



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PORTO NACIONAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE, ECOLOGIA E**  
**CONSERVAÇÃO**

**ANÁLISE DO DIMORFISMO SEXUAL EM RECÉM-ECLODIDOS DE**  
***PODOCNEMIS EXPANSA* (SCHWEIGGER, 1812)**

**WELLOYANE PÁTTLA BARROS DE SOUZA GOMES**

**PORTO NACIONAL – TOCANTINS**  
**2019**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

G633a Gomes, Welloyane Páttila Barros de Souza .  
ANÁLISE DO DIMORFISMO SEXUAL EM RECÉM-ECLODIDOS DE  
PODOCNEMIS EXPANSA (SCHWEIGGER, 1812). / Welloyane Páttila Barros  
de Souza Gomes. – Porto Nacional, TO, 2019.  
34 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins  
– Câmpus Universitário de Porto Nacional - Curso de Pós-Graduação  
(Mestrado) em Biologia, Ecologia e Conservação, 2019.  
Orientadora : Adriana Malvasio

1. Dimorfismo sexual em quelônios . 2. Identificação sexual. 3. Morfometria  
Geométrica . 4. Histologia . I. Título

CDD 577

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer  
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.  
A violação dos direitos do autor (Lei n° 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184  
do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

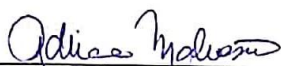
Welloyane Páttila Barros de Souza Gomes

**ANÁLISE DO DIMORFISMO SEXUAL EM RECÉM-ECLODIDOS DE  
*PODOCNEMIS EXPANSA* (SCHWEIGGER, 1812)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ecologia e Conservação. Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ecologia e Conservação e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 01/03/2019

Banca Examinadora:



Prof.ª. Dr.ª. Adriana Malvasio (Orientadora), UFT



Prof.º. Dr.º. Thiago Costa Gonçalves Portelinho, UFT



Prof.º. Dr.º. Waldesse Pirage de Oliveira Junior, UFT

Porto Nacional, 2019

WELLOYANE PÁTTILA BARROS DE SOUZA GOMES

ANÁLISE DO DIMORFISMO SEXUAL EM RECÉM-ECLODIDOS DE *PODOCNEMIS*  
*EXPANSA* (SCHWEIGGER, 1812)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ecologia e Conservação.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Adriana Malvasio

PORTO NACIONAL – TOCANTINS

2019

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele nada disso seria possível. Foi ele quem me concedeu toda força, paciência, discernimento, sabedoria e tantas outras virtudes necessárias para que eu chegasse até aqui.

A minha mãe Maria Eliene Barros de Souza e meu marido Dyeson Castro de Freitas, em meio tantas dificuldades que enfrentei ao longo desse período, estiveram sempre ao meu lado ajudando a superá-las com o maior, mais verdadeiro, paciente e obstinado amor que só eles têm por mim.

Aos meus familiares, pelas orações, por compreenderem minha ausência e torcerem pelo meu sucesso.

À professora Dr<sup>a</sup>. Adriana Malvasio, um ser humano de uma paciência e humanidade inigualável. Obrigada pela oportunidade, confiança, orientação e conhecimento compartilhado.

Ao professor Dr. Rafael, um apaixonado pelo conhecimento e um ser humano que dispensa comentários. Obrigada pelo anseio em buscarmos juntos aos conhecimentos morfométricos.

Ao professor Dr. Paulo Lucinda, nossas discussões foram de fundamental importância para a compreensão do estudo morfométrico.

À Professora Dr. Josefa Nascimento, pelos ensinamentos referentes ao estudo histológico e pela orientação na leitura das lâminas.

Ao Otávio Barros, pela ajuda prestada no estudo histológico.

Ao Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos (ITPAC) - Porto Nacional, pela disponibilização do Laboratório de Histopatologia.

À empresa Norte Energia S/A, pela concessão dos dados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado, a qual foi de extrema importância para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Sisbio, pela concessão da licença para execução do presente trabalho.

Ao grupo de pesquisa CroQue (Quelônios e Crocodilianos da Região Norte), em especial ao Adson, pelo conhecimento e experiências compartilhadas.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ecologia e Conservação (PPGBEC), por me proporcionarem crescimento intelectual, em especial, ao Wagner de Melo por tantas ajudas e conselhos. À Ana Paula, secretária do PPGBEC, pela ajuda com toda a parte burocrática e disposição em ajudar sempre.

E a todos os meus amigos, que além do apoio, me proporcionaram momentos de descontração. Principalmente àqueles que me ensinaram a priorizar minha saúde mental e minha vida pessoal, independente das responsabilidades que eu tenha. De modo especial, aqueles que mais conviveram comigo nesses dois anos e que direta ou indiretamente me ajudaram nessa conquista. Muito obrigada Kerliane, Sirley, Eveny, Marco Aurélio, Jaderson, Paulo, Deyla, Mariza e Leila.

*“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de alguém.” (Dalai Lama).*

## RESUMO

A maioria dos filhotes de quelônios não apresentam dimorfismo sexual, essa problemática também é enfrentada por *Podocnemis expansa*, sendo necessária a utilização de métodos invasivos ou até mesmo a eutanásia dos indivíduos para a sexagem. Tendo em vista que essa espécie possui um longo histórico de declínio populacional e que a proporção sexual é uma variável importante para subsidiar práticas de conservação e manejo, o presente estudo objetivou analisar a eficiência da morfometria geométrica na sexagem de recém-eclodidos de *P. expansa*, comparando com a sexagem histológica dos mesmos. Foram utilizados 78 espécimes, provenientes de ninhos naturais localizados ao longo do rio Xingu, entre os municípios de Vitória do Xingu e Senador José Porfírio, sudoeste do Estado do Pará, Brasil. Para a análise morfométrica cada espécime teve a carapaça fotografada e os softwares TPSUtil, TPSDig2 e TPSRelw foram utilizados para gerar a matriz de dados utilizada nas análises. O estudo histológico consistiu na retirada das gônadas e posterior identificação sexual por meio de microscopia óptica. A análise dos dados foi realizada pelo Programa Past 2.17. O resultado da análise histológica revelou a presença de 38 fêmeas e 40 machos. Por meio da análise morfométrica foi possível identificar com precisão o sexo de aproximadamente 50% dos indivíduos. Assim, com base nos testes realizados, essa técnica não apresentou resultados satisfatórios que pudessem substituir ou mesmo reduzir a utilização de método histológico para sexagem em indivíduos recém-eclodidos de *P. expansa*. Portanto, a histologia apresentou-se como a melhor ferramenta para a identificação do sexo na população estudada da referida espécie de quelônio.

**Palavras-Chave:** Quelônios amazônicos, Morfologia, Tartaruga-da-amazônia.



## ABSTRACT

Most chelonian pups do not have sexual dimorphism. This condition is also faced by *Podocnemis expansa*, requiring the use of invasive methods or even euthanasia of individuals for sexing. Considering that this species has a long history of population decline and that sex ratio is an important variable to support conservation and management practices, the present study aimed to analyze the efficiency of geometric morphometry in the sexing of newly hatched *P. expansa* individuals when compared to their histological sexing. A total of 78 specimens from natural nests located along the Xingu River, between Vitória do Xingu and Senador José Porfírio Counties, in the southwestern part of the State of Pará, Brazil, were used. For the morphometric analysis each specimen had its carapace photographed and the softwares TPSUtil, TPSDig2 and TPSRelw were used to generate the data matrix used in the analyses. For the histological study the specimens had their gonads removed and sexual identification was performed by means of light microscopy. Data analyses were conducted in the Past 2.17 software. The histological analysis revealed the presence of 38 female and 40 male specimens. The morphometric analysis provided accurate sexual identification for approximately 50% of the specimens. Thus, base on the performed tests, this technique did not generate satisfactory results that could replace or even reduce the use of the histological studies for the sexing of newly hatched *P. expansa* individuals. Therefore, histology turned out to be the best tool for identifying the sex in the assessed population of the studied chelonian species.

**Keywords:** Amazonian chelonians, Morphology, Amazonian turtle.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Obtenção dos dados .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 Área de estudo .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3 Análise morfométrica da carapaça .....</b>	<b>14</b>
<b>2.4 Análise histológica das gônadas .....</b>	<b>15</b>
<b>2.5 Análises estatísticas .....</b>	<b>16</b>
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>17</b>
<b>3.1 Morfometria geométrica da carapaça .....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Histologia das gônadas .....</b>	<b>18</b>
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>23</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>24</b>
<b>ANEXO A – LICENÇA DO PRESENTE ESTUDO .....</b>	<b>28</b>
<b>ANEXO B – LICENÇA DA EMPRESA NORTE ENERGIA S/A .....</b>	<b>31</b>

## 1 INTRODUÇÃO

São conhecidas mundialmente cerca de 10.793 espécies de répteis, das quais 795 estão presentes em território brasileiro (COSTA, BÉRNILS, 2018; UETZ, HOŠEK, 2019). Os répteis existentes, encontram-se alocados nos clados Archosauria (crocodilianos e aves), Testudines (quelônios) e Lepidosauria (tuataras, serpentes, lagartos e anfisbêneas) (VITT; CALDWELL, 2014). Destes, a ordem Testudines, também conhecida como Chelonia compreende os mais antigos, com sua origem datando cerca de 240 milhões de anos (ERNEST, BARBOUR, 1989; SCHOCH, SUES, 2015), sendo composta atualmente por 351 espécies, divididas em 14 famílias (VAN DIJK et al., 2014; UETZ, HOŠEK, 2019). Os representantes dos quelônios são popularmente conhecidos como tartarugas, cágados e jabutis e caracterizam-se pela presença do casco, em que a parte dorsal é denominada carapaça e a parte ventral plastrão (DAVENPORT et al., 2011).

O Brasil está entre os cinco países que possuem maior riqueza de quelônios, com 36 espécies, das quais 17 ocorrem na Amazônia (VAN DIJK et al., 2014). A família Podocnemididae possui 8 representantes aquáticos, distribuídos no norte da América do Sul e em Madagascar (POUGH; CHRISTI; JOHN, 2008). O gênero *Podocnemis* ocorre na América do Sul e compreende seis espécies viventes: *Podocnemis expansa*, *Podocnemis unifilis*, *Podocnemis sextuberculata*, *Podocnemis erythrocephala*, *Podocnemis lewyana* e *Podocnemis vogli*, onde as quatro primeiras são amplamente distribuídas na Amazônia Brasileira (ERNEST; BARBOUR, 1989).

As populações de quelônios amazônicos, sobretudo as de *P. expansa*, possui longo histórico de declínio em decorrência de fatores intrínsecos, como por exemplo a maturação sexual tardia e a elevada taxa de mortalidade em embriões e filhotes, o que implica em baixo recrutamento; e de fatores extrínsecos como a predação natural e a intensa pressão antrópica, seja em razão da sobre-exploração (para fins alimentícios, econômicos e/ou culturais) ou em decorrência da perda de habitat (principalmente devido à expansão das atividades agropecuárias, exploração da madeira e construção de hidrelétricas) (RÊBELO, PEZZUTI, 2000; SALERA JR., MALVASIO, GIRALDIN, 2006; MARTINS, MOLINA, 2008; IBAMA, 2016). Como consequência, *P. expansa* foi incluída no ano de 1996 na Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais – IUCN, onde foi classificada como baixo risco/dependente de conservação (IUCN, 2019). E também foi inserida

na lista de espécies consideradas quase ameaçadas (NT) pelo ICMBio em 2014 (ICMBIO; MMA, 2014).

Diante do exposto, vários países vêm desenvolvendo programas de proteção e manejo de quelônios (RUEDA-ALMONACID et al., 2007). No Brasil, destaca-se o Projeto Quelônios da Amazônia - PQA, criado na década de 1970 pelo Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal – IBDF, que objetiva a realização de práticas de proteção e manejo, cujas espécies do gênero *Podocnemis* ocorrentes nos principais rios da Amazônia e do Centro Oeste do país tem recebido uma atenção especial (ATAÍDES; MALVASIO; PARENTE, 2010; CANTARELLI; MALVASIO; VERDADE, 2014).

Um parâmetro de grande importância nos estudos ecológicos para manejo e conservação de espécies de quelônios é a razão sexual, ou seja, a proporção entre machos e fêmeas devolvidos à natureza. Isso por que o sucesso reprodutivo depende diretamente desta razão, e caso ocorra alguma discrepância nesta, poderá resultar na diminuição de acasalamentos e da variabilidade genética das gerações futuras (BJORNDAL et al., 2003).

A fim de investigar este parâmetro, é necessário realizar a identificação sexual, o que em quelônios, embora existam espécies que apresentam dimorfismo na morfologia externa quando adultas, os filhotes geralmente apresentam pouco ou nenhum, impossibilitando a identificação sexual a olho nu (FERREIRA JR., 2009). Tal problemática, também é enfrentada em filhotes e juvenis de *P. expansa*, sendo necessária a utilização de métodos invasivos ou até mesmo a eutanásia dos indivíduos para a sexagem. Dentre estes, pode-se destacar a análise histológica das gônadas (MALVASIO et al., 2002; LUBIANA, FERREIRA JR., 2009; MALVASIO et al., 2012), método altamente eficaz na identificação sexual de espécies de quelônios, no entanto, demanda custos elevados, necessidade de profissionais qualificados e sacrifício do animal (VALENZUELA et al., 2004), o que torna imprescindível buscar por métodos alternativos, objetivando dentre outros, preservar o animal.

Com isso, Valenzuela et al. (2004) apresentam a morfometria geométrica como uma saída de baixo custo econômico, fácil manuseio e que não necessita de eutanásia, a qual permite a detecção do sexo logo após a eclosão dos filhotes. Embora essa técnica já venha sendo utilizada há muitos anos para outras finalidades, tais como estudos filogenéticos, ontogênicos e evolutivos, seu emprego na identificação sexual em quelônios é recente, tendo como exemplos os trabalhos de Valenzuela et al. (2004) com *P. expansa* e *Chrysemys picta*, Lubiana e Ferreira

Jr. (2009) com *P. expansa* e Mendes (2017) com *Caretta caretta*. Nos dois primeiros trabalhos o método se mostrou eficaz, no entanto, seus autores apontam a necessidade da aplicação em outras populações para verificar a eficácia da técnica. A mesma, utiliza-se de marcos anatômicos nos objetos de estudo, os quais geram coordenadas (x, y) que permitem a observação da variação de sua forma a partir de testes estatísticos.

Logo, é notória a necessidade de estudos que forneçam informações sobre os quelônios amazônicos, visando subsidiar práticas de conservação e/ ou manejo, uma vez que o grupo vem sofrendo com o declínio populacional. Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar a eficiência da morfometria geométrica na sexagem de recém-eclodidos de *P. expansa*, comparando com a sexagem histológica dos mesmos.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Obtenção dos dados**

O presente estudo conta com a licença do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO, sob o número 48309-3/2017 (ANEXO A), e dispõe de dados cedidos pela equipe da empresa Norte Energia S/A responsável pelo empreendimento da Usina Hidrelétrica de Belo Monte, autorizada por meio da licença da Diretoria de Licenciamento Ambiental- DILIC, sob o número 064/2012 (ANEXO B). Dentre estes, estão espécimes de recém-eclodidos de *P. expansa* oriundos de 11 ninhos naturais de 3 praias (Juncal, Puruna e São Cosme) do Rio Xingu – Pará, coletados nos anos de 2016 e 2017 (Logo, submetidos a diferentes temperaturas uma vez que são ninhos de praias e anos distintos) e fotografia dos mesmos.

É importante salientar que o critério adotado para a utilização dos dados cedidos foi de trabalhar apenas com espécimes que chegaram devidamente etiquetados e com fotos, perfazendo um total de 78 indivíduos, visto que os resultados das análises histológica e morfométrica foram correlacionados. E os filhotes que apresentaram anomalia no casco (SALERA JR.; MALVASIO; PORTELINHA, 2009) foram eliminados das análises (Figuras 1A e 1B), tanto aqueles com número discrepante de escudos (contendo mais ou menos escudos do que o padrão) quanto aqueles cuja carapaça estava retorcida a ponto de comprometer os locais de inserção dos marcos anatômicos (um ponto específico em uma forma biológica ou imagem de uma forma) para que não interferissem negativamente nas análises estatísticas. Assim, a figura 1C exemplifica os indivíduos utilizados.

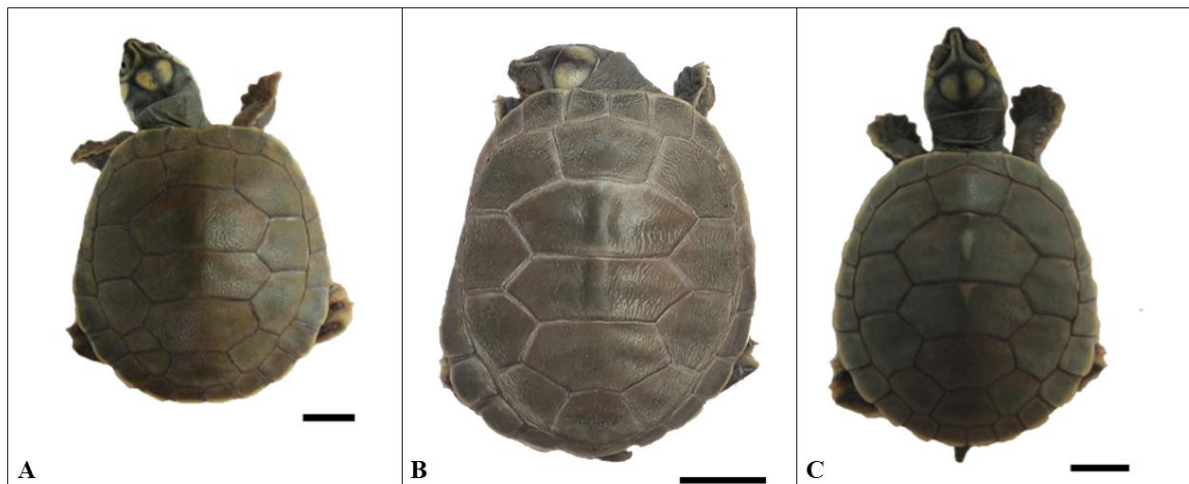


Figura 1. Exemplos de recém-eclodidos de *P. expansa* com e sem anomalia na carapaça. A) filhote com padrão irregular de escudos. B) filhote com torção na carapaça. C) filhote usado nas análises. Barra = 1 cm.

## 2.2 Área de estudo

Os espécimes cedidos foram provenientes do Tabuleiro do Embaubal (TE; Figura 2). Este localiza-se na região Amazônica, Brasil, sudoeste do Estado do Pará, no baixo Xingu, entre os municípios de Vitória do Xingu e Senador José Porfírio, a jusante da Usina Hidrelétrica de Belo Monte, sob as coordenadas 52°1'56,042"W 2°43'15,445"S. O baixo Xingu detém diversos locais de desova com destaque para as praias do TE, as quais constituem os principais sítios reprodutivos dos quelônios do gênero *Podocnemis* na América do Sul (PEZZUTI et al., 2008). Este ambiente é caracterizado por uma vegetação formada basicamente de floresta ombrófila densa e ombrófila aluvial, a depender da distribuição espacial (CARNEIRO et al., 2016).

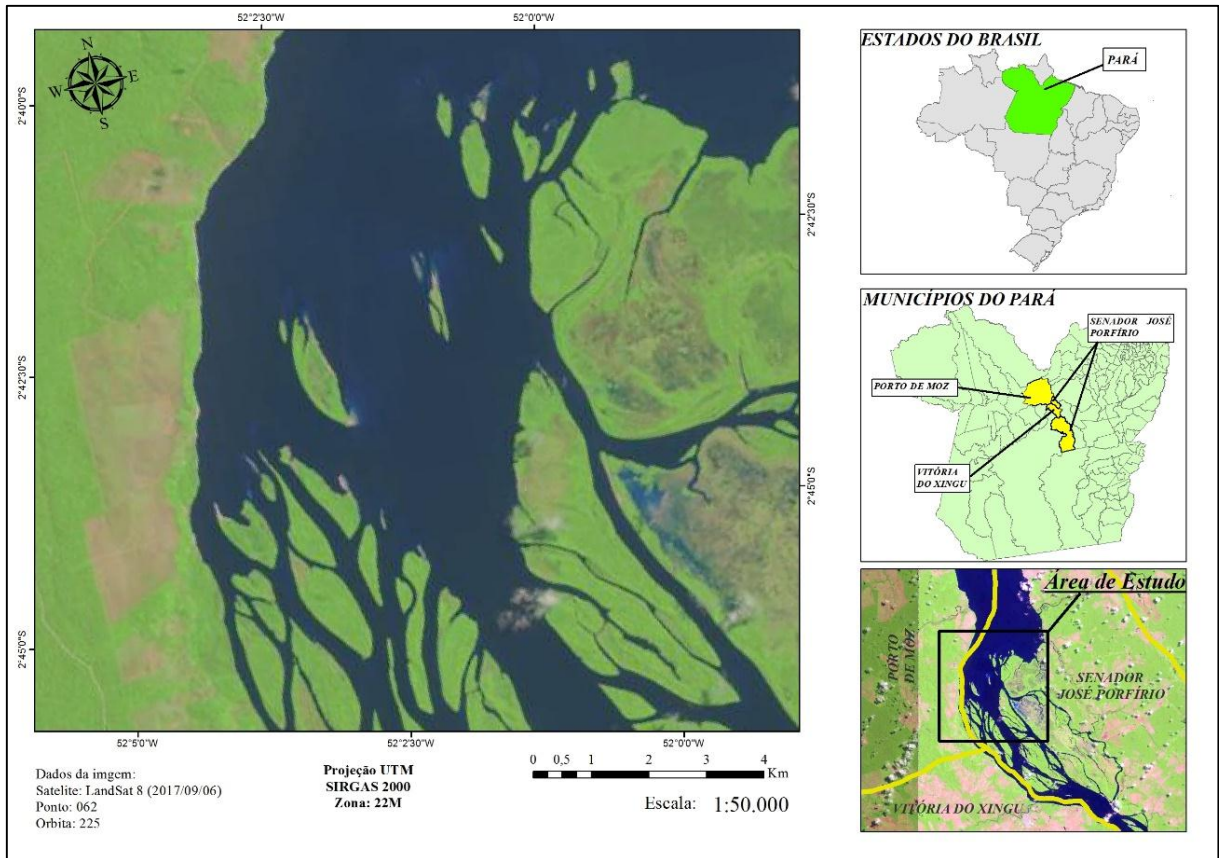


Figura 2. Localização do Tabuleiro do Embaubal.

### 2.3 Análise morfométrica da carapaça

Para analisar as possíveis variações morfométricas relacionadas ao sexo em recém eclodidos de *P. expansa* do rio Xingu, foi utilizada a carapaça seguindo Valenzuela et al. (2004). Logo, o registro fotográfico de cada indivíduo, foi realizado com a câmera posicionada perpendicularmente a aproximadamente 15 cm de altura em relação a sua carapaça, adaptado de Lubiana e Ferreira Jr. (2009). Todas as imagens foram tiradas com o filhote sobre papel quadriculado de modo a se ter uma escala.

Essas imagens foram utilizadas por programas de computador que geraram padrões morfológicos a partir de marcos digitalizados, são eles: TPSUtil, TPSDig2 e TPSRelw, criados por F. James Rohlf e disponibilizados gratuitamente no site <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>>. O TPSUtil (ROHLF, 2019a) criou um arquivo de formato TPS a partir do diretório contendo todas as imagens utilizadas, permitindo o acesso deste pelos outros programas. No TPSDig2 (ROHLF, 2019b) foi definido o fator de escala (Baseado na folha quadriculada) e digitalizados os 30 marcos anatômicos em todas as imagens, sempre na mesma sequência (Figura 3), uma vez que estes assumem o papel de variável. Tais

alterações foram salvas no mesmo arquivo TPS. Já o TPSRelw (ROHLF, 2019c) usou o arquivo TPS para obter uma matriz de dados contendo as variáveis de forma através da sobreposição dos marcos anatômicos, que consistem nas coordenadas “x” e “y” de cada marco. Esta matriz foi submetida a transformação de suas medidas de coordenadas de pontos em coordenadas Procrustes, a qual tem por finalidade remover os efeitos da posição, tamanho e rotação. E, por fim, foi adicionada a ela uma coluna contendo o resultado da identificação sexual obtido da análise histológica das gônadas, para que fosse possível realizar as análises e testes estatísticos.

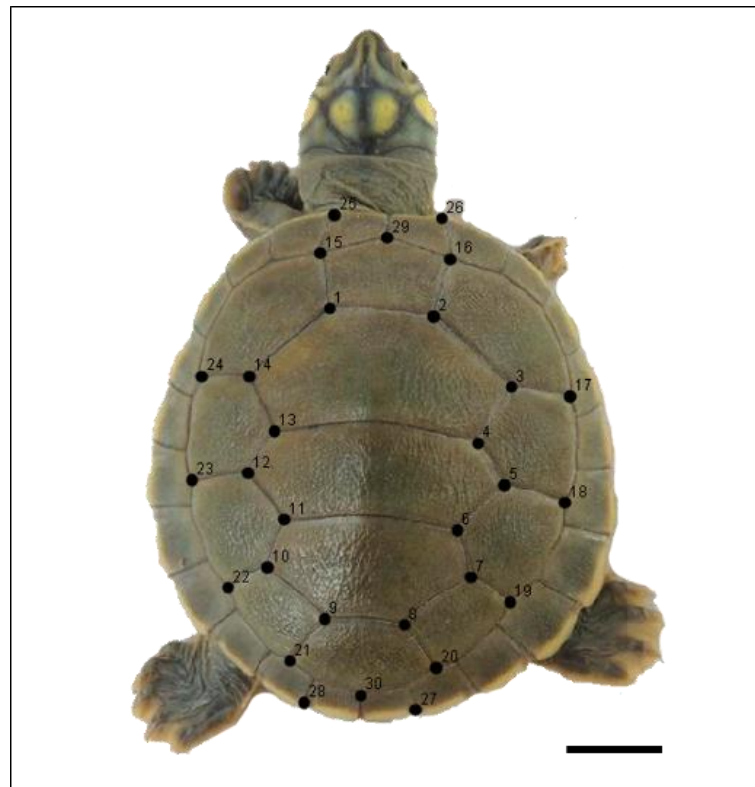


Figura 3. Marcos anatômicos em filhote de *P. expansa*, utilizados na análise da morfometria do presente estudo. Barra = 1 cm.

#### 2.4 Análise histológica das gônadas

Para identificar o sexo dos filhotes da espécie em estudo foi necessária a preparação de lâminas histológicas, a qual envolveu uma sequência de procedimentos, os quais foram conduzidos no Laboratório de Histopatologia do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos (ITPAC) - Porto Nacional. Estes tiveram início com a dissecação dos filhotes cedidos, a qual foi realizada com o espécime em decúbito dorsal sob estereomicroscópio, contando com o auxílio de bisturi de lâmina descartável para a retirada do plastrão e, em seguida retirados estômago, intestino e fígado com auxílio de tesoura e pinça, deixando as gônadas visíveis (Figura 4). Estas por sua vez, foram retiradas, embebidas em Eosina (afim de facilitar sua



visualização nos blocos de parafina na etapa de microtomia) e imersas em formalina a 10%. As etapas subsequentes seguiram os procedimentos histológicos convencionais de desidratação, diafanização, impregnação, microtomia, reidratação, coloração dos cortes utilizando Hematoxilina e Eosina e montagem final da lâmina (TOLOSA et al., 2003).

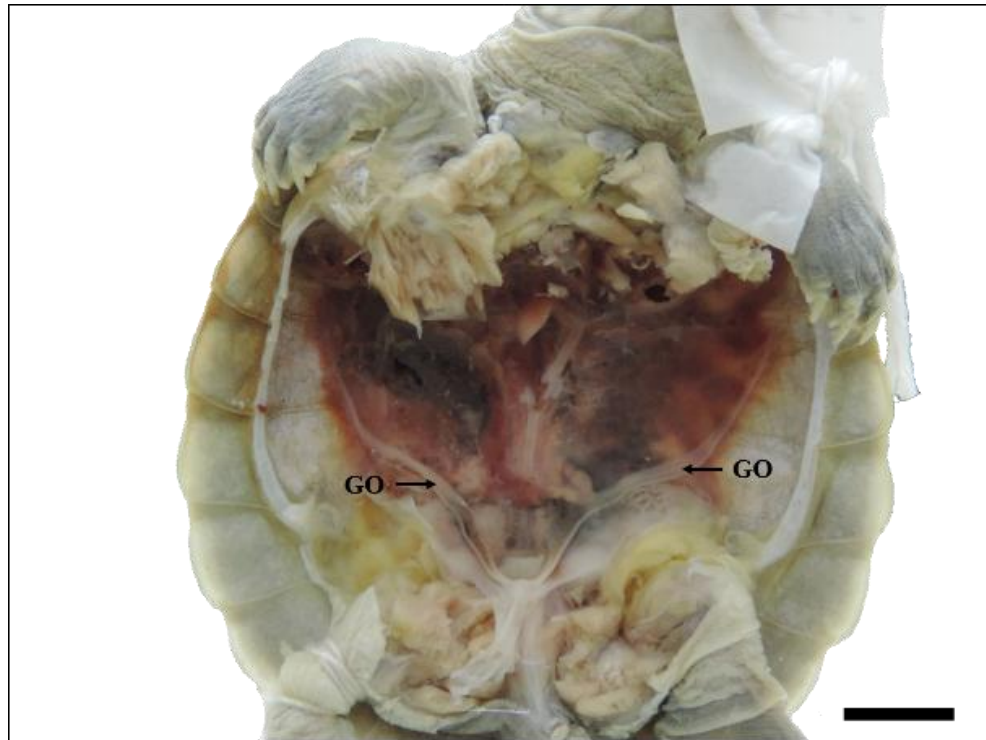


Figura 4. Visualização das gônadas (GO) de um espécime recém-eclodido de *P. expansa*. Barra = 1 cm.

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico, e a identificação sexual seguiu três dos cinco critérios propostos por Malvasio et al. (2012), são eles: estruturas que alojam as células germinativas (folículos ovarianos e túbulos seminíferos), células epiteliais dessas estruturas e células germinativas (ovogônias e espermatogônias).

## 2.5 Análises estatísticas

A sexagem histológica foi comparada com a morfométrica mediante as Análise de Componentes Principais (PCA) e Discriminante, que foram realizadas a fim de identificar se há separação dos grupos (macho e fêmea) e se afirmativo, apontar quais variáveis mais influenciaram para ocorrência desta (O'HIGGINS, 1989; O'HIGGIN et al., 1990). O teste de hipóteses multivariadas  $T^2$  de Hotelling ( $T^2$ ) visou constatar diferenças estatisticamente significantes na carapaça dos recém-eclodidos e a prova de Validação Cruzada objetivou comprovar a significância da classificação dos indivíduos por meio da análise discriminante,

eliminando um indivíduo por vez do conjunto de dados e refazendo a função discriminante sem ele, afim de classificá-lo em um dos grupos usando esta função. O software utilizado para estas análises e testes foi o Past 2.17.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Morfometria geométrica da carapaça

Na Figura 5 encontra-se o resultado da análise de componentes principais para os dois primeiros eixos. A componente principal 1 (PCA1) explicou 31,81 % da variação da forma e o componente principal 2 (PCA2) explicou 17,94 %. Logo, pode-se observar que não houve diferenças na distribuição espacial de machos e fêmeas, por esse método.

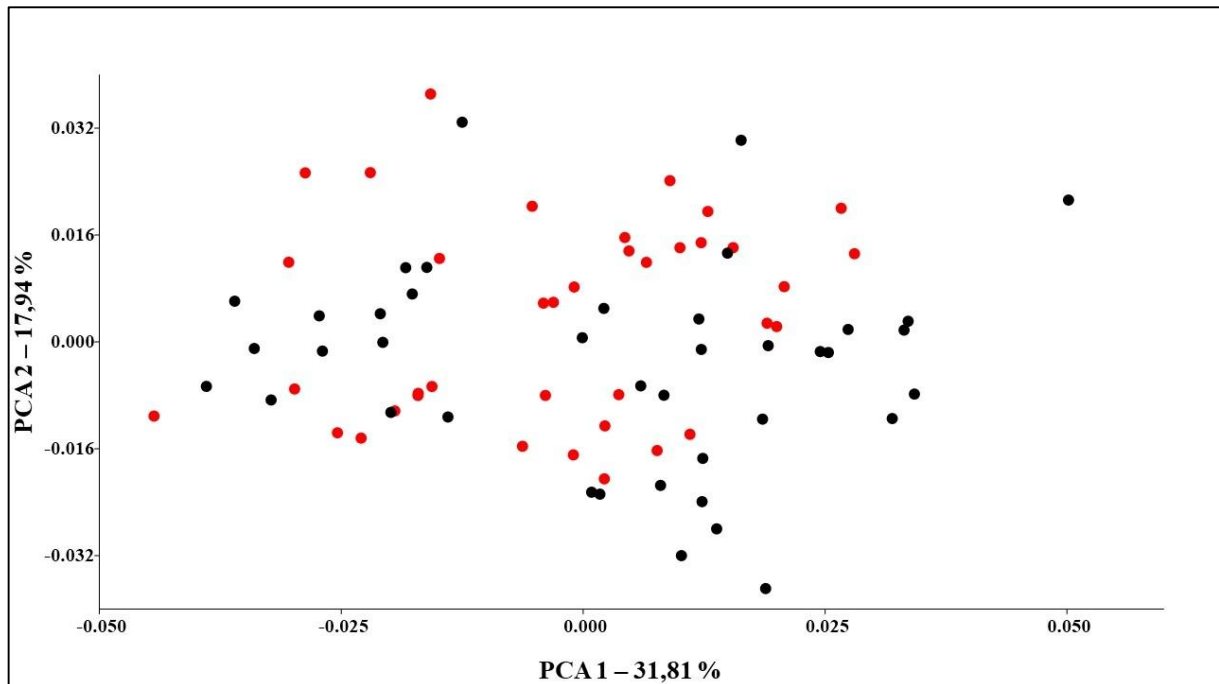


Figura 5. Distribuição de machos e fêmeas obtida por meio da análise de componente principal da carapaça de recém-eclodidos de *P. expansa*, onde os machos são representados pelos pontos pretos e as fêmeas pelos pontos vermelhos.

Através da análise discriminante foi possível classificar corretamente 91,03% de todos os indivíduos em seus respectivos grupos (macho e fêmea). O percentual restante são aqueles classificados erroneamente, e tais podem ser evidenciados por meio da sobreposição dos grupos representados pelas barras (Figura 6).

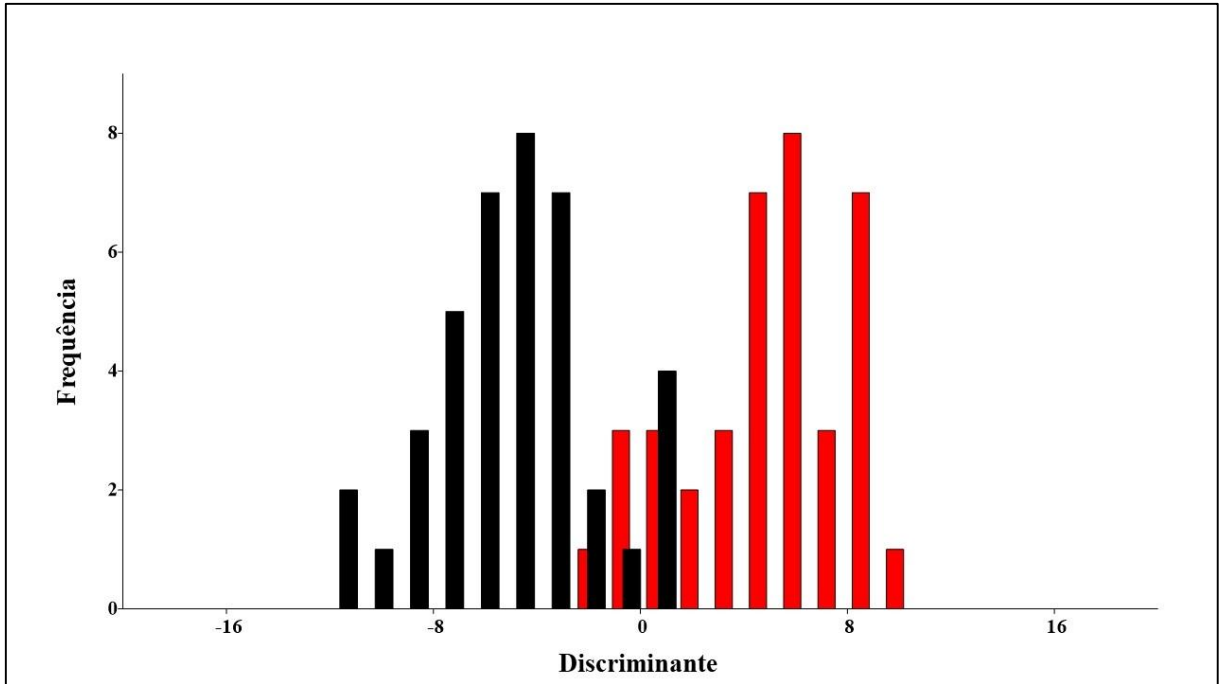


Figura 6. Distribuição de machos e fêmeas gerada pela análise de função discriminante da carapaça de recém-eclodidos de *P. expansa*. As barras vermelhas representam as fêmeas e as barras pretas representam os machos.

O teste de hipóteses multivariadas  $T^2$  de Hotelling ( $T^2$ ) revelou não haver diferenças estatisticamente significativas na forma da carapaça dos indivíduos de *P. expansa* ( $T^2 = 195,21$ ;  $F = 0,96$ ;  $p = 0,56$ ).

E o teste de validação cruzada obteve um acerto médio de 53,85%, sendo 57,50% para os machos e 50,00% para as fêmeas.

### 3.2 Histologia das gônadas

Na análise histológica das gônadas é perceptível a presença de testículo e oviduto remanescente nos machos e de ovário e oviduto nas fêmeas (Figuras 7 e 8, respectivamente). No entanto, nem 10% das lâminas apresentaram oviduto, provavelmente devido artefatos de montagem, e por isso não foi levado em consideração na diferenciação sexual do presente trabalho.

Seguindo Malvasio et al. (2012), a identificação histológica do testículo ocorreu pela presença de túbulos seminíferos dispersos por toda a gônada (Figura 7), cujo seu interior encontram-se aderidas ao epitélio, células esféricas, as espermatogônias. Enquanto que nos ovários se deu por meio da presença de folículos ovarianos localizados principalmente na região cortical, os quais são revestidos por epitélio simples constituído de células planas e posicionadas centralmente a estes folículos, estão células com núcleo amplo e citoplasma disperso, as ovogônias (Figura 8). Diante disso, dos 78 espécimes de *P. expansa* analisados, 38 foram identificados como fêmeas e 40 machos como machos.

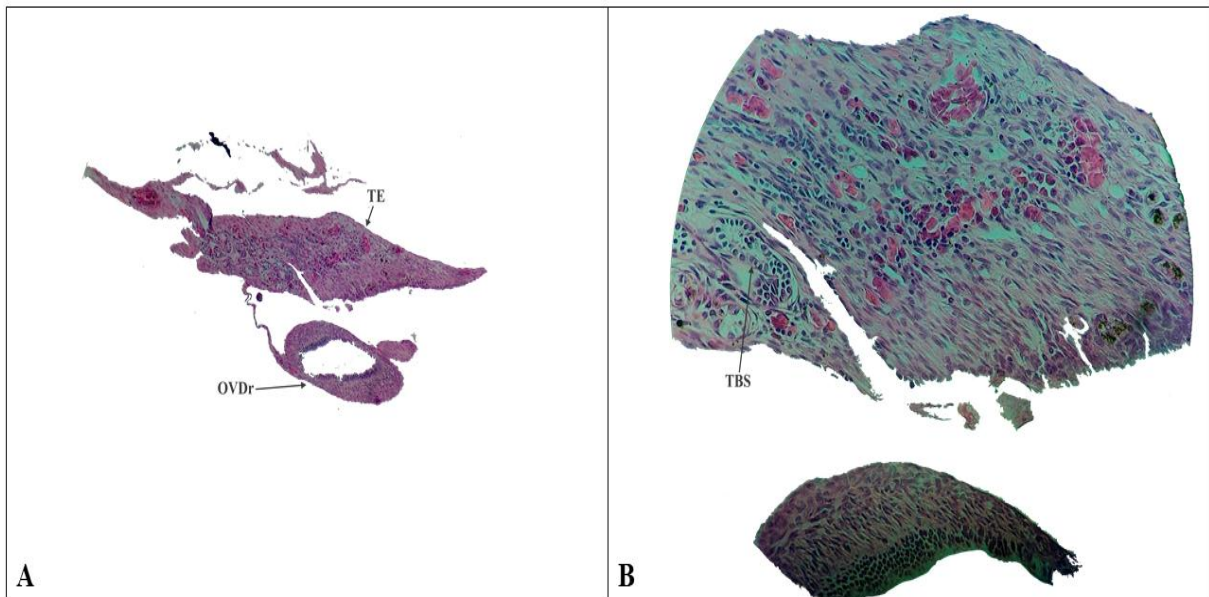


Figura 7. Fotomicrografia do aparelho reprodutivo do macho de *P. expansa* obtida por microscopia óptica. A) Destaca-se o oviduto remanescente (OVDr) e o testículo (TE) observados em objetiva de 4x. B) Verifica-se túbulos seminíferos (TBS), observados em objetiva de 40x.

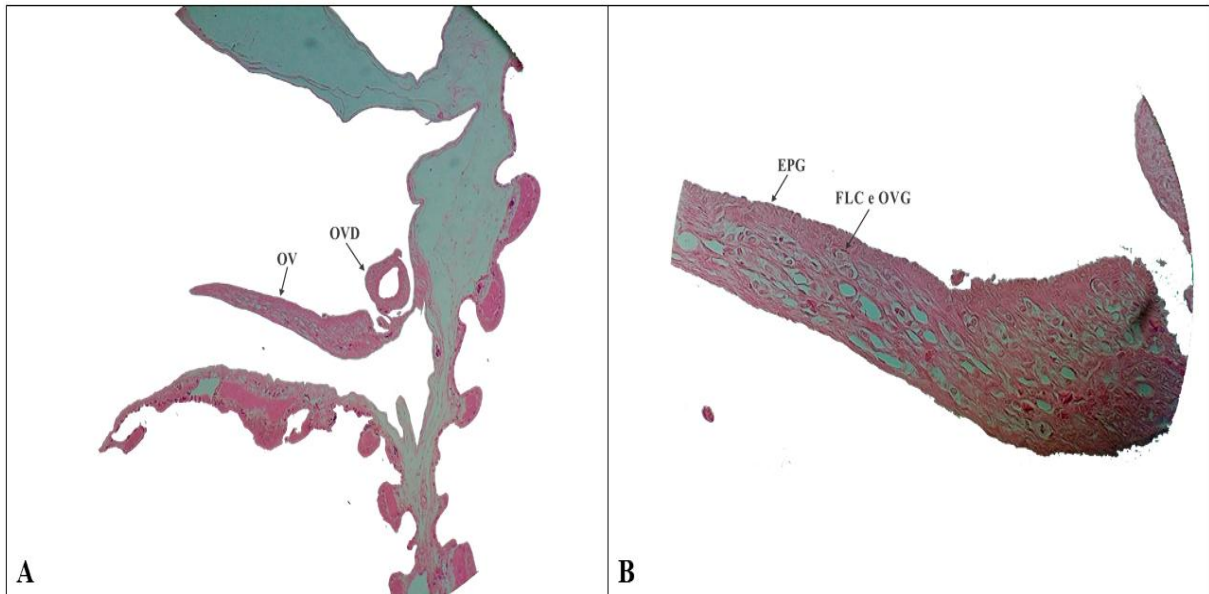


Figura 8. Fotomicrografia do aparelho reprodutivo da fêmea de *P. expansa* obtida por microscopia óptica. A) Destaca-se o ovário (OV) e o oviduto (OVD) observados em objetiva de 4x. B) Verifica-se o epitélio germinativo (EPG) e a presença de ovogônias (OVG) dentro dos folículos ovarianos (FLC) observados em objetiva de 40x.

#### 4 DISCUSSÃO

O fato de *P. expansa* estar em perigo de extinção devido aos inúmeros impactos causados pelo homem, seja pela destruição do seu habitat bem como pelo seu consumo excessivo na alimentação, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos ecológicos e de conservação, visando conhecer a proporção entre machos e fêmeas que está sendo devolvida à natureza (RÊBELO, PEZZUTI, 2000; SALERA JR., MALVASIO, GIRALDIN, 2006; MARTINS, MOLINA, 2008; MALVASIO et al., 2012; IBAMA, 2016). Para tal, atualmente utilizam-se de técnicas de sexagens como: análise histológica e anatômica das gônadas (MALVASIO et al., 2002; LUBIANA, FERREIRA JR., 2009; MALVASIO et al., 2012), testes de radioimunoensaio (RIA) para quantificar as concentrações de esteróides no plasma sanguíneo (VALENZUELA, 2001; VALENZUELA et al., 2004) e laparoscopia em juvenis (WYNEKEN et al., 2007), isto devido à dificuldade em diferenciar-se externamente o sexo dos recém-eclodidos (VALENZUELA et al., 2004; FERREIRA JR., 2009). No entanto, essas técnicas demandam procedimentos invasivos ou até mesmo sacrifício do animal, elevados custos, alto dispêndio de tempo em procedimentos laboratoriais e necessidade de profissionais especializados.

Devido a isso, a morfometria geométrica tem se mostrado um método alternativo que visa substituir ou minimizar a utilização desses procedimentos atuais para a sexagem de

quelônios imaturos, a qual não necessita da morte do animal, nem demasiados custos e tempo. Valenzuela et al. (2004) e Lubiana e Ferreira Jr. (2009) fizeram uso deste método afim de verificar as variações morfológicas em *P. expansa* com a intenção de diferenciar o sexo por meio do uso de marcos anatômicos em pontos homólogos através de imagens do casco dos indivíduos e obtiveram resultados satisfatórios, ou seja, elevado percentual de acerto na classificação sexual. No entanto, no presente estudo a morfometria geométrica não alcançou tais resultados para substituir ou mesmo reduzir a utilização dos métodos tradicionais de sexagem de recém-eclodidos de *P. expansa* conforme os testes realizados. Mendes (2017) também não obteve êxito ao utilizar-se desta técnica na tentativa de identificar o sexo de natimortos de *Caretta Caretta* dos estados do Espírito Santo e Bahia por meio de imagens de todo o casco (carapaça e plastrão).

A análise de componente principal do presente estudo não foi capaz de separar os filhotes pelo sexo, o mesmo ocorreu no trabalho realizado por Lubiana e Ferreira Jr. (2009) para 92 recém-eclodidos de *P. expansa* da Ilha do Bananal – Tocantins, neste a PC1 explicou 30,1% da variação da forma da carapaça e a PC2 24,1%, no entanto houve sobreposição espacial para vários espécimes o que tornou impossível a separação de machos e fêmeas.

Já a análise discriminante obteve elevado percentual classificatório, tanto no presente estudo (91,03%), quanto no de Valenzuela et al. (2004), que ao estudar a mesma espécie, porém uma população do rio Caquetá na Colômbia, obtiveram 90% de acerto na classificação sexual dos indivíduos, neste o sexo dos filhotes foi anteriormente verificado através de radioimunoensaios. Embora a análise discriminante tenha se mostrado satisfatória em ambos trabalhos, o teste de hipóteses para o presente estudo revelou não haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ), enquanto que em Valenzuela et al. (2004) e Lubiana e Ferreira Jr. (2009) estes mostraram-se significativos ( $p < 0,05$ ). O mesmo ocorreu para a prova de validação cruzada, realizada com o intuito de comprovar tais resultados, em que no presente trabalho obteve-se um percentual grande de classificação errônea (aproximadamente 50%) indicando não ser viável a utilização da técnica em estudo, diferentemente dos trabalhos supracitados que atingiram 87,5% e 84,3% de acerto, respectivamente, mostrando a viabilidade da técnica.

Contudo, as análises feitas com os resultados da morfometria geométrica no presente estudo não se mostraram uma ferramenta aplicável para identificação do dimorfismo sexual realizados com a finalidade de substituir ou diminuir a utilização dos métodos invasivos de identificação sexual de espécimes imaturos. Isso provavelmente ocorreu em função dos

espécimes utilizados no presente estudo procederem de ninhos naturais de diversas praias, o que implica em variação morfológica maior do que ninhos artificiais, uma vez que há influência de diversos fatores, tais como: oscilações na temperatura de incubação, tempo de incubação, umidade, tamanho da ninhada, profundidade do ninho, localidade do ninho e cobertura vegetal (SALERA JR.; MALVASIO; PORTELINHA, 2009).

Segundo Lubiana (2009), as oscilações na temperatura de incubação são capazes de causar o desenvolvimento heterogêneo nas carapaças dos filhotes, isto por que durante o desenvolvimento embrionário todos os ovos são submetidos às condições de geração de fêmeas e de machos, fazendo com que a carapaça dos filhotes apresente elementos de ambos os sexos, o que confunde a identificação sexual por meio da forma da carapaça através da morfometria geométrica (PIEAU, 1982; GUIX, FEDULLO, MOLINA, 2001). Já Ferreira Jr. et al. (2011), ao fazer uso da morfometria geométrica em estudo realizado com filhotes de *Caretta Caretta* observaram que a variação no tempo de incubação é um dos fatores responsáveis pela diferença na forma do casco (carapaça e plastrão) dos indivíduos amostrados. Com isso, os resultados satisfatórios encontrados nos trabalhos de Valenzuela et al. (2004) e Lubiana e Ferreira Jr. (2009) podem ter sido decorrentes da utilização de filhotes provenientes de ninhos artificiais, onde ocorre um maior controle dos fatores que influenciam o período de incubação. Assim, sugere-se novos estudos com a utilização de ninhos artificiais e naturais de mesma população para comparar os resultados obtidos para morfometria geométrica, verificando assim se existe tais interferências. Até por que a morfometria é um método estimativo que mesmo validado para uma população não pode ser generalizado para as demais sem que haja a realização de diversos estudos com populações de diferentes localidades e gerações, visando obter uma função discriminante capaz de diferenciar o sexo dos filhotes de uma dada espécie (VALENZUELA et al. 2004), tornando assim evidente a necessidade de estudos para verificação da eficiência deste método.

Com relação à identificação sexual por meio da análise histológica das gônadas, as estruturas encontradas no presente estudo foram semelhantes às descritas para filhotes recém-eclodidos por diversos autores (YNTEMA, MROSOVSKY, 1980; MALVASIO, GOMES, FARIAS, 1999; MALVASIO et al., 2012). Vale salientar a estrutura do oviduto, que neste estudo foi encontrada apenas em aproximadamente 10% das lâminas analisadas, provavelmente, devido artefato de montagem. Isso reflete a complexidade dos métodos usados

na preparação histológica como mencionado por Malvasio et al. (2012), mostrando assim a necessidade de profissionais qualificados para realização desta técnica.

Diante do exposto, torna-se evidente que a análise histológica das gônadas ainda é a metodologia mais eficaz para estudos relacionados à identificação do sistema reprodutor de imaturos de *P. expansa*, por apresentar resultados mais consistentes, embora possua algumas desvantagens citadas anteriormente (alto custo, procedimentos laboratoriais razoavelmente complexos e demorados, além da necessidade de sacrificar o animal).

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A morfometria geométrica não se mostrou uma ferramenta aplicável para detecção do dimorfismo sexual em recém-eclodidos de *P. expansa* na população estudada. Mas, sugere-se novos estudos com outras populações e gerações em ninhos naturais e artificiais, realizados com a finalidade de validar a aplicabilidade da técnica para esta e demais espécies, visando substituir ou diminuir a utilização de métodos invasivos de sexagem em espécimes imaturos, uma vez que muitas espécies de quelônios amazônicos da fauna do Brasil apresentam algum grau de ameaça em seu *status* de conservação, conforme as agências ambientais nacionais. Desse modo, a histologia é ainda a melhor ferramenta para a identificação do sexo de recém-eclodidos de *P. expansa* na população estudada, especialmente devido à maior exatidão dos seus resultados.



## REFERÊNCIAS

- ATAÍDES, A. G.; MALVASIO, A.; PARENTE, T. G. Percepções sobre o consumo de quelônios no entorno do Parque Nacional do Araguaia, Tocantins: conhecimentos para conservação. **Gaia Scientia**, [João Pessoa-PB], v. 4, n. 1, p. 07-20, 2010.
- BJORNDAL, K. A. et al. Compensatory growth in oceanic loggerhead sea turtles: response to a stochastic environment. **Ecology**, [S.l.], v. 84 n. 5, p. 1237-1249, 2003.
- CANTARELLI, V. H.; MALVASIO, A.; VERDADE, L. M. Brazil's *Podocnemis expansa* conservation program: Retrospective and future directions. **Chelonian Conservation and Biology**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 124-128, 2014.
- CARNEIRO, A. C. C. et al. Extrativismo da borracha no Arquipélago do Tabuleiro do Embaubal: Cadeia produtiva e entraves. **Observatorio de la Economía Latinoamericana**, [S.l.], v. 1, p. 1- 16, 2016.
- COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. Répteis do brasil e suas unidades Federativas: lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**, v. 8 n. 1, p. 11-57, fev. 2018.
- DAVENPORT, J. et al., Pleated turtle escapes the box – shape changes in *Dermochelys coriácea*. **The Journal of Experimental Biology**, v. 214, p. 3474-3479, 2011.
- ERNST, C. H.; BARBOUR, R. W. **Turtles of the World**. Washington D. C.: Smithsonian Institution Press, 1989. 313 p.
- FERREIRA JR., P. D. Aspectos ecológicos da determinação sexual em tartarugas. **Acta Amazonica**, [Manaus-AM], v. 39, n. 1, p. 129-144, 2009.
- FERREIRA JR., P. D. Morphometric pattern in *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) (Cheloniidae) hatchlings from nests with different embryo development rates. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos-SP, v.71 n. 1, fev. 2011.
- GUIX, J.C.; FEDULLO, D.L.; MOLINA, F.B. Masculinization of captive females of *Chelonoidis carbonaria* (Testudinidae). **Revista Espanhola de Herpetologia**, v. 15, p. 67-75, 2001.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Manejo conservacionista e monitoramento populacional de quelônios amazônicos**. Brasília-DF: IBAMA, 2016. 136 p.

ICMBIO; MMA, **Lista das espécies consideradas Quase Ameaçadas (NT)**, 2014, Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/>>. Acesso em: 26 jan. 2019.

IUCN - International Union for Conservation of Nature. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em:< <http://www.iucnredlist.org/>> Acessado em 24 jan. 2019.

LUBIANA, A. **Temperatura pivotal e dimorfismo sexual em filhotes de *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) (Testudines, Podocnemididae) de duas populações dos estados de Goiás e Tocantins**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecossistemas) - Centro Universitário Vila Velha, 2009.

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

MALVASIO, A. et al. Morfologia dos órgãos reprodutores de recém-eclodidos de *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) e *P. unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines, Pelomedusidae). **Publicações Avulsas do Instituto Pau Brasil de História Natural**, [Arujá- SP], n. 5, p. 27-37, jul. 2002.

MALVASIO, A. et al. Morfometria e histologia das gônadas de machos e fêmeas recém-eclodidos de *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá-PR, v. 34, n. 1, p. 105-112, jan/mar. 2012.

MALVASIO, A.; GOMES, N.; FARIAS, E. C. Identificação sexual através do estudo anatômico do sistema urogenital em recém-eclodidos e jovens de *Trachemys dorbignyi* (Duméril & Bibron) (Reptilia, Testudines, Emydidae). **Revista brasileira de Zoologia**, São Paulo-SP, v. 16 n. 1, p. 91 -102, 1999.

MARTINS, M.; MOLINA, F. B. Panorama geral dos répteis ameaçados do Brasil. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. (Eds.). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília- DF:MMA e Belo Horizonte- MG: Fundação Biodiversitas, 2008. p. 327-334.

MENDES, S. S. **Morfometria geométrica e histologia: ferramentas complementares na estimativa do sexo de filhotes da tartaruga marinha *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758)**

(**Testudines, Cheloniidae**) dos estados da Bahia e do Espírito Santo. 2017. Tese (Doutorado em Ecologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora.

O'HIGGINS, P. **A morphometric study of cranial shape in the Hominoidea**. 1989. Thesis (PhD). Department of Anatomy, University of Leeds.

O'HIGGINS, P. et al. Patterns of cranial sexual dimorphism in certain groups of extant hominoids. **The Zoological Society of London**, v. 222 n.3, p. 399-420, 1990.

PEZZUTI, J. C. B. et al. **Estudo de impacto ambiental do aproveitamento hidrelétrico (UHE) Belo Monte, rio Xingu. Componente: quelônios e crocodilianos**. Relatório Final, 2008. 187 p. Disponível em: <<http://philip.inpa.gov.br>>. Acesso em: 26 jan. 2019.

PIEAU, C. Modalities of the Action of Temperature on Sexual Differentiation in Field-Developing Embryos of the European Pond Turtle *Emys orbicularis* (Emydidae). **Journal of Experimental Zoology**, [S.l.], v. 220, p. 353-360, 1982.

POUGH, F. H.; CHRISTI, M. J.; JOHN, B. H. **A Vida dos Vertebrados**. 4ª edição. São Paulo-SP: Atheneu Editora, 2008. 684 p.

REBÊLO, G.; PEZZUTI, J. Percepções sobre o consumo de quelônios na Amazônia. Sustentabilidade e alternativas ao manejo atual. **Ambiente & sociedade**, [S.l.], v. 3, n. 6/7, p. 85-104, 2000.

ROHLF, F. J. **TpsUtil for Windows**. Version 1.74. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, 2019a. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>> Acessado em: 24 jan. 2019.

ROHLF, F. J. **TpsDig2 for Windows**. version 2.30. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, 2019b. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>> Acessado em: 24 jan. 2019.

ROHLF, F. J. **TpsRelw for Windows**. version 1.69. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, 2019c. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>> Acessado em: 24 jan. 2019.

RUEDA-ALMONACID, J.V. et al. **Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos del trópico**. Conservación Internacional. Bogotá-CO: Editorial Panamericana, Formas e Impresos, 2007. 538 p.

SALERA JR., G.; MALVASIO, A.; GIRALDIN, O. Relações cordiais. **Ciência Hoje**, Higienópolis-RJ, v. 38 n. 226, p. 61-63, mai. 2006.

SALERA JR., G.; MALVASIO, A.; PORTELINHA, T. C. G. Avaliação de padrão irregular dos escudos do casco em *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae). **Acta Amazonica**, [Manaus-AM], v. 39 n. 2, p. 429 – 436, 2009.

SCHOCH, R. R.; SUES, H. D. A Middle Triassic stem-turtle and the evolution of the turtle body plan. **Nature**, v. 523 p. 584-587, 2015.

TOLOSA, E. M. C., RODRIGUES, C. J., BEHMER, O. A. & NETO, A. G.F. 2003. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Editora Manole Ltda. 331 p.

UETZ, P.; HOŠEK, J. **The Reptile Database**, 2019. Disponível em: <[www.reptile-database.org](http://www.reptile-database.org)>. Acessado em: 26 jan. 2019.

VALENZUELA, N. Constant, shift, and natural temperature effects on sex determination in *Podocnemis expansa* turtles. **Ecology**, [S.l.], v. 82 n. 11, p. 3010–3024, 2001.

VALENZUELA, N. et al. Geometric morphometric sex estimation for hatchling turtles: a powerful alternative for detecting subtle sexual shape dimorphism. **Copeia**, [Washington], n. 4 p. 735-742, dez. 2004.

VAN DIJK, P. P. et al. Turtles of the World, 7th edition: annotated checklist of taxonomy, synonymy, distribution with maps, and conservation status. In: RHODIN, A.G. J; PRITCHARD, P. C. H.; VAN DIJK, P. P.; SAUMURE, R. A.; BUHLMANN, K. A.; IVERSON J. B.; MITTERMEIER R. A. (Eds.). **Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group**. Chelonian Research Monographs, v. 7, n. 5, jun. 2014. p. 329-479.

VITT, L. J. & CALDWELL, J. P. **Herpetology An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles**. Fourth Edition. Elsevier, 2014. 776 p.

WYNEKEN, J. et al. Determining sex in posthatchling loggerhead sea turtles using multiple gonadal and accessory duct characteristics. **Herpetologica**, [S.l.], v. 63 n. 1, p. 19-30, 2007.

YNTEMA, C. L.; MROSOVSKY, N. Sexual differentiation in hatchling loggerheads (*Caretta caretta*) incubated at different controlled temperatures. **Herpetologica**, [S.l.], v. 36 n. 1, p. 33-36, 1980.

## ANEXO A – LICENÇA DO PRESENTE ESTUDO



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

## Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 60667-1	Data da Emissão: 13/04/2018 12:03	Data para Revalidação*: 13/05/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

## Dados do titular

Nome: Welloyane Páttila Barros de Souza Gomes	CPF: 017.145.492-83
Título do Projeto: Determinação sexual em Podocnemis	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS	CNPJ: 05.149.726/0001-04

## Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Procedimentos Laboratoriais	05/2018	05/2019

## Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.bama.gov.br">www.bama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/gen">www.mma.gov.br/gen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

## Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	JOSEFA MOREIRA DO NASCIMENTO ROCHA	Colaboradora	944.211.291-00	0481 CRMV-TO	Brasileira
2	ADRIANA MALVASIO	Orientadora	073.156.138-46	006935/01-D SSP-SP	Brasileira
3	Adson Gomes de Aitaides	Colaborador	928.253.381-68	469040 ssp-TO	Brasileira

## Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	ALTAMIRA	PA	Rio Xingu	Fora de UC Federal
2	SENADOR JOSÉ PORFÍRIO	PA	Rio Xingu	Fora de UC Federal
3	VITÓRIA DO XINGU	PA	Rio Xingu	Fora de UC Federal

## Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 19661246



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 60667-1	Data da Emissão: 13/04/2018 12:03	Data para Revalidação*: 13/05/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Weloyane Pátilla Barros de Souza Gomes	CPF: 017.145.492-83
Título do Projeto: Determinação sexual em Podocnemis	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS	CNPJ: 05.149.726/0001-04

1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Podocnemis expansa, Podocnemis unifilis, Podocnemis sextuberculata
---	--	--

#### Material e métodos

1	Amostras biológicas (Répteis)	Fragmento de tecido/órgão
---	-------------------------------	---------------------------

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 19661246



Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 60667-1	Data da Emissão: 13/04/2018 12:03	Data para Revalidação*: 13/05/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Welloyane Páttila Barros de Souza Gomes	CPF: 017.145.492-83
Título do Projeto: Determinação sexual em Podocnemis	
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS	CNPJ: 05.149.726/0001-04

### Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

\* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.



Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 19661246




Página 3/3

## ANEXO B – LICENÇA DA EMPRESA NORTE ENERGIA S/A


 <b>MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE</b> <b>INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS</b> <b>DIRETORIA DE LICENCIAMENTO AMBIENTAL</b>		
<b>AUTORIZAÇÃO DE CAPTURA, COLETA E TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO</b>		
<b>PROCESSO IBAMA</b> Nº 02001.001848/2006-75	<b>AUTORIZAÇÃO Nº 064/2012</b> 1ª RENOVAÇÃO	<b>VALIDADE</b> Válida até 28/02/2021
<b>ATIVIDADE</b> <input type="checkbox"/> LEVANTAMENTO <input checked="" type="checkbox"/> MONITORAMENTO <input type="checkbox"/> RESGATE/SALVAMENTO		
<b>TIPO:</b> <input type="checkbox"/> BIOTA TERRESTRE <input checked="" type="checkbox"/> BIOTA AQUÁTICA <input type="checkbox"/> BIOTA SEMI-AQUÁTICA		
<b>EMPREENHIMENTO:</b> UHE BELO MONTE		
<b>EMPREENDEDOR:</b> Norte Energia S/A		
CNPJ: 12.300.288/0001-07		CTF: 5074556
ENDEREÇO: Setor Comercial Norte, Quadra 04, nº 100, Bloco B, Salas 904 e 1004 – Centro Empresarial Varig – CEP: 70714-900 – Brasília/DF		
<b>CONSULTORIA RESPONSÁVEL PELA ATIVIDADE:</b> Tractebel Engineering Ltda.		
CNPJ/CPF: 33.633.561/0001-87		CTF: 22279
ENDEREÇO: Avenida dos Andradas, 3.000 – 13º andar – Boulevard Corporate Tower – Santa Efigênia. Belo Horizonte – MG, CEP 30.260-070.		
<b>COORDENADOR GERAL DA ATIVIDADE:</b> André Jean Deberdt		
CPF: 157.337.418-05		CTF: 490315
<b>DESCRIÇÃO DA ATIVIDADE:</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitoramento e manejo de quelônios na área de inserção da UHE Belo Monte: avistamento de quelônios, captura de espécimes para marcação com furos nos escudos marginais e/ou com placas metálicas, biometria, coleta de conteúdo estomacal e amostras de tecido.</li> <li>• Monitoramento e marcação de ninhos, coleta de ovos, translocação de ovos sem condições de sucesso de eclosão, monitoramento e manejo de filhotes.</li> <li>• Marcação com equipamentos de monitoramento por satélite (marcação de animais com transmissores Modelo Kiwisat K2G, para o monitoramento por satélite – Sistema ARGOS).</li> <li>• Implantação de chocadeiras artificiais na área de influência do empreendimento.</li> <li>• Coleta de 100 amostras de tecido (unha, carapaça e/ou fragmento da membrana interdigital) para estudo de ecologia isotópica, complementar à análise de dicta. 60 amostras de <i>Podocnemis unifilis</i>, 20 amostras de <i>Podocnemis expansa</i> e 20 amostras de <i>Podocnemis sextuberculata</i>.</li> </ul>		
<b>PETRECHOS:</b> Redes de espera do tipo malhadeira, armadilhas, rede de arrasto, mergulho, anzol, rama, caixas plásticas, fita métrica, paquímetro e balança de precisão.		
<b>ÁREAS AMOSTRAIS:</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Área 1: Montante do Reservatório do Xingu;</li> <li>• Área 2: Reservatório do Xingu – trecho do rio inundado pelo reservatório do Xingu, desde a Ilha Grande, a montante de Altamira, até a barragem do sítio Pimental;</li> <li>• Área 3: Trecho de Vazão Reduzida – trecho do rio Xingu na Volta Grande, sujeito à redução de vazão após a formação do barramento principal. Estende-se desde o barramento no sítio Pimental, até a cachoeira de Itamaracá;</li> <li>• Área 4: Jusante – Porção do rio Xingu desde a cachoeira de Itamaracá até 10Km a jusante de Vitória do Xingu;</li> <li>• Área 5: Reservatório Intermediário – Área ocupada pelo Reservatório Intermediário, incluindo os módulos 06 e 07;</li> <li>• Área 6: Bacajá – porção inferior do rio Bacajá, ao longo de um trecho de até 15 km, a partir da sua foz.</li> </ul>		
<b>DESTINAÇÃO DO MATERIAL:</b> Laboratório Multiusuário do mestrado e Doutorado em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins – UFT.		
<b>LOCAL E DATA DE EMISSÃO:</b>		<b>AUTORIDADE EXPEDIDORA (ASSINATURA E CARIMBO):</b>
Brasília,  <b>25 MAI 2017</b>		 Larissa Carolina Amarim dos Santos Diretora de Licenciamento Ambiental DILIC/IBAMA




 <b>MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS DIRETORIA DE LICENCIAMENTO AMBIENTAL</b>		
<b>AUTORIZAÇÃO DE CAPTURA, COLETA E TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO</b>		
<b>PROCESSO IBAMA Nº 02001.001848/2006-75</b>	<b>AUTORIZAÇÃO Nº 064/2012 1º RENOVAÇÃO</b>	<b>VALIDADE Válida até 28/02/2021</b>
<b>ESTA AUTORIZAÇÃO NÃO PERMITE</b>		
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Captura/coleta/transporte/soltura de espécies em área particular sem o consentimento do proprietário;</li> <li>2. Captura/coleta/transporte/soltura de espécies em unidades de conservação federais, estaduais, distritais ou municipais, salvo quando acompanhadas da anuência do órgão administrador competente;</li> <li>3. Transporte de animais vivos fora da área do empreendimento, exceto no trajeto até as áreas de soltura autorizadas. A solicitação, análise e emissão de autorizações para transporte de fauna impossibilitada de soltura deverá se dar no âmbito das superintendências do Ibama, preferencialmente do estado de origem do animal resgatado, conforme Portaria Ibama nº 12, de 05/08/2011;</li> <li>4. Coleta de espécies listadas na IUCN, Portaria MMA 444/2014 e nas listas oficiais do estado do Pará, exceto de espécimes que morrerem no processo de amostragem, os quais devem ser identificados e listados para o Ibama nos relatórios e encaminhados às Instituições Depositárias, caso haja condições de aproveitamento científico do material;</li> <li>5. Coleta de material biológico por técnicos não listados nesta autorização;</li> <li>6. exportação de material biológico;</li> <li>7. Acesso ao patrimônio genético, nos termos da regulamentação constante na medida provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001.</li> </ol> <p>Observação: As Autorizações obtidas por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) não podem ser utilizadas para a captura e/ou coleta de material biológico referente ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.</p>		

<b>EQUIPE TÉCNICA:</b>		
<b>NOMES:</b>	<b>CTF:</b>	<b>CPF</b>
André Jean Deberdt	490.315	157.337.418-05
Lilium Rodrigues Pinheiro	3.679.412	794.773.131-49
Adriana Malvásio	1.902.836	073.156.138-46
Leandro Wronski da Silva	5.649.187	906.993.002-15
Sandro Bezerra de Araújo Azevedo	5.527.614	935.843.182-20
Jhonnnes Luciano Brito dos Santos	5.646.042	002.207.772-33
Melquisedeque da Silva Ribeiro	5.783.819	951.863.522-68
Marcelo Bocaiuva Ribeiro	5.674.759	863.514.352-34

R

 <b>MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE</b> <b>INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS</b> <b>DIRETORIA DE LICENCIAMENTO AMBIENTAL</b>		
<b>AUTORIZAÇÃO DE CAPTURA, COLETA E TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO</b>		
<b>PROCESSO IBAMA</b> Nº 02001.001848/2006-75	<b>AUTORIZAÇÃO Nº 064/2012</b> 1º RENOVAÇÃO	<b>VALIDADE</b> Válida até 28/02/2021
<p><b>CONDICIONANTES</b></p> <p><b>1 Condicionantes Gerais:</b></p> <p>1.1. Válida somente sem emendas e/ou rasuras;</p> <p>1.2. O Ibama, mediante decisão motivada, poderá modificar as condicionantes, bem como suspender ou cancelar esta autorização caso ocorra;</p> <p>a) violação ou inadequação de quaisquer condicionantes ou normas legais;</p> <p>b) omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição da autorização;</p> <p>c) superveniência de graves riscos ambientais e de saúde.</p> <p>1.3. A ocorrência de situações descritas nos itens "1.2.a)" e "1.2.b)" acima sujeita os responsáveis, incluindo toda a equipe técnica, à aplicação de sanções previstas na legislação pertinente;</p> <p>1.4. O pedido de renovação, caso necessário, deverá ser protocolado 30 (trinta) dias antes de expirar o prazo de validade desta autorização.</p> <p>1.5. Todos os profissionais constantes na Autorização devem manter-se sem pendências no CTF durante todo o período de vigência desta. Todas as atividades devem ser realizadas por equipe composta por pelo menos 1 (um) profissional constante nesta Autorização;</p> <p>1.6. Os relatórios de atividades, com periodicidade definida no PBA, devem conter as Cartas de recebimento das Instituições Depositárias, originais ou autenticadas contendo a quantidade de espécimes recebidos, o número de registro em campo de cada indivíduo e sua espécie. Em até 120 (cento e vinte) dias contados do final do prazo de validade desta autorização, apresentar listagem emitida pelas instituições receptoras contendo o número de identificação em campo de cada indivíduo associado ao seu número de tombamento na coleção, para todos os animais depositados. Este prazo poderá ser prorrogado mediante justificativa a ser analisada pelo Ibama.</p> <p><b>2. Condicionantes Específicas:</b></p> <p>2.1. Adotar os seguintes procedimentos durante a realização das atividades:</p> <p>a) A captura, soltura, coleta e/ou transporte de animais só poderá ser realizada pela equipe técnica designada por esta Autorização. Qualquer alteração na equipe deverá ser comunicada oficialmente ao Ibama;</p> <p>b) Os procedimentos de biometria e marcação deverão ser realizados preferencialmente em campo, de forma a minimizar o estresse animal.</p> <p>c) Em caso de captura de animal silvestre raro ou ameaçado de extinção a equipe de resgate deve comunicar o Ibama local imediatamente, para que sejam tomadas as devidas providências quanto a destinação deste animal conforme entendimento entre ICMBio e Ibama.</p> <p>2.2. A coordenação do projeto deve enviar relatórios semestrais inseridos nos relatórios semestrais de acompanhamento do PBA. Estes devem conter os seguintes itens:</p> <p>a) Lista das espécies encontradas durante o monitoramento destacando as espécies ameaçadas de extinção (lista vermelha das espécies ameaçadas da IUCN, livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção no MMA e lista estadual da fauna ameaçada, outras listas podem ser utilizadas de forma complementar), endêmicas, raras, as não descritas previamente para a área estudada ou pela ciência, as passíveis de serem utilizadas como indicadores de qualidade ambiental, as de importância econômica e cinegética.</p> <p>b) Detalhamento da captura, tipo de marcação, triagem e dos demais procedimentos a serem adotados para os exemplares capturados ou coletados, informando o tipo de identificação individual, registro e biometria.</p> <p>c) Esforço e eficiência amostral, parâmetros de riqueza e abundância das espécies, índice de diversidade, coeficiente de similaridade entre as áreas e demais análises estatísticas pertinentes, por fitofisionomia e grupo inventariado, contemplando a sazonalidade em cada área amostrada.</p> <p>d) Tabela contendo todos os indivíduos capturados e observados apresentando nome científico, nome comum, tipo de marcação, sequência de marcação, área amostral, fitofisionomia, habitat, coordenadas planas (UTM – datum horizontal SIRGAS 2000), estação do ano, método de registro, data, horário de registro, sexo, estágio reprodutivo, estágio de desenvolvimento, status de conservação (IUCN, MMA, lista estadual), endemismo, destinação e o coletor/observador. Adicionalmente, devem ser registrados os dados biométricos e sanitários dos espécimes capturados.</p> <p>e) Anexo digital com lista dos dados brutos dos registros de todos os espécimes – forma de registro, local georreferenciado (sistema de coordenadas planas, projeção UTM, datum horizontal SIRGAS 2000), habitat e data;</p> <p>f) Cartas de recebimento das Instituições Depositárias, originais ou autenticadas em cartórios contendo todos os espécimes coletados, detalhando as espécies, quantidades e número de tomo. Os espécimes oriundos desta Autorização não poderão ser comercializados.</p>		

 <b>MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS DIRETORIA DE LICENCIAMENTO AMBIENTAL</b>		
<b>AUTORIZAÇÃO DE CAPTURA, COLETA E TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO</b>		
<b>PROCESSO IBAMA Nº 02001.001848/2006-75</b>	<b>AUTORIZAÇÃO Nº 064/2012 1º RENOVAÇÃO</b>	<b>VALIDADE Válida até 28/02/2021</b>
<b>CONTINUAÇÃO DAS CONDICIONANTES</b>		
2.3. Qualquer alteração na metodologia deve ser comunicada ao Ibama para avaliação.		