

CARACTERIZAÇÃO DOS NINHOS E IDENTIFICAÇÃO SEXUAL DE *Podocnemis expansa*, TARTARUGA-DA-AMAZÔNIA



Revista
Desafios

Artigo Original
Original Article
Artículo Original

NESTS CHARACTERIZATION AND SEXUAL IDENTIFICATION OF *Podocnemis expansa*, AMAZON TURTLE

CARACTERIZACIÓN DE NIDOS E IDENTIFICACIÓN SEXUAL DE *Podocnemis expansa*, TORTUGA AMAZONICA

Ana Karla Gonçalves Kagueiama¹, Adriana Malvasio², Heitor Campos de Sousa³, Fábio de Jesus Castro⁴, Adson Gomes de Ataídes⁵, Roberto Leandro da Silva⁶

¹Laboratório de Ecologia e Zoologia, Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil.

²Laboratório de Ecologia e Zoologia, Docente do Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil.

³Laboratório de Ecologia e Zoologia, Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciências do Ambiente, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil.

⁴Docente do Curso de Biologia a distância, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil.

⁵Laboratório de Ecologia e Zoologia, Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciências do Ambiente, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil.

⁶Coordenador de Fauna, Norte Energia S. A., Vitória do Xingu, PA, Brasil.

*Correspondência: Laboratório de Ecologia e Zoologia da UFT, Universidade Federal do Tocantins, Av. NS 15, 109 Norte, Palmas, Tocantins, Brasil. CEP:77.010-090.

Artigo recebido em 26/06/2021 aprovado em 05/01/2022 publicado em 10/04/2022.

RESUMO

As alterações climáticas e os impactos que o planeta vem sofrendo com as ações humanas, tornam os monitoramentos ecológicos e da biodiversidade imprescindíveis. Estudos sobre determinação sexual dependente da temperatura de incubação dos ovos, em quelônios, apresentam vários desafios, sendo um deles relacionado à identificação sexual dos filhotes. As características morfológicas externas dos recém-eclodidos de *Podocnemis expansa*, que evidenciam o dimorfismo sexual, só vão ser perceptíveis após alguns anos de vida. O estudo histológico das gônadas é um meio confiável para diferenciar machos e fêmeas em filhotes. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência de aspectos físicos e geomorfológicos dos ninhos de *P. expansa* e relacioná-los com a determinação sexual da espécie nas praias do Rio Xingu/PA. A análise histológica resultou na razão sexual de 0,17:1 machos/fêmeas, totalizando 103 machos, 609 fêmeas e 60 não identificados. Áreas de nidificação com frações granulométricas menores (fina/média fina) e temperatura média de incubação mais baixa, apresentaram maior número de machos. Houve predominância de fêmeas em temperaturas mais altas, onde a fração granulométrica foi maior (média/grossa). A morfometria geométrica da carapaça dos filhotes identificou diferenças morfométricas entre machos e fêmeas, resultados que podem diminuir a quantidade de filhotes eutanasiados destinados à histologia.

Palavras-chave: Determinação Sexual, Temperatura de Incubação, Quelônios.

ABSTRACT

Climate change and the impacts that the planet has been suffering from human actions make ecological and biodiversity monitoring essential. Studies on egg incubation temperature-dependent sex determination in turtles present several challenges, one of which is related to the sexual identification of hatchlings. The external morphological characteristics of newly hatched *Podocnemis expansa*, which show sexual dimorphism, will only be noticeable after a few years of life. Histological study of the gonads is a reliable way to differentiate males and females in hatchlings. This study aimed to evaluate the influence of physical and geomorphological aspects of *P. expansa* nests and relate them to the sex determination of the species on the beaches of the Rio Xingu/PA. Histological analysis resulted in a sex ratio of 0.17:1 males/females, totaling 103 males, 609 females and 60 unidentified. Nesting areas with smaller particle size fractions (fine/fine average) and lower average incubation temperature had a higher number of males. There was a predominance of females at higher temperatures, where the particle size fraction was higher (medium/coarse). Geometrical morphometry of the hatchlings's carapace identified morphometric differences between males and females, results that may reduce the number of euthanized offspring destined for histology.

Keywords: Sexual Determination, Incubation Temperature, Chelonians.

RESUMEN

El cambio climático y impactos que viene sufriendo el planeta por acción humana hacen imprescindible estudios ecológicos. Investigaciones sobre la determinación del sexo dependiente de la temperatura de incubación de los huevos en tortugas presentan varios desafíos, uno de ellos es relacionado con la identificación sexual de la descendencia. Las características morfológicas externas de *Podocnemis expansa* recién nacidas, que muestran dimorfismo sexual, solo se notarán después de algunos años de vida. El estudio histológico de las gónadas es una forma confiable de diferenciar machos y hembras en la descendencia. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la influencia de aspectos físicos y geomorfológicos en nidos de *P. expansa* y relacionarlos con la determinación del sexo de la especie, en las playas del Río Xingu/PA. El análisis histológico resultó en una proporción de 0.17: 1 machos/hembras. Las áreas de anidación con fracciones de tamaño de partícula más pequeñas y una temperatura de incubación promedio más baja tuvieron un mayor número de machos. Predominó las hembras a temperaturas más altas, donde la fracción de tamaño de partícula fue mayor. La morfometría geométrica del caparazón identificó diferencias morfométricas entre machos y hembras, resultados que pueden reducir el número de crías sacrificadas destinadas para histología.

Descriptores: Determinación sexual, Temperatura de incubación, Quelonios

INTRODUÇÃO

A Floresta Amazônica é o maior bioma brasileiro, com importante diversidade biótica, clima tropical tipicamente quente e alta pluviosidade (EMBRAPA, 2006). A combinação de diferentes fitofisionomias e relevos resulta em uma variedade de ambientes que permitem uma herpetofauna (répteis e

anfíbios) com alta biodiversidade (ICMBio, 2012). Estima-se a ocorrência de 240 espécies de répteis só para a região da Amazônia brasileira (MORATO et al., 2018), sendo 36, considerando os quelônios amazônicos (BALESTRA, 2016).

Podocnemis expansa, conhecida popularmente por Tartaruga-da-Amazônia é a maior espécie do

gênero *Podocnemis*, essencialmente aquática, possui coloração marrom, cinza e verde-oliva e tem carapaça achatada, mais larga na região posterior (VOGT, 2008) e pode atingir 107 cm de comprimento e pesar 90kg de acordo com Ernst & Barbour (1989, p. 6) conforme citado por Malvasio et al. (2019, p. 78). No final da estação seca, os animais que já atingiram a idade adulta (maturidade sexual) vão para as praias de rios em busca de sítios de nidificação (VANZOLINI, 2003).

Ao descobrir que a determinação sexual do lagarto *Agama agama* é controlada pela temperatura de incubação dos ovos, estudos da década de 1960 constataram que a vulnerabilidade dos répteis se encontra desde antes da eclosão e tem momentos críticos durante a incubação. Com isso foi possível iniciar um novo campo de pesquisa, que inclui alguns fatores climáticos como determinantes da razão sexual em várias espécies do grupo (CHARNIER, 1966). Hoje, sabe-se que a temperatura durante a incubação é o elemento principal da determinação sexual de inúmeras espécies de quelônios. Essa temperatura tem relação com algumas características do ninho, como por exemplo, as geomorfológicas, destacando-se a granulometria dos sedimentos que o compõe. Uma determinada faixa de temperatura pode produzir apenas machos e outra, somente fêmeas, existindo um intervalo em que ambos os sexos são gerados igualmente, intervalo esse denominado temperatura pivotal. Em *P. expansa*, a temperatura pivotal encontrada foi de 32,9°C (FERREIRA JUNIOR, 2009).

Estudos sobre determinação sexual dependente da temperatura de incubação dos ovos, em quelônios, apresentam vários desafios, sendo um deles relacionado à identificação sexual dos filhotes. As características morfológicas externas dos recém-eclodidos de *Podocnemis expansa*, que evidenciam o

dimorfismo sexual, só vão ser perceptíveis após alguns anos de vida. O estudo histológico das gônadas é o meio mais confiável para diferenciar machos e fêmeas em filhotes (FERREIRA JUNIOR, 2009).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de aspectos físicos e geomorfológicos dos ninhos de *P. expansa* e relacioná-los com a determinação sexual da espécie nas praias do Rio Xingu no Pará, próximas a Usina Hidrelétrica de Belo Monte.

MATERIAIS E MÉTODOS

A primeira etapa do estudo ocorreu em praias do Rio Xingu, especialmente no Tabuleiro do Embaubal, localizado no município de Altamira e Senador José Porfírio, PA (2°54'01,2''S 51°54'21,1''O 2°35'44,6''S 51°59'39,9''O). Durante o desenvolvimento embrionário dos filhotes da temporada reprodutiva de 2018, foram utilizados termógrafos (dataloggers) para registrar temperatura, um registrador por ninho, com o sensor inserido na porção lateral da câmara de ovos, no meio da câmara, considerando a altura, sendo 30 ninhos no total. Para a análise geomorfológica, amostras de sedimentos coletados na lateral dos ninhos passaram pelo processo de peneiramento a fim de se obter a granulometria baseando-se nas oito seguintes classes granulométricas: seixo (>4,0mm), grânulo (4,0mm a 2,0mm), areia muito grossa (2,0mm a 1,0mm), areia grossa (1,0mm a 0,5mm), areia média (0,5mm a 0,25mm), areia fina (0,25mm a 0,125mm), areia muito fina (0,125mm a 0,065mm) e silte e argila (<0.065mm), segundo Folk (1974) como citado por Malvasio (2002). Estes dados de temperatura e granulometria foram fornecidos pela Norte Energia pela parceria no projeto já existente.

A metodologia utilizada para o levantamento de dados no Laboratório de Ecologia e Zoologia da UFT durante os anos de 2019 e 2020, consistiu na dissecação dos indivíduos (sendo aproximadamente 30 representantes de cada ninho, totalizando 845 filhotes de *P. expansa*) já capturados e eutanasiados, abrindo o plastrão com bisturi e com o auxílio de uma pinça para visualizar e identificar as gônadas. Após a identificação da gônada, esta foi retirada com o mínimo de manuseio possível, para que não houvesse nenhum dano ao tecido.

Logo após a retirada das gônadas, foi realizado o procedimento histológico para o preparo das lâminas, utilizando-se a coloração de Hematoxilina e Eosina de acordo com Behmer (1976) in Malvasio et al. (2012). Em seguida foram envolvidas em papel filtro, reservadas em um cassete e por fim conservadas em formalina 10%. O estudo das lâminas histológicas em microscópio seguiu os procedimentos de Malvasio et al. (2012), sendo que os parâmetros para a identificação sexual dos espécimes foram a presença de folículos ovarianos em fêmeas e de túbulos seminíferos em machos.

Associado ao estudo histológico das gônadas, foi realizada a análise da morfometria geométrica da carapaça dos filhotes submetidos a essa avaliação histológica. Neste estudo, a partir das fotos de 560 filhotes de *P. expansa*, foram marcados 30 pontos em cada uma, seguindo uma ordem simétrica, nas junções dos escudos que formam essa carapaça (Figura 1) e posteriormente analisada as distâncias entre esses pontos, constatando se haviam diferenças entre machos e fêmeas, de acordo com Valenzuela (2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os dados correspondentes aos ninhos dos indivíduos de *P. expansa*.

Foi realizado o estudo microscópico de 772 lâminas histológicas, dentre elas, identificamos o total de 103 machos, 609 fêmeas e 60 não identificados. Portanto, a razão sexual foi de 0,17:1 (em média) machos/fêmeas, sendo a produção de fêmeas 6 vezes maior que a de machos.

É importante ressaltar que um maior número de fêmeas nas populações pode contribuir positivamente em termos de conservação, pois um macho pode copular com mais de uma fêmea. Vale apontar também que as fêmeas adultas estão mais expostas ao risco de predação tanto natural quanto antrópica na época reprodutiva, pois saem dos rios para nidificar no ambiente terrestre, facilitando a captura (SALERA JR et al., 2009; PORTELINHA et al., 2014) in Malvasio et al. (2019, p. 86).

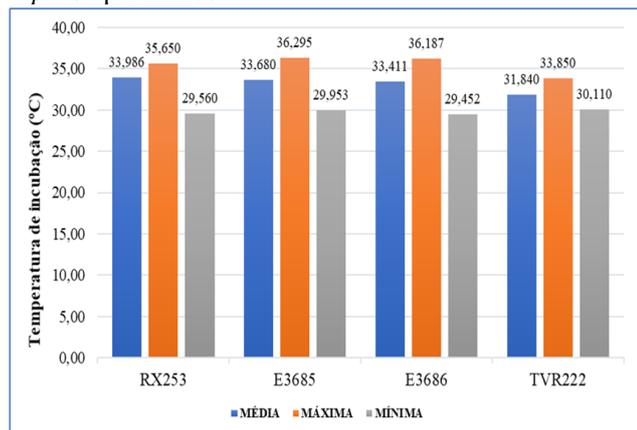
Dentre os ninhos que apresentavam termógrafos instalados, foi possível analisar os registros de temperatura de quatro deles (Gráfico 1) sendo que apresentavam os códigos RX253, E3685, E3686 e TVR222.

Ao relacionar os dados granulométricos apresentados na Tabela 1, com os dados de temperatura no Gráfico 1, tendo como base a temperatura pivotal (intervalo no qual ocorre a produção de machos e fêmeas igualmente) de 32,9°C de acordo com Ferreira Junior (2009), pode-se observar um resultado condizente com a literatura. Numa temperatura média de incubação menor onde se encontra granulometria fina/muito fina, ocorre um maior número de indivíduos machos. Enquanto nas demais áreas houve predominância de fêmeas, onde as médias de temperatura de incubação são mais altas em frações granulométricas (média/grossa) maiores. Foi possível então demonstrar a influência das diferenças de temperatura entre as faixas granulométricas e na razão sexual de *P. expansa*.

Tabela 1. Apresentação da quantidade de machos e fêmeas por ninho e as classes granulométricas identificadas em cada um deles.

	NINHOS	MACHOS	FÊMEAS	SEXO NÃO IDENTIFICADO	GRAN. DA AREIA
1	E3554	1	13	7	fina/media
2	E3685	-	28	1	média/grossa
3	E3686	-	17	1	média/grossa
4	JC01	-	10	4	média/fina
5	E3189	11	11	2	média/fina
6	E3772	-	3	2	média/grossa
7	E3809	1	13	1	média/grossa
8	PB09	2	25	3	média/grossa
9	PB10	6	22	2	média/grossa
10	PB11	1	28	1	média/grossa
11	PB12	10	15	5	média/grossa
12	PB13	-	26	-	média/grossa
13	PB14	14	13	2	média/grossa
14	PB15	3	25	2	média/grossa
15	PB16	-	30	-	média/grossa
16	PB17	1	28	-	média
17	PB18	2	6	1	média/grossa
18	PB19	1	27	-	média/grossa
19	PB20	1	27	1	média/grossa
20	PB21	7	21	2	média/grossa
21	PB22	-	27	-	média/grossa
22	PB23	-	24	3	média/grossa
23	PB24	-	30	-	média/grossa
24	PB25	2	19	6	média/grossa
25	PB26	-	27	-	média/grossa
26	PB27	4	24	2	média/grossa
27	PB28	5	8	10	média/grossa
28	PB29	2	28	-	média/fina
29	RX253	1	27	1	média/fina
30	TVR222	28	1	1	fina/muito fina

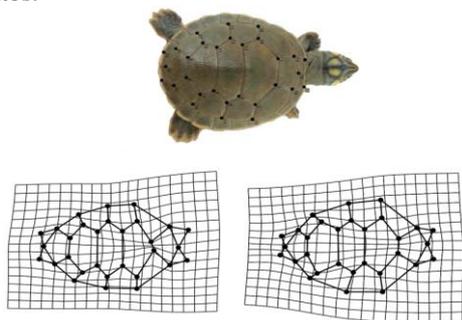
Gráfico 1: Dados de temperaturas médias, máximas e mínimas alcançadas durante incubação dos ovos de *P. expansa* por ninhos.



No estudo da morfometria geométrica da carapaça dos filhotes submetidos à análise histológica, identificou-se dimorfismo sexual relevante nos indivíduos. Os machos tendem a apresentar o primeiro escudo vertebral e o primeiro par de escudos marginais mais compridos do que as fêmeas. E as fêmeas terem a sutura que une o quarto e o quinto escudos vertebrais mais alargada do que machos (Figura 1).

Tal técnica mostra-se adequada para a identificação sexual de filhotes de quelônios recém-eclodidos, mas a validação desses resultados ainda depende de uma confirmação por histologia das gônadas de pelo menos um subconjunto desses espécimes (VALENZUELA, 2004). Esta metodologia, se consolidada, permitirá um estudo menos invasivo e uma redução significativa no número de filhotes eutanasiados para o estudo histológico.

Figura 1: Representação dos marcos nos escudos da carapaça de um espécime de *P. expansa*. Os planos geométricos na parte inferior demonstram o dimorfismo sexual identificado, fêmeas (esquerda) e machos (direita). Ambas imagens apresentam mesmo sentido de marcação dos pontos.



CONCLUSÃO

Foi possível então demonstrar a influência das diferenças de temperatura entre as faixas granulométricas e na razão sexual de *P. expansa*. A técnica de morfometria geométrica se mostrou adequada para a identificação sexual de filhotes de quelônios recém-eclodidos, e mesmo que ainda necessite de uma validação histológica para esses resultados, se consolidada essa metodologia, um estudo menos invasivo e uma redução significativa no número de filhotes eutanasiados será possível.

AGRADECIMENTO

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil. Agradeço também à Norte Energia S.A. pelo apoio logístico e autorização de uso dos dados.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

- BALESTRA, R.A.M. **Manejo Conservacionista e Monitoramento Populacional de Quelônios Amazônicos**. 2 ed. Brasília; Ibama, 2016.
- CHARNIER, M. **Action de la temperature sur la sex-ratio chez l'embryon d'Agamma agama (Agamidae, Lacertilien)**. Soc. Biol. Ouest Afric, v.160, n.3, p.620-622, 1966.
- EMBRAPA. **A Embrapa nos biomas brasileiros**. Brasília, DF, 2006.
- FERREIRA JUNIOR, P. **Aspectos ecológicos da determinação sexual em tartarugas**. Acta Amaz, v.39, n.1, p.139-154, 2009.
- ICMBio. **Plano de Manejo Participativo Reserva Extrativista Rio Xingu**. Altamira, PA, 2012
- MALVASIO, A.; SEGUNDO, J.P.B.S.; JÚNIOR, G.S.; ATAÍDES, A.G.; MONTELO, K.M.; KARAJÁ, A.I.D.A.; LOPES, T.K.M.; PRADO, T.R.L.; PORTELIHA, T.C.G. **Biologia populacional e reprodutiva de *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* no Parque Nacional do Araguaia, Tocantins: um histórico entre os anos de 2004 e 2012**. In:

PINHEIRO, R.T. (org). **Biodiversidade na Região da Ilha do Bananal/Cantão**. Palmas: EDUFT, 2019. Cap 5, p. 77-102.

MALVASIO, A.; MOREIRA, J.; DIAS, H.; GOMES, A.; COSTA, T. **Morfometria e histologia das gônadas de machos e fêmeas recém-eclodidos de *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae)**. Acta Scientiarum. Biological Sciences, v.34, n.1, 2012.

MALVASIO, A.; SOUZA, A.M.; JÚNIOR, P.D.F.; REIS, E.S.; SAMPAIO, F.A.A. **Temperatura de incubação dos ovos e granulometria dos sedimentos das covas relacionadas a determinação sexual em *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) e *P. unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines, Pelomedusidae)**. Publicações Avulsas do Instituto Pau Brasil de História Natural, Arujá, n.5, p.11-25, 2002.

MORATO, S.; FERREIRA, G., SCUPINO, M. **Herpetofauna da Amazônia Central: Estudos na FLONA de Saracá-Taquera**. Curitiba, PR. 2018.

VALENZUELA, N.; ADAMS, D.; BOWDEN, R.; GAUGER, A. **Geometric Morphometric Sex Estimation for Hatchling Turtles: A Powerful Alternative for Detecting Subtle Sexual Shape Dimorphism**. Copeia, n.4, p.735-742, 2004.

VANZOLINI, P. **On clutch size and hatching success of the South American turtles *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) e *P. unifilis* Troschel 1848 (Testudines: Podocnemididae)**. Anais da Academia Brasileira de Ciências, p.415-430, 2003.

VOGT, R. **Tartarugas da Amazônia**. Lima, Peru. 2008.