorpo conjugado do

hormônio específico com Peroxidase pelas ligações do anticorpo coberto da placa. Após isso, as microplacas foram incubadas por 90 minutos para estradiol ou 60 minutos para testosterona, o conjugado não ligado é lavado e desprezado. A quantidade de ligações do Conjugado Peroxidase é inversamente proporcional à concentração do hormônio analisado na amostra. Consecutivamente, adicionamos solução de substrato (inclusa no kit) preparada previamente com 100 μ l para estradiol e 200 μ l para testosterona a cada poço, decorrendo por 30 minutos e 15 minutos, respectivamente. E, então, 50 μ l (para análise de estradiol) ou 100 μ l (para análise de testosterona) da solução de parada é adicionada e após isso, a intensidade da cor desenvolvida é inversamente proporcional à concentração do hormônio específico presente nas amostras. As microplacas foram lidas em 450 nm no espectrofotômetro de microplacas (Figura 5-B).



Figura 5 - Análise hormonal do plasma de *Podocnemis expansa*. Espectrofotômetro de microplaca (A); Placas de testosterona e estradiol após a leitura (B). Fonte: Lopes, T. 2021

3.5.6 Análises do perfil bioquímico

Após a coleta, as amostras foram centrifugadas, o plasma foi transferido para tubos do tipo eppendorf, e congeladas a -20° C até a execução das análises. Para as análises as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente.

As amostras foram submetidas às análises para verificação dos teores de proteínas totais, cálcio, colesterol, triglicerídeos e glicose (Figura 6). Para avaliação de todos os níveis séricos foram utilizados kits bioquímicos da marca Labtest® (Labtest Diagnóstica S.A). Em todos os processamentos foram executados de acordo com manual do fabricante específico para cada kit. Para leitura dos valores foi utilizado o Espectrofotômetro de microplaca Thermo Scientific™ Multiskan™ GO.

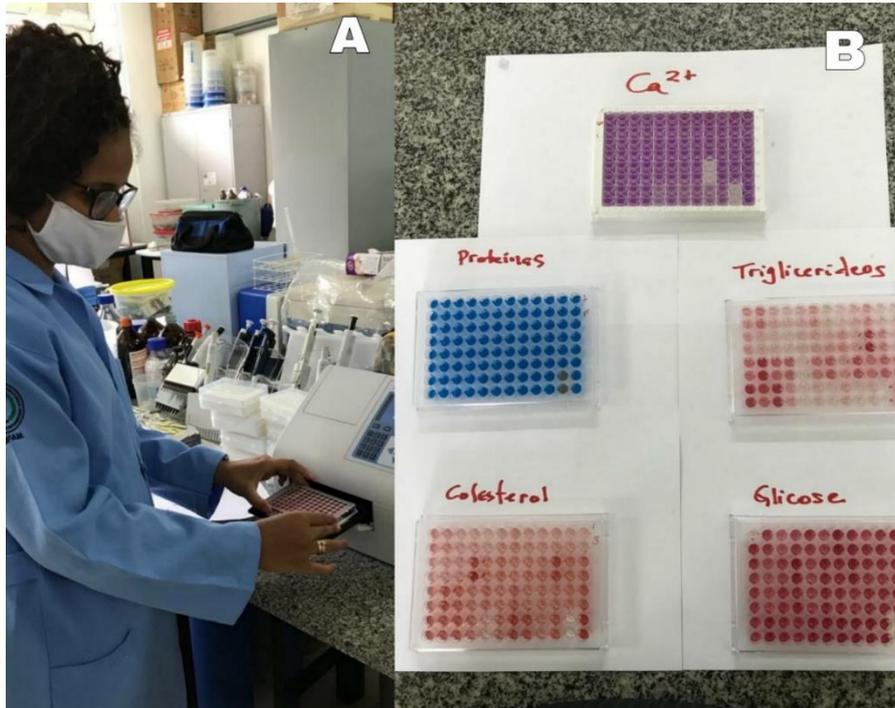


Figura 6 - Análise do perfil bioquímico de tartaruga-da-amazônia. Inserção da placa na leitora para leitura dos níveis hormonais (A) Microplacas de análises bioquímicas: Cálcio (Ca^{2+}), proteína total, colesterol, triglicérideo e glicose; após as análises (B).
Fonte: SALES, M. 2021

3.5.7 Análises estatísticas

Os dados estão apresentados como médias, erro padrão da amostra, mínimos e máximos, aos quais foram analisados de maneira descritiva usando o pacote estatístico STATISTICA Statistical Analysis System (SAS v.9.1, Cary, North Carolina, 1999).

Os dados hormonais e bioquímicos foram testados a priori quanto à normalidade pelo método de Shapiro-Wilk. Após confirmar ausência de distribuição normal, as médias eram aplicadas transformações logarítmicas. Aos dados que passaram no teste de normalidade foram submetidos à testes paramétricos e os dados que não passaram após transformação era realizado a análise paramétrica. Teste análise de variância (ANOVA) foi usado para identificar diferenças significativas entre as concentrações/proporções de hormônios por período reprodutivo. Os possíveis efeitos do tamanho sobre os níveis hormonais, bem como sobre o perfil bioquímico foram examinados por meio da análise de covariância (ANCOVA). Análises de regressões lineares foram utilizadas para verificar as relações entre os níveis de hormônios esteroides e os teores de lipídios. Em todos os casos, foi considerado que o nível de significância aceito será de 5% ($p < 0,05$).

3.6 RESULTADOS

Foram analisados valores médios, desvio padrão, mínimos e máximos dos níveis plasmáticos dos hormônios de estradiol e testosterona e a sua relação; bem como constituintes bioquímicos tais como: colesterol, triglicerídeos, glicose, proteínas totais, cálcio, sódio e potássio durante quatro momentos (vitelogênese, acasalamento, assalamento e desova) do ciclo reprodutivo de *P. expansa*. Na tabela 3.3 verificamos as médias dos dados coletados para fêmeas durante o ciclo reprodutivo. Assim também, as médias encontradas ao longo do ciclo reprodutivo para os reprodutores estão descritas na tabela 3.4. Analisamos se havia variações significativas em todos constituintes plasmáticos analisados ao longo da temporada reprodutiva para ambos os sexos.

Tabela 3.2 – Média, desvio padrão (DP) e valores mínimo (Mín.) e máximo (Máx.) de níveis plasmáticos de: esteroides (estradiol e testosterona), relação E2:T, colesterol, triglicerídeos, glicose, proteínas totais (PT), cálcio, sódio e potássio coletados durante o período reprodutivo de fêmeas em cativeiro.

Período reprodutivo	Estradiol (pg/ml)			Testosterona (pg/ml)			E2:T			Colesterol (mg/dL)			Triglicerídeos (mg/dL)		
	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx
<i>Vitelogênese</i>	14	634,1±686,0 a	120,3-2755,3	20	1663,1±96,4	1405,5-1796,5	12	0,2±0,2 a	0,1-0,6	19	66,3±21,4 ab	24,0-109,4	20	112,0±63,1 ab	17,4-269,6
<i>Acasalamento</i>	20	213,6±157,2 b	15,9-535,8	18	2295,6±1437,0	617,1-5205,8	20	0,1±0,1 b	0,0-0,3	20	72,2±24,2 a	41,6-128,1	20	133,6±77,4 a	7,5-272,7
<i>Assoalhamento</i>	20	531,3±769,1 a	29,1-3540,6	20	2471,8±1656,4	738,0-6415,7	19	0,2±0,1 a	0,0-0,5	20	58,8±29,6 ab	19-120,8	21	84,5±87,5 ab	17,5-323,3
<i>Desova</i>	25	266,6±478,4 b	9,7-2510,3	24	2346,3±1122,3	499,7-4283,8	24	0,1±0,0 b	0,0-0,1	25	51,2±23,9 b	15,0-107,8	26	72,3±67,4 b	9,7-306,6

Período reprodutivo	Glicose (mg/dL)			PT (g/dL)			Cálcio (mg/dL)			Sódio (mEq/L)			Potássio (mEq/L)		
	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx
<i>Vitelogênese</i>	19	119,9±28,0 a	74,2-166,4	20	4,1±0,2 c	3,5-4,4	20	8,1±1,7	4,5-9,9	19	117,9±11,1 a	100,0-137	20	3,4-0,5	2,7-4,3
<i>Acasalamento</i>	20	110,5±27,5 a	61,2-168,7	20	4,4±0,2 bc	4,2-4,7	19	9,0±0,6	7,7-10,2	17	107,2±12 ab	87-127	20	2,9-0,8	1,4-4,4
<i>Assoalhamento</i>	21	84,3±19,9 b	57,2-119,6	20	4,6±0,9 b	3,6-6,6	19	7,8±1,5	5,3-11,0	19	99,9±14,9 b	77-120	18	3,0±0,8	1,7-4,4
<i>Desova</i>	26	124,3±29,5 a	64,1-168,8	26	5,7±0,8 a	3,7-6,8	24	8,0±1,7	4,6±11,4	25	111-12,6 a	80-134	25	3,2±0,7	2,0-4,7

*letras diferentes na coluna P<0,05

Tabela 3.3 - Média, desvio padrão (DP) e valores mínimo (Mín.) e máximo (Máx.) de níveis plasmáticos de: esteroides (estradiol e testosterona), relação E2:T, colesterol, triglicerídeos, glicose, proteínas totais (PT), cálcio, sódio e potássio coletados durante o período reprodutivo de machos em cativeiro.

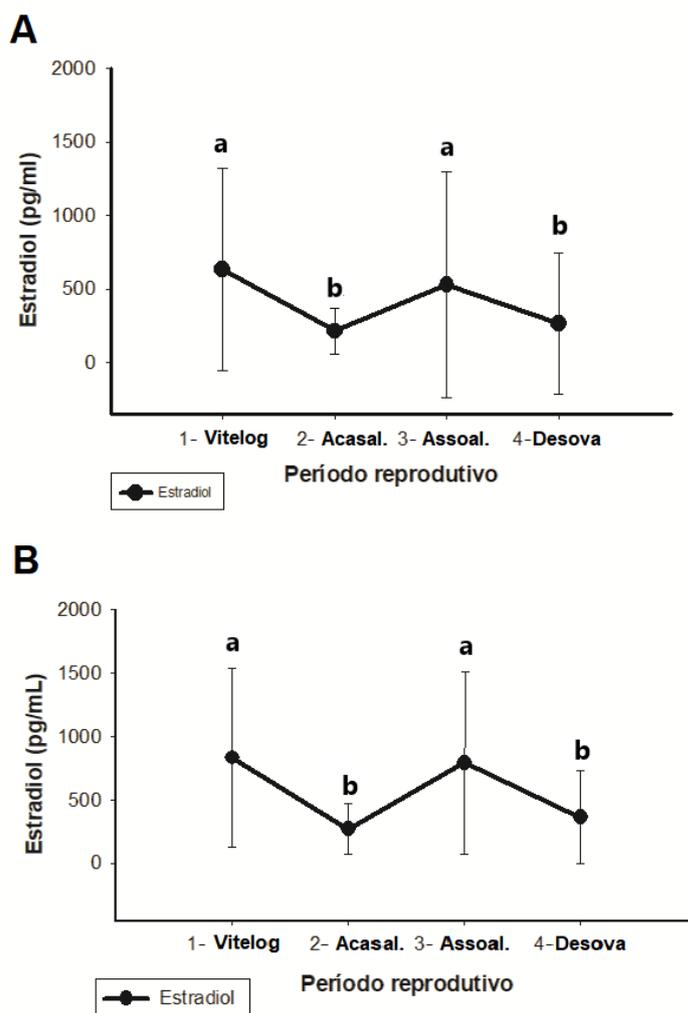
Período reprodutivo	Estradiol (pg/ml)			Testosterona (pg/ml)			E2:T			Colesterol (mg/dL)			Triglicerídeos (mg/dL)		
	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx
<i>Vitelogênese</i>	19	834,6±707,7 a	192,5-2322,0	19	6519,2±8766,4	1189,1-30757,3	18	0,3±0,5	0,0-1,6	20	45,3±11,3	15,1-67,7	20	28,2±14,5 b	8-32,6
<i>Acasalamento</i>	16	272,2±195,8 b	2,6-540,2	15	9197,1±8655,6	1236,5-30153,1	16	0,1±0,3	0,0-1,1	19	37,2±11	21,1-60,1	20	43,7±21,4 b	17,3-98,4
<i>Assoalhamento</i>	20	793,6±7,16,9 a	50,0±2383,0	19	6137,7±4104,1	809,2-14198,1	19	0,3±0,6	0,0-1,7	19	39,8±12,6	15,5-76,7	19	41,4±21,3 b	11,5-90,4
<i>Desova</i>	19	311,6±355,9 b	3,6-1305,0	20	6645,7±5261,6	1267,7-20483,0	19	0,1±0,2	0,0-0,9	19	38,1±12,6	17,1-71,6	18	66,7±29,1 a	16,9-110,7

Período reprodutivo	Glicose (mg/dL)			PT (g/dL)			Cálcio (mg/dL)			Sódio (mEq/L)			Potássio (mEq/L)		
	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx	N	Média±DP	Mín-Máx
<i>Vitelogênese</i>	20	147,2±24,5 a	91,5-178,1	19	4,0±0,1 c	3,7-4,2	19	8,2±1,1 ab	5,7-9,6	20	129,4±16,3 a	108-178	20	3,8±0,6 a	2,6-5
<i>Acasalamento</i>	19	108±37,7 b	51,4-175,3	20	4,2±0,2 b	3,9-4,5	20	8,6±0,5 a	7,5-9,6	19	100,2±16 b	69-132	20	2,3±0,6 b	1,1-3,6
<i>Assoalhamento</i>	20	111,1±27,7 b	49,4-148,3	19	4,1±0,2 bc	3,7-4,5	19	7,4±1,5 b	5-9,8	19	115,3±29,4 ab	72-180	18	3,6±0,8 a	5,0-18
<i>Desova</i>	19	114,9-31,6 b	55,9-159,2	19	6,0±0,3 a	5,3-6,4	17	8,6±1,2 a	6,7-10,5	19	115,7±23,8 ab	67-176	19	2,8±0,8 b	1,7-4,6

*letras diferentes na coluna P<0,05

Níveis dos hormônios esteroides reprodutivos

No geral, em machos a concentração de testosterona circulante (T) é 3,2 vezes maior que nas fêmeas ($p < 0,0001$). Por outro lado, os níveis de estradiol (E₂) foram similares entre os dois sexos. Considerando a variação de tamanho das fêmeas no plantel reprodutivo (16,5-45 Kg) e machos (3,06-12 Kg), foi realizado um teste estatístico por meio de um modelo linear generalizado usando os dados de E₂ os meses de coleta e o peso. A ANCOVA revelou que o peso não afeta a variação nos níveis de E₂ em fêmeas ($F=2,96$; $gl=1$; $p=0,089$). Ainda assim, houve diferenças significativas entre os meses de coleta para fêmeas ($F=4,32$; $p=0,007$). Na fase de vitelogênese, os níveis são elevados, aos quais decaem no acasalamento e voltam a subir no assoalhamento, da mesma maneira diminuem na desova (Teste de Tukey= $0,007$). Quando realizado o teste de ANCOVA para machos, o efeito do peso também não interferiu na variação dos níveis de E₂ ($F=0,54$; $gl=1$; $p=0,39$). Assim também há variação dos níveis de E₂ durante os períodos de coleta ($F=5,86$; $p=0,001$). No período de vitelogênese os níveis de estradiol estão altos, aos quais decaem durante o acasalamento (Figura 7), tornam a ter um aumento durante de assoalhamento e os valores diminuem novamente no período da desova (Teste de Tukey, $p=0,001$).



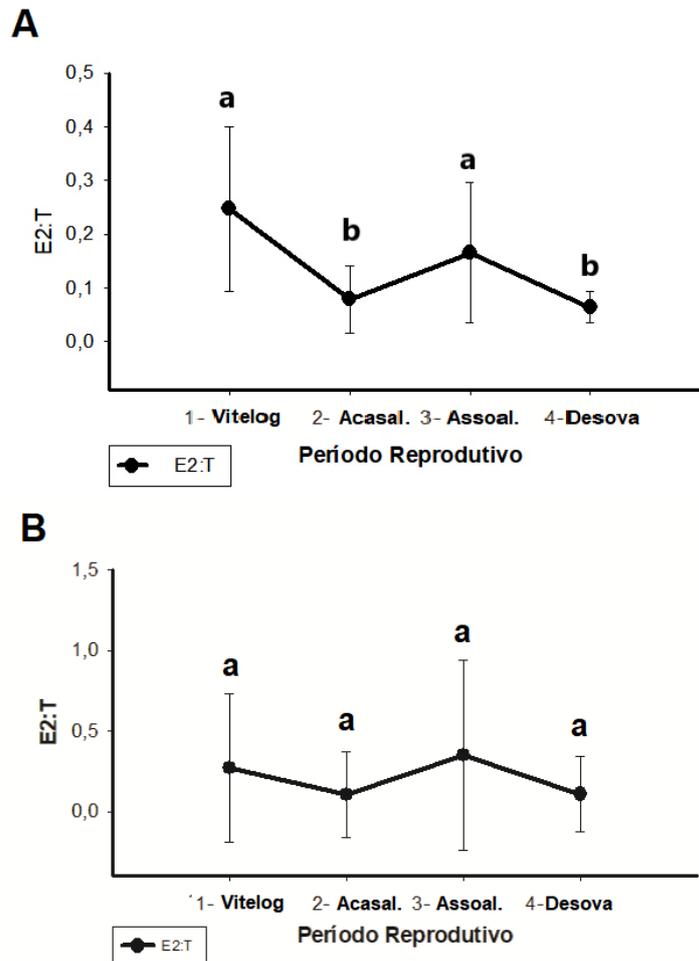
*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P < 0,05$.

Figura 7 - Níveis de estradiol ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criadas em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

Em relação aos níveis de T em fêmeas, quando realizado teste de ANCOVA, o tamanho dos animais não apresenta efeito sobre a variação de T em fêmeas ($F=0,000$; $gl=1$; $p=0,99$). Assim também não há variações de teores de T ($F=0,56$; $p=0,64$) ao longo do ciclo reprodutivo. Assim também, para reprodutores o peso afeta a variação dos níveis de T ($F=0,95$; $gl=1$; $p=0,33$). E também não foram estatisticamente diferentes entre os meses de coleta ($F=0,61$; $p=0,60$).

Os resultados da ANCOVA para relação $E_2:T$ mostrou que o peso afeta a variação da relação $E_2:T$ em fêmeas ($F=7,87$; $gl=1$; $p=0,006$). Apesar dos níveis dos hormônios andrógenos não apresentarem variâncias ao decorrer do período reprodutivo, na relação $E_2:T$ foi possível verificar diferença significativa ao longo do ciclo reprodutivo feminino

($F= 13,25$; $p=0,000001$). Durante a vitelogênese há pico da relação, à medida que ocorre a fase do acasalamento há uma redução significativa na relação (teste de Tukey, $p=0,000001$), durante o assoalhamento os níveis voltam a subir novamente tendo um novo declínio no momento da desova (Figura 9). Enquanto que nos machos, tanto no peso ($F=0,11$; $gl=1$; $p=0,73$), quanto no período de coleta ($F=1,53$; $p=0,21$) não houve variações nos teores de E2:T.



*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P<0,05$.

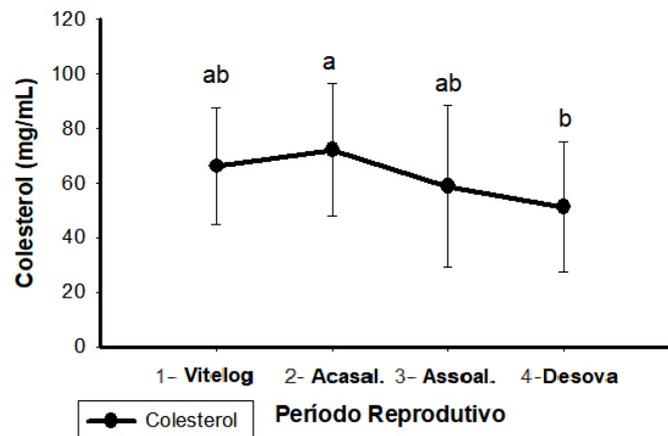
Figura 8 - Níveis da relação estradiol:testosterona ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criadas em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

3.6.1 Perfil bioquímico do plasma

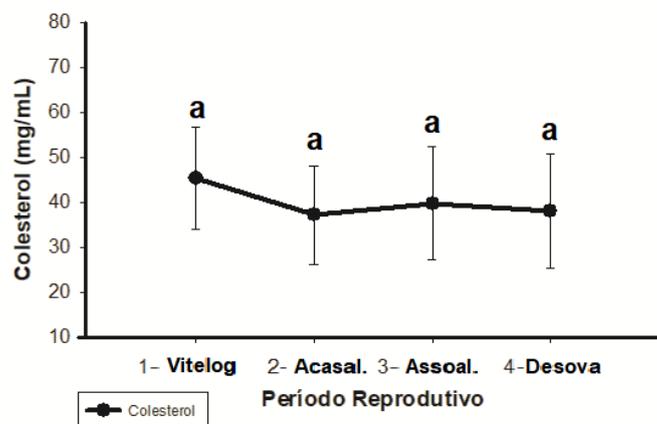
Considerando todos os períodos de coleta, as fêmeas apresentavam maiores concentrações de triglicerídeos ($p<0,001$) e colesterol total ($p<0,001$) que nos machos.

Os resultados das variáveis bioquímicas, para fêmeas quando avaliado pelo teste ANCOVA, foi verificado que a variação do colesterol é afetada pelo peso ($F=5,82$; $gl=1$; $p=0,01$). Quando levado em conta o período reprodutivo de coleta, os níveis de colesterol também apresentaram variação ($F=2,74$; $p=0,04$). No período vitelogênico não há variações nos níveis (Figura 9), porém há aumento durante o período do acasalamento, logo após a fase de acasalamento ocorre queda nos teores de colesterol (Teste de Tukey, $p=0,04$). Nos machos, o peso não afeta significativamente os níveis de colesterol ($F=0,32$; $gl=1$; $p=0,56$). Assim como, é possível verificar que os níveis de colesterol não são estatisticamente diferentes nos períodos de coleta ($F=1,85$; $p=0,14$).

A



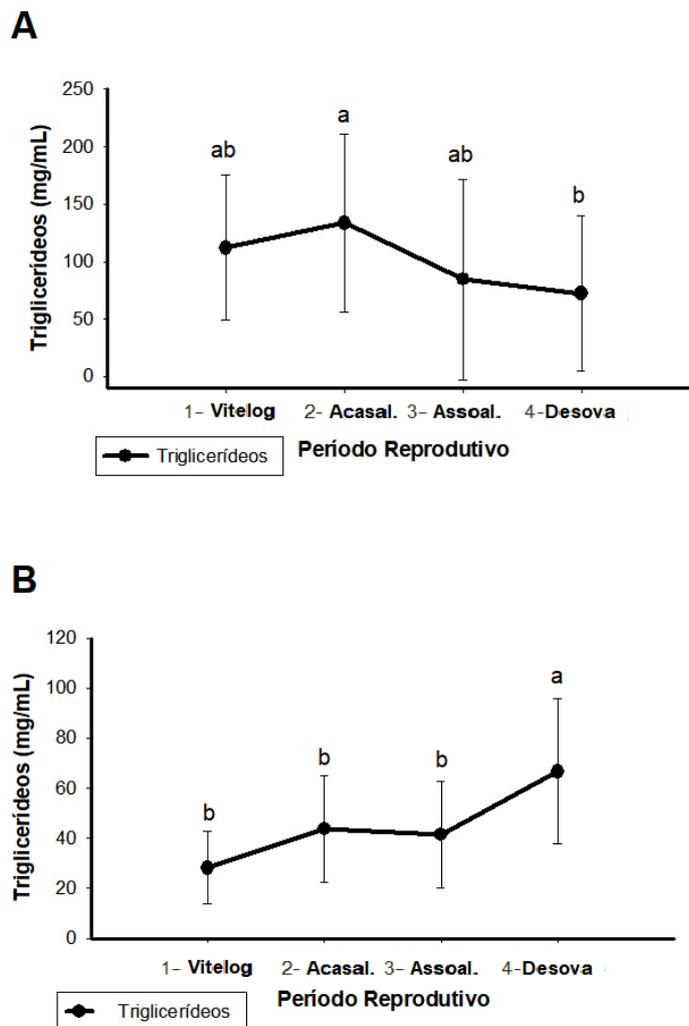
B



*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P<0,05$.

Figura 9 – Níveis de colesterol ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

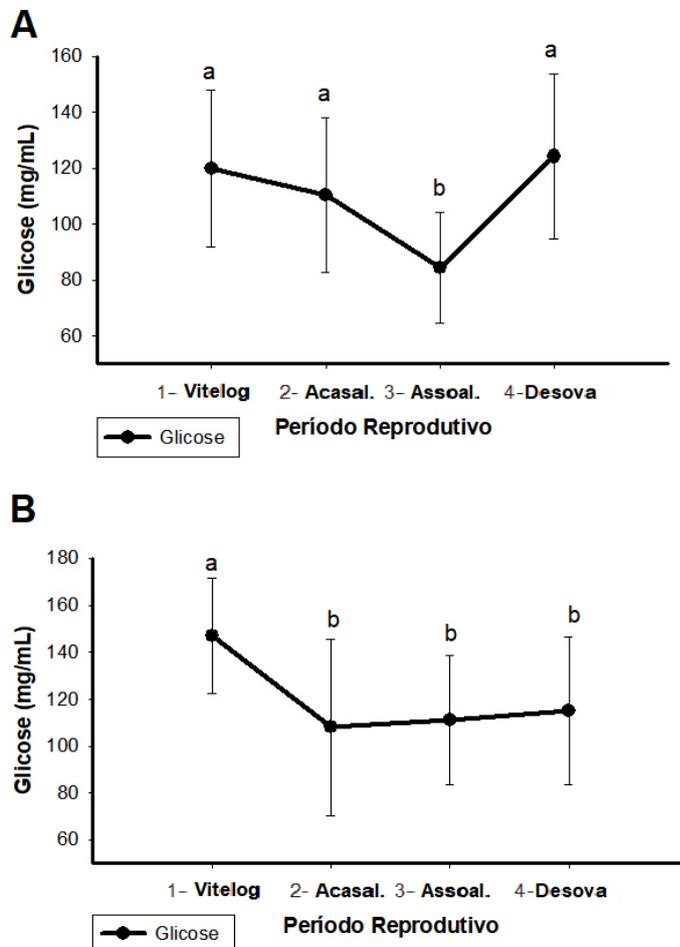
Em relação aos níveis de triglicerídeos, em fêmeas o peso também demonstrou afetar o triglicerídeo pelo teste ANCOVA ($F=7,61$; $gl=1$; $p=0,007$). Ao longo do período reprodutivo, encontramos também variação ($F=2,78$; $p=0,04$). As variações assemelham-se ao colesterol, durante a fase da vitelogênese não houve flutuações nos níveis, tendo um leve crescimento na fase do acasalamento, sendo também que após o assoalhamento há queda nos níveis até a desova (Figura 10-A), atingindo seus menores teores ao longo do ciclo (teste de Tukey, $p=0,04$). Os níveis de triglicerídeos nos machos não são afetados pelo tamanho do animal ($F=0,91$; $gl=1$; $p=0,34$). Mesmo assim, foram encontradas diferenças significativas ao decurso do período reprodutivo ($F=8,96$; $p=0,00004$). Na etapa da vitelogênese os níveis são baixos, e a partir do acasalamento os níveis começam a crescer (Figura 10-B), tendo seu ápice na fase da desova (Teste de Tukey, $p=0,00001$).



*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P<0,05$.

Figura 10 - Níveis de triglicerídeos ao longo do ciclo reprodutivo para de *P. expansa* de fêmeas (A) e machos (B) criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

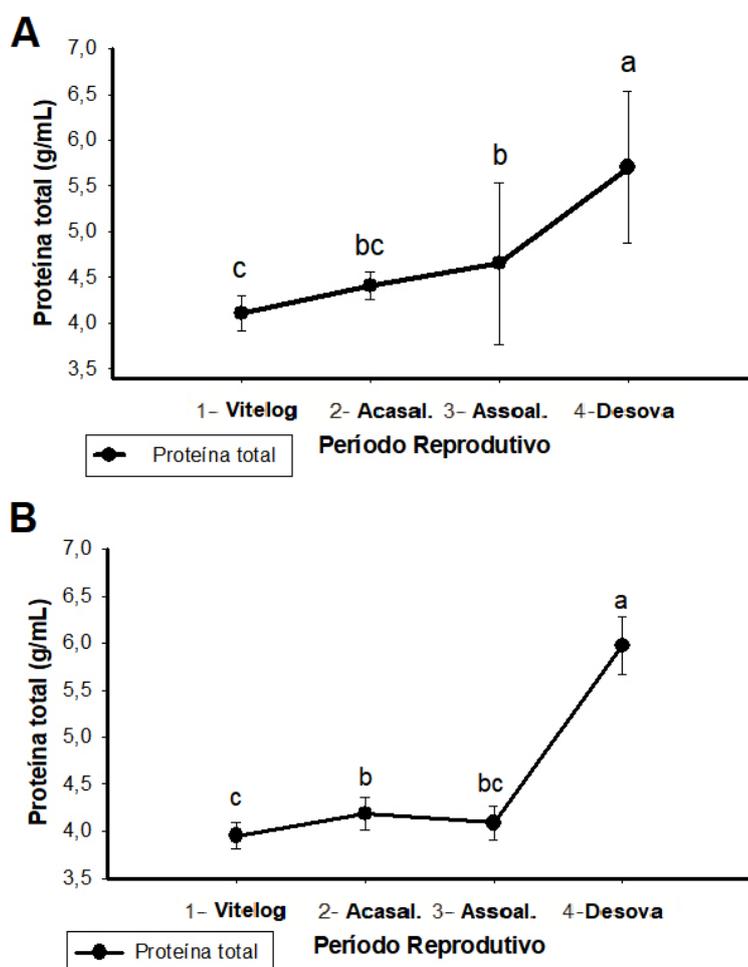
Quanto aos teores de glicose, em ambos os sexos o peso não influi nos níveis séricos ($F=0,48$; $gl=1$; $p=0,49$); ($F=0,32$; $gl=1$; $p=0,57$). Todavia, foram estatisticamente diferentes entre os meses de coleta para fêmeas ($F=9,87$; $p=0,00001$) e machos ($F=6,27$; $p=0,0007$). Nas fêmeas, durante o vitelogênese e acasalamento não há alterações nos níveis, mas na etapa do assoalhamento há uma redução significativa nos níveis (teste de Tukey, $p=0,00001$) e tornam-se elevados novamente durante a fase de ovopostura (desova) (Figura 11-A). Nos machos, a fase da vitelogênese corresponde aos níveis mais elevados de glicose (teste de Tukey, $p=0,0007$), com quedas significativas na cópula atingindo seus menores níveis não variando ao longo dos demais ciclos reprodutivos (Figura 11-B).



*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P<0,05$.

Figura 11 - Níveis de glicose ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criada em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

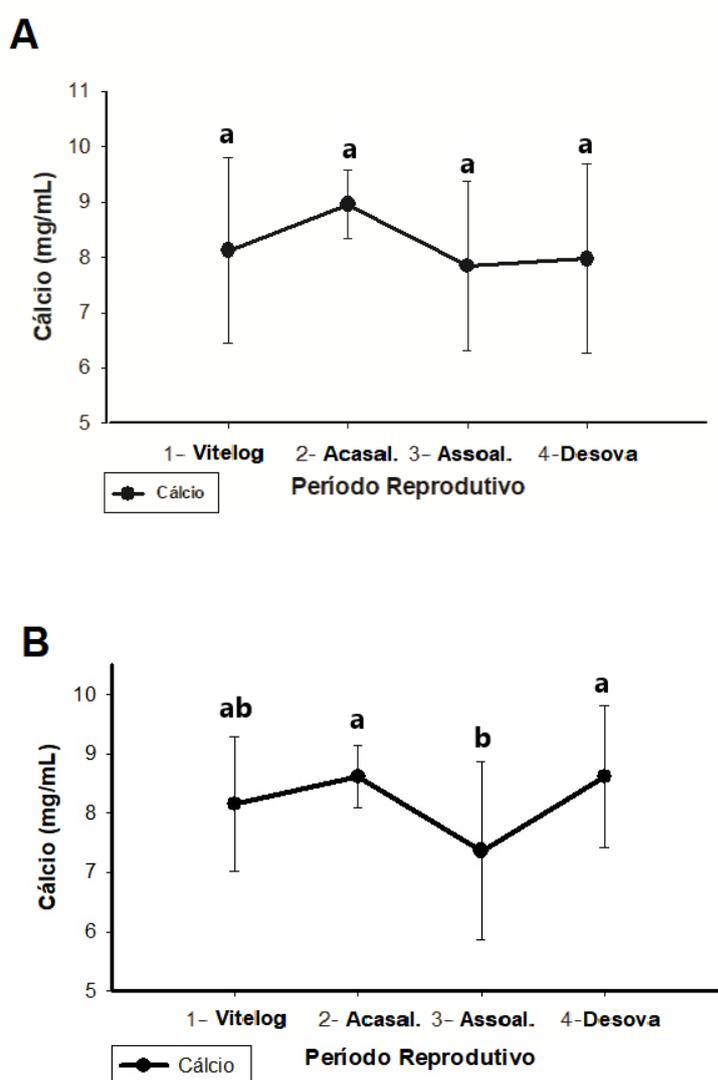
Tanto nas fêmeas quanto nos machos, o tamanho dos animais não tem efeito sobre a variação de valores de proteína total ($F=1,57$; $gl=1$; $p=0,21$); ($F=1,56$; $gl=1$; $p=0,21$). Assim como para ambos os sexos há variações de teores de proteína total ao longo do ciclo reprodutivo ($F=18,63$; $p=0,00000$); ($F=25,54$; $p=0,0000$). A variação ao longo do período reprodutivo é bem semelhante em machos e fêmeas. É possível verificar que na etapa da vitelogênese os níveis são menores, sendo que logo após a etapa do acasalamento há um crescimento nos teores para fêmeas e redução para os machos, sendo seguido, para ambos os sexos Tukey ($p=0,0000$), na etapa da desova uma elevação expressiva dos níveis proteicos (Figura 12).



*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P<0,05$.

Figura 12 - Níveis de proteína total ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

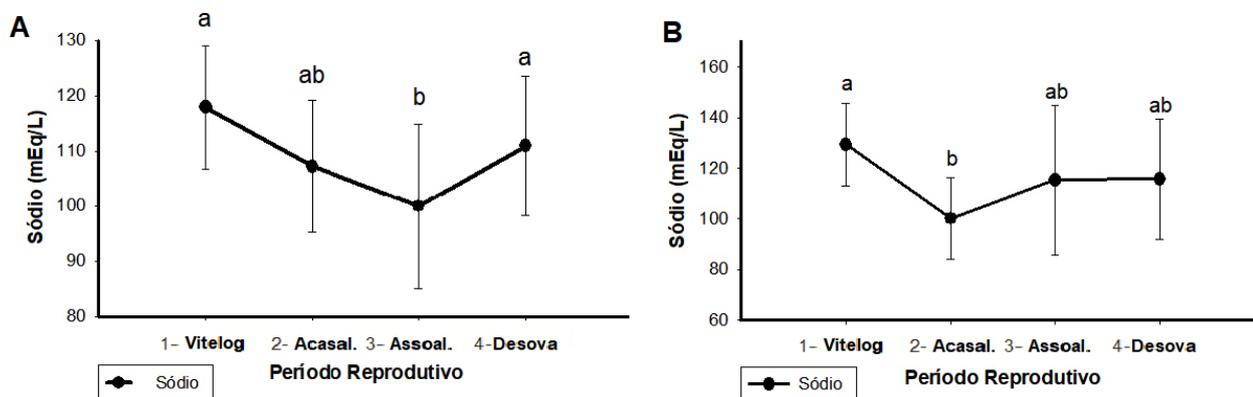
Quando avaliados, os níveis de cálcio (Ca^{2+}) em fêmeas e machos não foram afetados pelo tamanho dos animais ($F=0,12$; $gl=1$; $p=0,72$); ($F=0,10$; $gl=1$; $p=0,75$). Nas fêmeas não há variações nas concentrações plasmáticas de cálcio (Ca^{2+}) durante a temporada reprodutivas ($F= 2,24$; $p=0,09$). Quanto aos teores de Ca^{2+} nos reprodutores foram encontradas diferenças significativas entre os períodos ($F=4,32$; $p=0,007$). Após a vitelogênese, há um crescimento na fase de acasalamento, por outro lado, os níveis decaem significativamente na fase de assoalhamento (teste de Tukey, $p=0,007$) e logo após a desova retornam a aumentar (Figura 13).



*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P<0,05$.

Figura13 - Níveis de cálcio ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

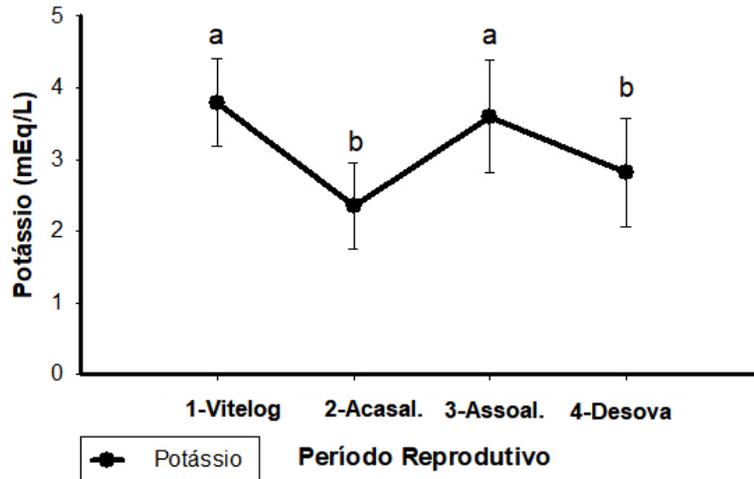
Os valores de sódio (Na^+), em fêmeas, não são afetados pelo tamanho dos indivíduos ($F=0,86$; $gl=1$; $p=0,35$). Mas, variam ao longo do período reprodutivo ($F= 6,59$; $p=0,00051$), ao qual depois da fase vitelogênica há uma queda nos teores de sódio atingindo seus menores níveis na fase de assoalhamento, ocorrendo novamente então um crescimento na fase de desova, as demais fase se mantiveram iguais estatisticamente (Teste de Tukey, $p=0,00051$) (Figura 14-A). Embora que, nos machos os níveis de sódio são afetados pelo tamanho dos animais ($F=4,77$; $gl=1$; $p=0,6$). Da mesma forma, foi possível verificar diferenças significativas ao longo do ciclo reprodutivo dos machos ($F=5,63$; $p=0,0001$). Após o vitelogênese há uma queda considerável nos níveis de sódio (Teste de Tukey, $p=0,0004$); todavia os demais períodos não apresentaram diferenças significativas (Figura 14-B).



*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P<0,05$.

Figura 14 - Níveis de sódio ao longo do ciclo reprodutivo para fêmeas (A) e machos (B) de *P. expansa* criados em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

De tal forma que os níveis de potássio (K^+), nas fêmeas e nos machos, não são afetados significativamente pelo peso ($F=0,28$; $gl=1$; $p=0,59$), da mesma maneira, para fêmeas, não possui variação conforme o período de coleta ($F=1,96$; $p= 0,14$) enquanto que, para os machos houve efeito significativo nos níveis de K^+ ($F=18,60$; $p=0,0000$). Visto que depois da vitelogênese, ocorre uma redução significativa durante o acasalamento (teste de Tukey, $p=0,0000$), tendo posteriormente os níveis crescentes na fase de assoalhamento e ao qual decaem novamente na desova (Figura 15).



*letras pequenas correspondem análise estatística pelo teste de Tukey, letras diferentes $P < 0,05$.

Figura 15 - Níveis de potássio ao longo do ciclo reprodutivo para machos de *P. expansa* criadas em cativeiro durante o ciclo reprodutivo: vitelogênese (Vitelog), acasalamento (Acasal.), assoalhamento (Assoal.) e desova.

3.6.2 Relação entre hormônios esteroides e lipídios plasmáticos

Para os teores de lipídios foi verificado a relação com níveis de esteroides analisados neste estudo. Os níveis de colesterol estão positivamente associados a relação E2:T ($F=4,69$; $p=0,004$) (Figura 13-A); bem como é afetado pelo estado reprodutivo ao qual se encontra ($F=2,74$; $p=,05$). Os teores de triglicerídeos também estão significativamente associados a relação E2:T ($F=5,44$; $p=,022$) (Figura 13-B), bem como é afetado pelo estado reprodutivo ($F=2,78$; $p=0,05$). Os níveis de lipídios circulantes estão significativamente associados a relação E2:T em fêmeas (Wilks=,091; $F=3,30$; $p=0,04$).

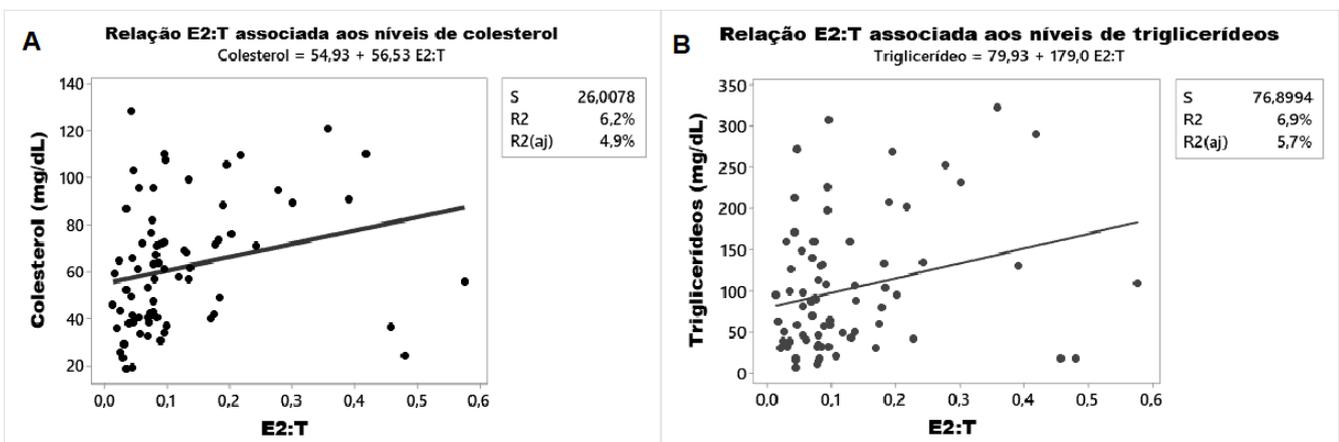


Figura 16 – Relação entre níveis de colesterol (A) e triglicerídeos (B) com a relação estradiol:testosterona (E2:T) de fêmeas de *P. expansa*, Iranduba, Amazonas.

3.7 DISCUSSÃO

3.7.1 Níveis dos hormônios esteroides reprodutivos

A amostragem e análise de hormônios esteroides no plasma ao longo de uma temporada reprodutiva pode ser um recurso valioso para manejo de tartarugas em cativeiro e de vida livre, permitindo-lhes compreender e potencialmente prever parâmetros reprodutivos específicos dentro de uma população (CURRYLOW et al., 2013; HAMANN et al., 2005; KUCHLING, 1999).

Os dois principais hormônios sexuais ao qual regulam a reprodução são o estradiol e a testosterona. Esses hormônios são produzidos por meio de transformações enzimáticas do colesterol, ao qual pode ser retirado da corrente sanguínea (NORRIS; LOPEZ, 2011). Quando ocorre mudanças nesses níveis hormonais esteroidais, há um desencadeamento de respostas fisiológicas e comportamentais tais como a desova, vitelogênese, com a formação de gametas, acasalamento e outros (OWENS, 1997).

Nas fêmeas, as análises plasmáticas de E₂ apresentaram diferenças relevantes durante os diferentes estados reprodutivos estudados, com picos na vitelogênese e na fase de acasalamento. Em contrapartida, Freneau et al. (2017) detectou em seu estudo para mesma espécie (*P. expansa*) um aumento de estradiol nos meses de julho e maio, correspondente ao período vitelogênico e início das chuvas, apresentando deste modo uma tendência de ciclicidade.

As concentrações elevadas de estradiol em répteis está tipicamente associado ao desenvolvimento ovariano e a vitelogênese (NORRIS; LOPEZ, 2011). Quando se aproxima do período da nidificação ou antes do acasalamento, os níveis circulantes decaem presumindo que a vitelogênese esteja completa (ROSTAL et al., 2001). Neste estudo, observamos resultados semelhantes, uma vez que o mesmo período corresponde a maior média dos níveis de E₂ (ver tabela 3.3). Freneau et al. (2017) também verificou altos níveis de E₂ na fase vitelogênica (*P. expansa*), porém esta etapa ocorria no mês de maio. Os padrões de secreção hormonal em fêmeas são altamente susceptíveis a variações entre as espécies e suas populações, podendo ou não estabelecer uma relação consistente com ciclo ovariano (KUCHLING, 1999; NORRIS; LOPEZ, 2011; OWENS, 1997). Podendo observar então que a vitelogênese na espécie é estrógeno-dependente, onde o

desenvolvimento ovariano e a vitelogênese estão tipicamente associadas (NORRIS; LOPEZ, 2011).

Em vista disso, o E₂ tem papéis fisiológicos e comportamentais em quelônios que estejam maduros reprodutivamente e também quando associado com outras técnicas, é usado para determinar a condição reprodutiva do animal (OWENS, 1997). Na sua maioria, as fêmeas de tartarugas apresentam ciclos reprodutivos anuais, mas existem exceções e a reprodução não anual é uma ocorrência normal em algumas espécies ou populações. Como por exemplo, a tartaruga de água doce da família Podocnemididae *Erymnochelys madagascariensis*, que possui ciclo reprodutivo bienal, informações baseadas em estudo após a avaliação completa de ovários e oviduto de carcaças recém-abatidas (KUCHLING, 1993) e em ultrassom e dados endoscópicos: ao qual verificaram que durante a estação reprodutiva cerca de 50% das fêmeas adultas de vida livre apenas estavam reprodutivamente ativas.

Nos machos, os níveis de E₂ encontrados neste estudo apresentaram seus maiores níveis no vitelogênese e no momento do assoalhamento. Níveis elevados de E₂ em machos de répteis, normalmente são associados a atuação nas funções testiculares, uma vez que E₂ induz a regressão dos testículos. Assim como os andrógenos regulam as atividades espermatogênicas, os estrógenos têm papel inibidor para formação de novos gametas masculinos (KUCHLING, 1999; NORRIS; LOPEZ, 2011). Em seu estudo Gist et al. (2007) observou que receptores de estrogênio estão localizados em células de leydig regulando as funções testiculares na tartaruga *T. scripta*.

As concentrações de T nas fêmeas não variaram conforme os estados reprodutivos, entretanto os valores encontrados (ver tabela 3.3) são relativamente altos quando comparados com valores de alguns estudos com tartarugas marinhas e até mesmo de água doce que habitam zonas temperadas, onde estações climáticas são bem definidas (KOLANDAIVELOO et al., 2020; MCPHERSON et al., 1982; MENDONÇA; LICHT, 1986; VALENTE et al., 2011). Nas fêmeas a T é sintetizada pelos ovários, ao qual cumpre uma função importante como precursora do principal hormônio feminino: o estrógeno e também está ligada ao crescimento folicular (BLANVILLAIN; OWENS; KUCHLING, 2011). Neste estudo verificamos um aumento na média de T, assim também Rostal et al. (1997) verificaram em seu estudo que os níveis de T são baixos antes do acasalamento e depois tendem a subir. Allman et al. (2019) ao estudar perfis hormonais de esteroides no plasma durante o ano, em *Gopherus polyphemus* também verificou um pico de T um pouco antes da fase de acasalamento (setembro) para as fêmeas. Hamann et al. (2002)

também relata que a presença de andrógenos teria possivelmente o papel de desencadear a estimulação da receptividade feminina e comportamento de cortejo.

Na natureza normalmente, os machos e fêmeas de *P. expansa* migram ao iniciar o período da seca (que pode variar conforme o ciclo hidrológico da região) (FERRARA et al., 2017). Em cativeiro, apesar de não migrarem, acabam acompanhando os mesmos eventos reprodutivos correspondentes (GARCEZ, 2009). Nesse contexto, a testosterona tem papel importante pois quando há um aumento significativo nos níveis de andrógeno há estimulação para migração para as praias de desova (OWENS, 1997).

A testosterona nos machos estudados não variou conforme período reprodutivo, obtendo maior média na fase de acasalamento. Ao avaliar a sazonalidade do ciclo reprodutivo de *L. kempfi*, Rostal et al. (1998) observaram que os maiores níveis de testosterona em machos permaneciam altos até a época de acasalamento. Os resultados de Viana et al. (2014) indicaram que o perfil hormonal de testosterona foi associado à estação de acasalamento e a maior atividade espermatogênica ocorreu durante na estação chuvosa (*K. scorpioides*). Os andrógenos, nos machos, regulam diferencialmente a espermatogênese, dependendo do estado reprodutivo dos testículos. Além de promover a diferenciação e maturação testicular, o andrógeno atua como substrato para a produção de estrógeno, participa do feedback regulatório negativo de esteroides no hipotálamo (ARITRO et al., 2014).

O grau de desenvolvimento e a duração formação de gametas podem diferir substancialmente entre as diferentes espécies de quelônios e mesmo entre as populações de uma espécie em diferentes zonas climáticas. Em indivíduos de zonas temperadas, o ciclo espermatogênico geralmente apresenta um padrão básico e são semelhantes (NORRIS; LOPEZ, 2011). Nas épocas mais frias do ano apresentam até mesmo quiescência germinativa, ao qual o epitélio germinativo da maioria dos quelônios permanece regressivo e inativo. Nos répteis tropicais, a espermatogênese pode ser contínua, mas até o momento a espermatogênese contínua não foi demonstrada para nenhum quelônio (KUCHLING, 1999). A atividade reprodutiva em tartarugas, que vivem em zonas tropicais, costuma ser menos sazonal do que as tartarugas que habitam nas demais zonas. Assim como há estações secas e chuvosas bem definidas, a umidade, luminosidade e a temperatura podem se tornar um fator que afete a sazonalidade dos ciclos reprodutivos (BLANVILLAIN; OWENS; KUCHLING, 2011).

Geralmente as fêmeas possuem baixos níveis de testosterona e elevados níveis de E₂ em relação aos machos. Em nosso estudo, a relação E₂:T mostrou-se variar

significativamente em relação aos períodos reprodutivos em fêmeas. O maior nível de relação encontrado é na fase de vitelogênese ($0,25 \pm 0,15$). Ao estudar níveis hormonais em indivíduos de *Terrapene carolina carolina*, observou-se um valor inferior durante comportamento sexual ao qual foi encontrado uma relação $E_2:T$ de 0,13 (RIA) (CURRYLOW et al., 2013). Sözbilen e Kasca (2018) encontraram para fêmeas durante a desova um valor semelhante ao relatado em nosso estudo (0,1), com relação $E_2:T$ de 0,04 (RIA). Valores encontrados para tartaruga asiática, *Batagur borneoensis* mensurados no período não reprodutivo apresentaram uma relação bem superior (6,35) aos descritos neste estudo (ELISA). Em estudos com quelônios em cativeiro, é importante considerar e fornecer detalhes de onde os animais se originaram e por quanto tempo eles foram mantidos em cativeiro antes do início do estudo, pois até mesmo animais mantidos em cativeiro há anos podem reagir a pequenas mudanças no manejo, afetando o estado de reprodução (KUCHLING, 1999).

3.7.2 Perfil bioquímico do plasma

No presente estudo verificamos as concentrações dos constituintes bioquímicos do plasma (colesterol, triglicerídeos, glicose, proteína total, cálcio, sódio e potássio) e suas relações com os eventos reprodutivos de machos e fêmeas de tartaruga da amazônia. Existem poucos estudos que avaliaram as variações dos constituintes bioquímicos sanguíneos de *P. expansa* aos quais contribuem para valores de referência para animais em cativeiro (MARTÍNEZ et al., 2007; SANTOS et al., 2005).

Os valores médios de colesterol encontrados em fêmeas foram de $61,4 \pm 25,80$ mg/dL. Em todos os períodos dos ciclo reprodutivo os valores são inferiores aos relatados para a mesma espécie em fêmeas criadas em zoológico, na Venezuela, aos quais descrevem teores de $97,25 \pm 27,62$ mg/dL (SANTOS et al., 2005). Duggan e Callard (2003) observaram em seu estudo em *C. picta*, uma espécie de água doce, que fêmeas ao receberem doses de estradiol tiveram seus níveis de colesterol reduzidos ($71,82 \pm 31,57$ mg/dL). Tais diferenças entre indivíduos da mesma espécie podem ser resultantes de mudanças sazonais nos parâmetros sanguíneos, ambiente, tipo de alimentação e idade. Apesar dos baixos teores de colesterol quando comparados com o estudo de Santos et al. (2005), foi possível verificar nas fêmeas diferença significativa durante os estados reprodutivos, com seus maiores teores no plasma nas fases da vitelogênese e até o acasalamento. Quando ocorre a ação do estradiol na vitelogênese, podemos observar uma

elevação nos níveis de colesterol e triglicerídeos no organismo. A maioria das espécies, preferencialmente, usa o colesterol LDL como um precursor para a síntese de esteroides ovarianos (GRUMMER; CARROLL, 1988). Além disso, é presumivelmente durante a cópula e as fases iniciais de desova quando a transferência de lipídios e proteínas para os folículos ovarianos é finalizada (NORRIS; LOPEZ, 2011). Mesmo assim, Sozbilen e Kasca (2018) em seu estudo na Turquia, relataram níveis de colesterol e triglicerídeos significativamente maiores nas fêmeas em nidificação.

Nos machos os valores de colesterol são menores ainda com $42,72 \pm 20,42$ mg/dL, comparados com as fêmeas. Não há valores relatados para machos de *P. expansa*, e não apresentaram variações, assim também como no estudo em *C. picta* que não apresentaram alterações significativas nos teores de colesterol quando submetidos a certas dosagens hormonais, mesmo considerando que o colesterol é precursor de estrógenos (DUGGAN; CALLARD, 2003).

Quanto aos teores triglicérides, as fêmeas apresentaram valores médios de $98,5 \pm 76,7$ mg/dL. Pereira (2015) descreve para animais de criatório comercial (*C. carbonária*) teores superiores para as fêmeas, relatando valores médios de 159,00 mg/dL. Assim como para colesterol, os teores de triglicerídeos são maiores significativamente na vitelogênese e acasalamento em fêmeas. Corroborando com informações sobre o papel importante nos processos vitelogênico (KUCHLING, 1993).

A concentração média de triglicerídeos foi de $44,5 \pm 25,6$ mg/dL nos machos. Estes valores caracterizam-se como inferiores quando comparados aos obtidos na maior parte dos estudos envolvendo quelônios marinhos (BOLTEN; BJOMDAL, 1992; SÖZBILEN; KASKA, 2018; SWIMMER, 2000). Também houve variação sazonal nos níveis em machos, com a fase da desova atingindo os maiores níveis. Assim como a hipertrigliciremia está associada a processos reprodutivos, quando indivíduos estão sexualmente inativos ou malnutridos resulta-se em animais com hipotrigliciremia (MARTÍNEZ-SILVESTRE; LAVIN; CUENCA, 2013).

Os valores médios da glicose, para fêmeas, foram de $110,3 \pm 30,5$ mg/dL. Estas médias assemelham-se às encontradas por Santos et al. (2005) (*P. expansa*) $122,90 \pm 35,19$ mg/dL e superior ao estabelecido por Oliveira et al. (2013) (*K. escorpioides*) $50,84 \pm 21,3$ mg/dL em estudo comparando animais jovens e adultos.

Quanto à variação plasmática nos diferentes estados reprodutivos em fêmeas, apenas a fase do assoalhamento observou-se queda nos níveis plasmáticos. Em vertebrados, os glicídios são um dos principais combustíveis utilizados pelo organismo para a realização

dos trabalhos biológicos (LUTZ; MUSICK, 1997), aos quais os níveis se mantiveram em equilíbrio durante os principais eventos reprodutivos (acasalamento, vitelogênese e desova) neste estudo.

Os teores de glicose observados no presente estudo para machos ($120,5 \pm 34,19$ mg/dL) também são compatíveis com os dados de literatura (entre 60 e 120 mg/dL) (MARTÍNEZ-SILVESTRE; LAVIN; CUENCA, 2013). O período de vitelogênese, em machos, variou significativamente em comparação com os demais períodos. Em répteis, variações de glicose no sangue podem ocorrer devido a alterações na taxa metabólica, alterações fisiológicas e fatores ambientais (KUNZE et al., 2020). A glicemia de répteis sadios varia de acordo com a espécie, o estado nutricional, as condições ambientais, estresse e condições fisiológicas (OLIVEIRA et al., 2013). Assim como o aumento de níveis de glicose, pode ser resultado da utilização da glicose anaeróbia em quelônios de água doce (*Trachemys scripta* e *Chrysemys picta*) que permanecem em mergulhos prolongados (MARTÍNEZ-SILVESTRE; LAVIN; CUENCA, 2013). Uma vez que, o cortisol é um hormônio hiperglicêmico; ou seja, pode causar elevação dos níveis de glicose plasmática, que fornece energia para escapar ou enfrentar uma situação adversa (FONSECA et al., 2020).

A concentração média de PT em fêmeas foi de $4,8 \pm 0,9$ g/dL, valor semelhante ao obtido por Santos et al. (2005) ($4,43 \pm 0,55$ g/dL) também para espécie *P. expansa* criada em cativeiro. Em machos os valores médios foram de $4,5 \pm 0,9$ g/dL, Estes valores estão próximos com Martinez et al. (2007) relatos para machos de *P. expansa* ($3,75 \pm 0,79$ g/dL).

Neste estudo, observou-se que houve elevações drásticas nos níveis séricos de PT na fase da desova em ambos os sexos. O aumento de proteínas totais pode ser resultado por crescimento de albumina e/ou de globulinas. Esses aumentos são causados por dois motivos principais: desidratação e doenças inflamatórias. Assim como também é esperado que haja alterações nos níveis durante as atividades ovarianas (BLANVILLAIN; OWENS; KUHLING, 2011; MARTÍNEZ-SILVESTRE; LAVIN; CUENCA, 2013). Em contrapartida, Oliveira et al. (2013) relata em seu estudo que as concentrações de proteína plasmática não se modificam durante os períodos de coleta, mesmo em animais com restrição alimentar, indicando que as tartarugas retiveram seus processos biológicos essenciais por meio das reservas hepáticas de glicogênio e lipídios.

O nível médio de cálcio relatado neste estudo para fêmeas de *P. expansa* foi de ($8,2 \pm 1,5$ mg/dL), ao qual está dentro do intervalo considerado normal para répteis (8 e 11

mg/dL). Souza et al. (2005) encontrou valores referências inferiores aos observados neste estudo ($7,08 \pm 1,04$ mg/dL).

Apesar das fêmeas não apresentarem variações significativas, durante os estados reprodutivos, as médias apresentam uma tendência de crescimento entre as fases de vitelogênese e acasalamento ($9,0 \pm 0,6$ mg/dL). Fêmeas em período reprodutivo apresentam uma elevação fisiológica dos níveis de cálcio no sangue, mobilizados juntamente com a vitelogenina para deposição de gema. Em *L. kempfi*, os níveis de cálcio no plasma aumentaram duas vezes mais no período pós-desova até o momento do acasalamento (ROSTAL et al. 1998). Desta maneira, as concentrações de cálcio têm sido usadas como indicador no processo de vitelogênese em répteis (NORRIS; LOPEZ, 2011). Assim como também, Rostal et al. (2001) verificaram que não há variação nos níveis de cálcio durante a desova (*D. coriacea*), evidenciando ainda mais que a vitelogênese está completa antes da chegada da fêmea na praia de nidificação.

Resultados dos níveis de cálcio deste estudo em machos ($8,2 \pm 1,5$ mg/dL) também são semelhantes aos descritos para espécie por Martinez et al. (2007) ($9,18 \pm 1,55$) mg/dL e superiores aos relatos em algumas espécies marinhas (SÖZBILEN; KASKA, 2018; SWIMMER, 2000). Em contrapartida, foi possível verificar flutuações sazonais de Ca em machos, onde durante de assoalhamento e deambulação atingiu valores mínimos de $7,4 \pm 1,5$ mg/dL. Quando as concentrações de cálcio são inferiores a 8,0mg/dL são sinais de hipocalcemia. Essa situação pode acontecer quando existem deficiências nutricionais na alimentação ofertada (MARTÍNEZ-SILVESTRE; LAVIN; CUENCA, 2013).

Os valores de Na^+ em fêmeas variaram entre 77 e 137 mEq/L, obtendo a média de $109,2 \pm 14,0$ mEq/L, tais valores são menores comparados aos encontrados na literatura para mesma espécie ($134,78 \pm 3,64$ mEq/L) (SANTOS et al., 2005). Após a absorção intestinal de sódio, há transporte de Na^+ para os rins, dependendo das necessidades ele é excretado ou reabsorvido (CAMPBELL, 2006). Foi possível observar variações de Na^+ ao longo do ciclo reprodutivo feminino, com picos nas fases de vitelogênese, ocorrendo posteriormente uma queda nos teores e subindo na fase de desova. Parte deste mineral encontra-se no esqueleto em forma insolúvel, e a maior parte é encontrada nos fluidos extracelulares. Tais variações ocorrem, pois, tartarugas de água doce apresentam os mesmos problemas na regulação iônica que peixes dulcícolas e anfíbios, que são controladas por suas membranas corporais, regulando a composição dos fluidos. (DUNSON, 1967).

Nos machos as concentrações médias de Na⁺ foram de 115,3±24 mEq/L, estando estes dados inferiores aos relatos de Martinez et al. (2013) em média para avaliações em répteis aos quais oscilam em níveis normais de 120 a 170 mEq/L. Houve variações também para os machos ao longo do período reprodutivo, com a diminuição dos níveis na fase acasalamento. Há variações fisiológicas nos níveis de sódio quando os animais passam pelo estado migratório, apesar de não haver migração em cativeiro é possível observar um deslocamento maior nos tanques que os animais estão alocados (GARCEZ, 2009; MARTÍNEZ-SILVESTRE; LAVIN; CUENCA, 2013). Mensurações de sódio são úteis na avaliação do equilíbrio hidroeletrólítico e ácido-base.

Os valores médios de K⁺ encontrados neste trabalho em fêmeas foram de 3,1±0,7 mEq/L, esses resultados são inferiores aos encontrados para fêmeas de zoológico para mesma espécie (MARTÍNEZ et al., 2007). Em fêmeas os níveis de K⁺ se mantiveram sem variações ao longo da estação reprodutiva, em vertebrados as concentrações de K⁺ normalmente estão ligadas a processos neuromusculares (CAMPBELL, 2006).

Os níveis de K⁺ em machos, no presente estudo, foram de 3,1±0,9 mEq/L. Tais valores estão de acordo aos valores descritos normalmente para quelônios (2 a 6 mEq/L) (MARTÍNEZ-SILVESTRE; LAVIN; CUENCA, 2013). Nos machos, foi possível verificar flutuações sazonais durante o período reprodutivo, com queda nos teores na fase de acasalamento assim como para o Na⁺. A diminuição da ingestão de alimentos pode acarretar a queda nos teores K no plasma, o que pode explicar os baixos níveis de K durante esta fase (DEEM et al., 2009).

3.7.3 Relações entre hormônios esteroides e lipídios plasmáticos

Este é o primeiro estudo no qual os lipídios foram analisados durante as principais fases do ciclo reprodutivo anual de *P. expansa*: vitelogênese, acasalamento, assoalhamento e desova. Os lipídios são componentes essenciais para o metabolismo de quelônios, principalmente o colesterol sendo este precursor de esteroides.

Altas concentrações lipídicas são fundamentais para formação de folículos ovarianos e seu desenvolvimento. Por isso, o estudo dos lipídios durante a fase vitelogênica é tão relevante afim de compreender os eventos reprodutivos em uma determinada espécie. Ao estudarem os lipídios e proteínas transportadoras de lipídios em tartarugas de água doce (*C. picta*), Duggan e Callard (2003) observaram que os mecanismos para mobilização e

transporte de lipídios são regulados de forma coordenada por esteroides ovarianos, principalmente estradiol.

Com base nessas informações, estabelecemos análises de regressão baseada nas concentrações lipídicas e na relação E₂:T. Sendo assim, foi possível verificar uma relação positiva com níveis de triglicerídeos e colesterol neste estudo, corroborando assim com resultados da literatura.

Grummer e Carrol (1988) apresentaram um modelo para explicar como inserção de lipídios na dieta pode interferir na síntese ovariana de esteroide. Acreditavam na possibilidade de dietas com altas concentrações lipídicas, pudessem alterar o nível do principal substrato, possivelmente o colesterol durante a fase vitelogênica.

Da mesma maneira podemos ressaltar a importância destes processos para o desenvolvimento embrionário uma vez que, tal como ocorre com a vitelogenina, os triglicerídeos são absorvidos em grandes quantidades pelos folículos ovarianos, o tornando um componente importante na composição do vitelo. Segundo Thompson et al. (1999), os lipídios constituem 31,4% da massa seca do ovo da tartaruga de água doce australiana (*Emydura macquarii*). Enquanto que a concentração de lipídios totais presentes no vitelo residual da tartaruga-da-amazônia varia de 90 a 360 mg (DUNCAN et al., 2012).

3.8 CONCLUSÕES

Os valores encontrados de estradiol em fêmeas variaram estatisticamente ao longo dos estados reprodutivos. Assim também, variaram nos machos ao quais apresentaram maiores níveis na fase vitelogênica.

Não houve diferenças significativas entre os teores de testosterona nos períodos reprodutivos para machos e fêmeas.

Observou-se que a relação E2:T em fêmeas apresenta variação conforme o estado reprodutivo, tendo com maior média o período vitelogênico.

Dentre os parâmetros bioquímicos, os teores de colesterol e triglicerídeos, em fêmeas, tiveram suas maiores médias entre a fase vitelogênica e acasalamento, apresentando variações ao longo do ciclo reprodutivo. Enquanto que nos machos, apenas houve variações durante o estado reprodutivo para triglicerídeos, aumentando na etapa desova.

Os valores encontrados para de glicose para fêmeas também variam ao longo dos estados reprodutivos. A fase de assoalhamento mostra uma queda nos teores, indicando que estes animais possam se manter de jejum. Como também há variação para os reprodutores, em vista que há um aumento no estado vitelogênico.

Houve também alterações significativas ao longo do período do ciclo reprodutivo, nos níveis de proteína total em fêmeas e machos. Que de maneira semelhante apresentaram maiores teores na fase da desova em ambos os sexos.

Diferenças significativas nos níveis de cálcio em fêmeas não foram observadas, em contraste com os resultados encontrados para machos, que apresentaram variações, tendo menores níveis na etapa de assoalhamento.

Alterações nos níveis de sódio foram encontradas em fêmeas durante as diferentes etapas do ciclo reprodutivo, visto que há níveis elevados na fase vitelogênica e uma redução até a fase de assoalhamento. Posto que, nos machos, ocorrem também variações conforme o estado reprodutivo, mas a redução acontece na etapa de acasalamento. Assim como variou os níveis de potássio.

Os níveis de lipídios circulantes estão significativamente associados positivamente à relação E2:T em fêmeas.

Os resultados obtidos neste estudo podem contribuir para um melhor entendimento dos parâmetros hormonais e bioquímicos de machos e fêmeas de *Podocnemis expansa*. Visto que poderão subsidiar outros estudos com fins de indução de desova e melhor gestão de manejo em cativeiro.

3.9 REFERÊNCIAS

- ALHO, C. J. R.; PÁDUA, L. F. M. Sincronia entre o regime de vazante do rio e o comportamento de nidificação da tartaruga da Amazônia *Podocnemis expansa* (Testudinata: Pelomedusidae). **Acta Amazonica**, v. 12, n. 2, p. 323–326, 1982.
- ALLMAN, P. et al. Year-round plasma steroid hormone profiles and the reproductive ecology of gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*) at the southernmost edge of their range. **General and Comparative Endocrinology**, v. 282, p. 113213, 2019.
- ANDRADE, P. C. M. **Criação e manejo de quelônios no Amazonas**. Manaus: Provárzea/Ibama, 2008. 528 p.
- ANDRADE, P. C. M. **Projeto Pé-de-pincha : Conservação e Manejo de Quelônios Manual para Gestores Ambientais**. Manaus: Provárzea/Ibama, 2016. 117 p.
- ARAÚJO, C. et al. Lipoproteínas de répteis: estrutura , metabolismo e aspectos comparativos. **Publicações em Medicina veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 3, p. 101–114, 2015.
- ARITRO, S. et al. Androgens regulate ovarian follicular development by increasing follicle stimulating hormone receptor and microRNA-125b expression. **National Academy of Sciences**, v. 111, n. 8, p. 3008–3014, 2014.
- BLANVILLAIN, G. D.; OWENS, D. W. M.; KUCHLING, G. Hormones and Reproductive Cycles in Turtles. In: NORRIS, D. O.; LOPEZ, K. H. (Eds.). . **Hormones and Reproduction of Vertebrates - Volume 3**. [s.l.] Academic Press, 2011. v. 3p. 277–303.
- BLOODGOOD, J. C. G. et al. Comparison of hematological, plasma biochemical, and nutritional analytes of rehabilitating and apparently healthy free-ranging atlantic green turtles (*Chelonia mydas*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 50, n. 1, p. 69–81, 2019.
- BOLTEN, A. B.; BJOMDAL, K. A. blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 28, n. 3, p. 407–413, 1992.
- CAMPBELL, T. W. Clinical Pathology of Reptiles. In: MADER, D. R. (Ed.). . **Reptile Medicine and Surgery**. Missouri: SAUNDERS Elsevier, 2006. p. 490–532.
- CURRYLOW, A. F. et al. Seasonal variations in plasma vitellogenin and sex steroids in male and female Eastern Box Turtles, *Terrapene carolina carolina*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 180, n. 1, p. 48–55, 2013.
- DEEM, S. L. et al. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 1, p. 41–56, 2009.
- DUGGAN, A. E.; CALLARD, I. P. Lipids and lipid-transporting proteins in *Chrysemys picta*: Role of gonadal steroids and growth hormone in intact and hypophysectomized turtles. **General and Comparative Endocrinology**, v. 131, n. 2, p. 176–184, 2003.
- DUNCAN, W. L. PAXIUBA et al. O vitelo residual e sua importância para o manejo dos quelônios aquáticos recém-eclodidos. In: ANDRADE, P. C. M. (Ed.). . **Manejo**

Comunitário de quelônios: Projeto Pé-de-pincha. Manaus: Graf. Moderna, 2012. p. 764.

DUNSON, W. A. Sodium fluxes in fresh-water turtles. **Journal of Experimental Zoology**, v. 165, n. 2, p. 171–182, 1967.

ECKERT, K. L. et al. Reproductive Cycles and Endocrinology. In: ECKERT, K. L. et al. (Eds.). . **Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles**. 4. ed. Washington: Marine Turtle Specialist Group, 1999.

FELDMAN, M. L. Some options to induce oviposition in turtles. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 6, n. 2, p. 313–320, 2007.

FERRARA, C. R. et al. **Quelônios Amazônicos: Guia de identificação e distribuição.** Manaus: WSC, 2017. 182 p.

FRENEAU, G. E. et al. Gonadotrophic, prolactin, corticosterone, and gonadal hormones levels over 15 months in Giant Amazon River Turtles - *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) (Testudines: Podocnemididae), in captive conditions. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 2, p. 347–355, 2017.

GARCEZ, J. R. **Comercialização e reprodução da tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) e do tracaçá (*Podocnemis unifilis*) em cativeiro no estado do Amazonas.** Monografia - Universidade Federal do Amazonas, 2009.

GIST, D. H. et al. Estrogen response system in the reproductive tract of the male turtle: An immunocytochemical study. **General and Comparative Endocrinology**, v.151, p. 27–33, 2007.

GRUMMER, R. R.; CARROLL, D. J. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. **Journal of animal science**, v. 66, n. 12, p. 3160–3173, 1988.

HAMANN, M. et al. Interactions among endocrinology, seasonal reproductive cycles and the nesting biology of the female green sea turtle. **Marine Biology**, v. 140, n. 4, p. 823–830, 2002.

HAMANN, M. et al. Regional and annual variation in plasma steroids and metabolic indicators in female green turtles, *Chelonia mydas*. **Marine Biology**, v. 148, n. 2, p. 427–433, dez. 2005.

HARDEN, L. A. et al. Blood biochemical reference intervals for wild ornate box turtles (*Terrapene ornata*) during the active season. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 54, n. 3, p. 587–591, 2018.

HECK, J. et al. Estrogen induction of plasma vitellogenin in the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 107, n. 2, p. 280–288, 1997.

IKONOMOPOULOU, M. P. et al. Hormone and Metabolite Profiles in Nesting Green and Flatback Turtles: Turtle Species with Different Life Histories. **Advances in Zoology**, p. 1–9, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS - IBAMA. **Manejo conservacionista e monitoramento populacional de quelônios amazônicos.** Brasília: IBAMA, 2016. 136 p.

- JESSOP, T. S. et al. Interplay between plasma hormone profiles, sex and body condition in immature hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) subjected to a capture stress protocol. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 137, n. 1, p. 197–204, 2004.
- KOLANDAIVELOO, V. et al. Endoscopy gender determination and reproductive hormone profiles of Painted Terrapins (*Batagur borneoensis*) subjected to ex situ incubation. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 1, p. 1–21, 2020.
- KUCHLING, G. Possible Biennial Ovarian Cycle of the Freshwater Turtle *Erymnochelys madagascariensis*. **Journal of Herpetology**, v. 27, n. 4, p. 470–472, 1993.
- KUCHLING, G. **The Reproductive Biology of the Chelonia**. 1. ed. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1999. 223 p.
- KUNZE, P. E. et al. Pre-analytical factors affecting whole blood and plasma glucose concentrations in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). **Plos one**, v. 15, n. 3, p. 1–16, 2020.
- LICHT, P.; KHORRAMI-YAGHOUBI, P.; PORTER, D. A. Effects of gonadectomy and steroid treatment on plasma gonadotropins and the response of superfused pituitaries to gonadotropin-releasing hormone in the turtle *Sternotherus odoratus*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 60, n. 3, p. 441–449, 1985.
- LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. **The biology of sea turtles**. Volume II ed. Washington, DC: CRC Marine Sciences Serie, Boca Raton, 1997.
- MAHMOUD, I. Y. et al. Detection of low plasma estradiol concentrations in nesting green turtles (*Chelonia mydas*) by HPLC/Ms-Ms. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 315 A, n. 3, p. 170–174, 2011.
- MARTÍNEZ-SILVESTRE, A.; LAVIN, S.; CUENCA, R. La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. **Consulta de difusión veterinária**, v. 200, p. 31–40, 2013.
- MARTÍNEZ, E. O. et al. Inventario de la tortuga Arrau, *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) en zoológicos de Venezuela. Valores referenciales del hemograma y la bioquímica sérica. **Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia**, v. 17, n. 5, p. 433–440, 2007.
- MCPHERSON, R. J. et al. Plasma Steroids Associated with Seasonal Reproductive Changes in a Multiclutched Freshwater Turtle, *Sternotherus odoratus*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 48, p. 440–451, 1982.
- MENDONÇA, M. T.; LICHT, P. Seasonal cycles in gonadal activity and plasma gonadotropin in the musk turtle, *Sternotherus odoratus*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 62, n. 3, p. 459–469, 1986.
- NORRIS, D. O.; LOPEZ, K. H. **Hormones and Reproduction of Vertebrates. Volume 3: Reptiles**. 1. ed. San Diego, CA: Elsevier B.V., 2011. 406 p.
- OLIVEIRA, A. S. et al. Effects of fasting and refeeding on the metabolic functions of the turtle *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) raised in captivity. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 33, n. 8, p. 1041–1044, 2013.
- OWENS, D. W. Hormones in the life history of sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Eds.). **The Biology of Sea Turtles, Volume I**. Florida: CRC Press, Boca Raton,

1997. p. 315–341.

PEREIRA, P. V. R. **Perfil bioquímico sérico de jabutis *Chelonoidis carbonaria***. Dissertação - Universidade Federal de Uberlândia, 2015.

PERPIÑÁN, D. Chelonian haematology 1. Collection and handling of samples. **In Practice**, v. 39, n. 5, p. 194–202, 2017.

POLICH, R. L. Fluctuating Hormone Levels during Reproduction in Freshwater Turtles. **Journal of Herpetology**, v. 52, n. 1, p. 74–78, mar. 2018.

RAI, U.; HAIDER, S. Testis and epididymis of the indian wall lizard (*Hemidactylus flaviviridis*): Effects of flutamide on FSH and testosterone influenced spermatogenesis, Leydig Cell, and Epididymis. **Journal of Morphology**, v. 209, n. 2, p. 133–142, 1991.

ROSTAL, D. C. et al. Nesting physiology of Kemp's Ridley Sea Turtles, *Lepidochelys kempi*, at Rancho Nuevo, Tamaulipas, Mexico, with observations on population estimates. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 2, n. 4, p. 538–547, 1997.

ROSTAL, D. C. et al. Seasonal reproductive cycle of the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 109, n. 2, p. 232–243, 1998.

ROSTAL, D. C. et al. Changes in gonadal and adrenal steroid levels in the leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) during the nesting cycle. **General and Comparative Endocrinology**, v. 122, n. 2, p. 139–147, 2001.

RUEDA-ALMONACID, J. V. et al. **Las tortugas y los crocodylia de los países andinos Del Trópico: manual para su identificación**. 6. ed. Bogotá, Colômbia: Conservation International, 2007. 467 p.

SANTOS, A. L. Q. et al. Variação dos constituintes bioquímicos sanguíneos de tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, schweigger, 1812) (testudinata) mantidas em criatório comercial. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 1–8, 2005.

SCHROEDER, A.; RHEN, T. Role for androgens in determination of ovarian fate in the common snapping turtle, *Chelydra serpentina*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 281, p. 7–16, 15 set. 2019.

SÖZBİLEN, D.; KASKA, Y. Biochemical blood parameters and hormone levels of foraging, nesting, and injured loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in Turkey. **Turkish Journal of Zoology**, v. 42, n. 3, p. 287–296, 2018.

SWIMMER, J. Y. Biochemical responses to fibropapilloma and captivity in the green turtle. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 36, n. 1, p. 102–110, 2000.

TADA, N. et al. A field study on serum vitellogenin levels in male Reeves' pond turtles (*Chinemys reevesii*) from estrogen-contaminated sites and a reference site. **Science of the Total Environment**, v. 384, n. 1–3, p. 205–213, 2007.

THOMPSON, M. B. et al. Changes in fatty acid profiles and in protein, ion and energy contents of eggs of the Murray short-necked turtle, *Emydura macquarii* (Chelonia, Pleurodira) during development. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 122, n. 1, p. 75–84, 1999.

VALENTE, A. L. S. et al. Reproductive status of captive Loggerhead sea turtles based

on serum levels of gonadal steroid hormones, corticosterone and thyroxin. **Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 255–259, fev. 2011.

VIANA, D. C. et al. Plasma testosterone and seasonal reproductive changes in the scorpion mud turtle. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 46, n. 6, p. 1641–1650, 2014.

VOGT, R. C. **Tartarugas da Amazônia**. Lima, Peru: 2008. 104 p.

WYNEKEN, J.; GODFREY, M. H.; BELS, V. **Biology of Turtles: From Structures to Strategies of Life**. 2007. 406 p.