



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PORTO NACIONAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DANILO NUNES DE SANTANA

HISTOLOGIA DESCRITIVA DO ESÔFAGO DE JUVENIS DE *Podocnemis unifilis*
(TROSCHER, 1848) (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE)

Porto Nacional 2023

Danilo Nunes de Santana

**HISTOLOGIA DESCRITIVA DO ESÔFAGO DE JUVENIS DE *Podocnemis unifilis*
(TROSCHER, 1848) (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE)**

Monografia apresentada à Universidade Federal do
Tocantins (UFT), *Campus* Universitário de Porto
Nacional para obtenção do grau de bacharel em Ciências
Biológicas

Orientadora: Dr^a. Ana Beatriz Nunes Ribeiro

Coorientadora: Dr^a. Kellen Lagares Ferreira Silva

Porto Nacional 2023

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

S232h Santana, Danilo Nunes de.
Histologia descritiva do esôfagos de juvenis de *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines: Podocnemididae). / Danilo Nunes de Santana. – Porto Nacional, TO, 2023.

45 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus
Universitário de Porto Nacional - Curso de Ciências Biológicas, 2023.

Orientadora : Ana Beatriz Nunes Ribeiro

Coorientadora : Kellen Lagares Ferreira Silva

1. Traçajá. 2. Projeção papilar. 3. Prega longitudinal. 4. Histologia. I. Título

CDD 570

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 nº 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).

DANILO NUNES DE SANTANA

**HISTOLOGIA DESCRITIVA DO ESÔFAGO DE JUVENIS DE *Podocnemis unifilis*
(TROSCHER, 1848) (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE)**

Monografia apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Porto Nacional, Curso de ciências biológicas, foi avaliado para a obtenção do título de graduação e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 14/ 11 / 2023

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a Ana Beatriz Nunes Ribeiro, UEAP

Prof. Dr. Thiago Nilton Alves Pereira, UFT

Ma. Débora dos Santos Pereira, UFOPA

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a minha família, em especial minha mãe Erislene Floriano, por ser meu exemplo e minha maior fonte de incentivo durante a graduação, minha irmã pelo companheirismo e meu irmão que mesmo longe, me apoiou. Ao meu padrinho pelo incentivo e auxílio.

Agradeço minhas orientadoras Kellen Lagares e Ana Beatriz Nunes, pela confiança e excelente orientação durante dois anos de Pibic e desenvolvimento da monografia. à professora Marcela Magalhães pela oportunidade de obter as imagens na microscopia de varredura no laboratório de microscopia do INPA. Ao professor Thiago Nilton pela disponibilidade no laboratório durante o desenvolvimento da monografia. À Universidade Federal do Tocantins por dar acesso e oportunizar conhecimento, além do apoio financeiro e da iniciação científica nos últimos dois anos. E à equipe de laboratório, em especial a Vic, com toda calma e conselhos dados durante os anos de estágio, e especialmente a Ritinha. O ditado é claro: quem tem Rita tem tudo. Seu suporte foi imprescindível para a conclusão deste trabalho.

Agradeço ao Jonatas por ser meu sócia durante os quatro anos (difícil achar alguém que não trocasse nossos nomes), para os faladores meu namorado, quando não meu assessor. Sem ele muitas matrículas não seriam feitas (se bem que nunca foi pensando em mim, só não queria cursar 9 disciplinas por período sozinho) ou trabalho concluído. Sou extremamente grato. Agradeço a minha dupla Yasmin, a única pessoa com quem roubaria um banco e só perguntaria "vamos no carro de quem?", aquela com quem divido o grau máximo de ego e autoestima.

Agradeço aos meus amigos de longa data, família que escolhi, Caio, Raquel, Rafael, Gabi, Santos e Alice: sem vocês durante as noites mais densas, não haveria o dia mais claro. Agradeço aos amigos feitos na universidade e pelos momentos vividos com estes, os rolês na casa da Rizia (ahh se aquelas cartas falassem), Gustavo com seu olho sempre fechado (abre o olho Gustavo), Bia com nossas discussões sobre se tudo é peixe ou não (sou teimoso, só digo isso), Celine e o fliperama dela na sala dos estágios (top 3coisas, Adedonha, uno).

Agradeço a minha namorada que, mesmo sem saber, por dois anos me orientou a ser melhor em todos os sentidos e esteve presente em casa etapa do meu desenvolvimento acadêmico.

“Não agradeço” ao legue of legend às horas perdidas que não foram poucas, neurônios perdidos e ódio acumulado, mas foi imprescindível para desbloquear a conquista "melhor amigo feito em jogo". E essa dedico à laysa (meu duo), yen (a líder por excelência) e Minaj (Sup para todas as horas).

Por fim, agradeço aos colaboradores que foram mais que essenciais para o desenvolvimento dessa pesquisa com todo suporte em campo: Roberto, Suleny e seu Vanor.

RESUMO

A região amazônica abriga 17 espécies de quelônios, onde a família Podocnemididae tem relevância na ecologia e cultura local, atuando na ciclagem de nutrientes e subsistência de comunidades locais. Entre elas, *Podocnemis unifilis*, de ampla distribuição, que possui hábito alimentar onívoro com tendência à herbivoria. Essa pesquisa investigou aspectos anatômicos e histológicos do esôfago de *P. unifilis*, para colaborar com dados sobre a espécie e características específicas desta. Neste estudo, foram coletados cinco espécimes juvenis de *P. unifilis* do rio Tocantins, entre os municípios de Itapiratins e Tupiratins, a partir de coleta ativa (linha e anzol), transportados para o laboratório de Anatomia Vegetal e Técnicas histológicas (UFT- *Campus* Palmas), submetidos à protocolos biométricos e de eutanásia. As amostras foram fixadas em formol 10% e armazenadas em álcool 70% para análise em microscopia de luz, iniciado na desidratação das amostras de esôfago, emblocamento em parafina para microtomia à 4µm, aderindo os cortes a lâminas histológicas com adesivo de Haupt e formalina. Após isso, as lâminas foram coradas em Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricrômio de Masson (TM). Ainda, amostras foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura, para comparação com análises em microscopia de luz. Na análise histológica foi observada uma região mucosa, constituída por epitélio estratificado; uma submucosa, formada por tecido conjuntivo frouxo, havendo adaptações como projeções destas, originando papilas e invaginações e formando pregas longitudinais na porção anterior do órgão, atuando na expansão de volume do esôfago de modo a acomodar diferentes tamanho de alimentos. As adaptações anatômicas e histológicas observadas, foram reflexos de seu aspecto alimentar. O esôfago é anatomicamente tubular, composto por camadas de mucosa (produção de muco e enzimas), submucosa (produção enzimática, sustentação e nutrição) revestidas por musculatura lisa. Esta é responsável por movimentos peristálticos que impulsionam o alimento em direção ao estômago. A região mucosa possui região superficial irregular com a presença de fendas, responsável pela liberação de muco que lubrifica e libera enzimas pré-digestivas. Conclui-se que as adaptações do esôfago correspondem as características alimentares indicadas para a espécie. Ainda que, se tratando de espécimes juvenis, essas adaptações podem modificar-se ao longo do seu desenvolvimento, conforme relatado na literatura para espécies do mesmo gênero. Esses dados podem colaborar com a identificação e caracterização da espécie e estratégias de manejo e conservação dos aspectos alimentares.

Palavras-chaves: Tracajá, Projeção papilares, Pregas longitudinais.

ABSTRACT

The Amazon region is home to 17 species of chelonians, where the Podocnemididae family is relevant to local ecology and culture, acting in nutrient cycling and the subsistence of local communities. Among them, *Podocnemis unifilis*, widely distributed, which has an omnivorous feeding habit with a tendency towards herbivory. This research sought to investigate anatomical and histological aspects of the esophagus of *P. unifilis*, to collaborate with data on the species and its specific characteristics. In this study, five juvenile specimens of *P. unifilis* were collected from the Tocantins River, between the municipalities of Itapiratins and Tupiratins, through active collection (line and hook), transported to the Plant Anatomy and Histological Techniques laboratory (UFT- *Campus* Palmas), subjected to biometric and euthanasia protocols. The samples were fixed in 10% formaldehyde and stored in 70% alcohol for analysis under light microscopy, starting with dehydration of the esophageal samples, embedding in paraffin for microtomy at 4 μ m, adhering the sections to histological slides with Haupt's adhesive and formalin. Afterwards, the slides were stained with Hematoxylin and Eosin (HE) and Masson's Trichrome (TM). Furthermore, samples were analyzed using scanning electron microscopy, for comparison with analyzes using light microscopy. In the histological analysis, a mucous region was observed, consisting of stratified epithelium; a submucosa, formed by loose connective tissue, with adaptations such as projections of these, originating papillae and invaginations and forming longitudinal folds in the anterior portion of the organ, acting to expand the volume of the esophagus in order to accommodate different sizes of food. The observed anatomical and histological adaptations were reflections of its dietary appearance. The esophagus is anatomically tubular, composed of layers of mucosa (mucus and enzyme production), submucosa (enzyme production, support and nutrition) covered by smooth muscles. It is responsible for peristaltic movements that propel food towards the stomach. The mucous region has an irregular surface region with the presence of cracks, responsible for the release of mucus that lubricates and releases pre-digestive enzymes. It is concluded that the adaptations of the esophagus correspond to the dietary characteristics indicated for the species. Although, in the case of juvenile specimens, these adaptations can change throughout their development, as reported in the literature for similar species in the same genus. These data can collaborate with the identification and characterization of the species and management and conservation strategies for food aspects.

Key-words: Yellow-spotted Amazon River turtle; Papillary projection; Longitudinal folds.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Imagens de exemplares de <i>P. unifilis</i> em dois diferentes estágios de desenvolvimento. A: espécime filhote, caracterizados pela presença de manchas amarela vibrante ao longo do casco e cabeça; B: fêmea adulta, caracterizadas pela coloração de suas manchas em marrom-escuro. Fonte: autor, 2023..... | 14 |
| Figura 2: Pontos de amostragem e municípios ao entorno (Itapiratins e Tupiratins). Fonte: IBGE, 2020. | 15 |
| Figura 3: medição dos dados biométricos de espécime de <i>P. unifilis</i> , utilizando-se de paquímetro manual em escala. Fonte: autor, 2023..... | 16 |
| Figura 4: Etapa de microtomia, obtenção de “fitas” contendo amostras de conteúdo animal. Fonte: autor, 2023. | 19 |
| Figura 5: Desidratação das amostras em álcool. Fonte: autor, 2023. | 20 |
| Figura 6: <i>Tubo digestivo dissecado de P. unifilis em escala com paquímetro manual. a: esôfago; b: estômago; c: baço; d: intestino. Fonte: autor, 2023.</i> | 24 |
| Figura 7: Eletromicrografia das papilas esofágicas e suas projeções voltadas ao estômago de <i>P. unifilis</i> . sendo a papila (P) bi ponteadas apresentando um cume maior (C1) no ápice da papila e um cume originado na porção. Fonte: autor, 2023. | 26 |
| Figura 8: Fotomicrografia das papilas esofágicas direcionadas ao estômago. (a→): epitélio estratificado pavimentoso, (→b): epitélio estratificado cilíndrico. corada em HE. imagem aumentada em 4x, barra: 100µm. Fonte: autor, 2023. | 27 |
| Figura 9: Fotomicrografia dos esôfagos de <i>P. unifilis</i> evidenciando as divisões do esôfago em: mucosa, submucosa e muscular. A: epitélio estratificado. a: região mucosa; B: transição entre camada muscular e submucosa, b: região muscular propriamente dita; C: região de transição entre mucosa e submucosa. c: região mucosa propriamente dita, constituída por tecido epitelial estratificado cilíndrico, d: submucosa constituída por tecido conjuntivo frouxo; D: região mucosa, e:epitelial pavimentoso. Imagem corada em HE em aumento de 10x, barra: 100µm. Fonte: autor, 2023. | 28 |
| Figura 10: Fotomicrografia da região mucosa de <i>P. unifilis</i> . a: epitélio estratificado cilíndrico e pavimentoso; b: células secretoras, c: células superficiais cilíndricas alongadas da mucosa, d: rompimento do tecido epitelial, e: vasos sanguíneos irrigando a região submucosa; (→) pregas longitudinais. Imagem coradas em HE em aumento de 10x. Fonte: autor, 2023. | 29 |
| Figura 11: Fotomicrografia da mucosa, evidenciando regiões secretoras de muco. A: mucosa esofágica formada por células estratificadas pavimentosa, imagem corada em HE em aumento de 4x, barra: 100µm, (→) complexo de células secretoras e formação de glândulas exócrinas; B: epitélio pavimentoso, (a) glândula exócrina corado em HE em aumento de 40x, barra: 50 µm, Fonte: autor, 2023. | 30 |
| Figura 12: Eletromicrografia da região papilar do esôfago de <i>P. unifilis</i> , A: região entre papilas, papila 1 (P1) e papila 2 (P2), abordando pontos de excreção de muco através de fendas de liberação (F); B: disposição do epitélio superficial do esôfago na região papilar. Fonte: autor, 2023. | 31 |
| Figura 13: Fotomicrografia da região posterior do esôfago, A:caracterizado pela presença de pregas longitudinais, (→) pregas, formação originadas a partir de reentrâncias da mucosa e submucosa. imagem corada em HE em aumento de 4x, barra: 100µm; B: (→) feixes cartilagosos na mucosa (fibras azuis). imagem corada em TM em aumento de 10x, barra: 100 µm. Fonte: autor, 2023..... | 32 |

Figura 14: Fotomicrografia do esôfago de *P. unifilis*. A: glândula secretora, imagem corada em HE em aumento de 40x, barra: 50 µm; B: atribuída coloração avermelhada para fibras musculares, citoplasma, ceratina, acidófilo e tons azul para colágeno. (-) região submucosa, a: fibras colágenas, representado a maior parte da região submucosa, b: musculatura lisa, c: vasos sanguíneos, d: ramificação de feixes cartilagosos no epitélio estratificado pavimento e circular; (→) ramificação de fibras colágenas entre a musculatura lisa. Imagem corada em TM em aumento 10x, barra: 100µm; Fonte: autor, 2023..... 33

Figura 15: Fotomicrografia da submucosa do esôfago de *P. unifilis* caracterizada por nutri mucosa e sustentar os tecidos adjacentes. A: região de submucosa composta por células pavimentosas, (→) zona de transição entre a derme e epiderme constituída de lâmina basal. imagem corada em HE em aumento de 4x, barra 100µm; B: vasos sanguíneos observados na região submucosa em *P. unifilis*. imagem corada em HE em aumento de 40x, barra: 50 µm. Fonte: autor, 2023. 34

Figura 16: Fotomicrografia da região mais externa do esôfago de *P. unifilis*, caracterizada pela presença de musculatura lisa responsável pelo movimento peristáltico do órgão. A: região muscular corada em Tricrômico de Masson. a: fibras musculares dispostas em círculos concêntricos; b: fibras musculares dispostas paralelamente ao longo de todo o segmento do esôfago. B, região muscular corada em Hematoxilina e Eosina. a: camada muscular circular; b: camada muscular longitudinal. Ambas as imagens em aumento de 4x, barras: 100µm. Fonte: autor, 2023. 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------|---|
| CCAR | Comprimento da Carapaça |
| CEUA/UFT | Comite de Ética no Uso de Animais da Universidade do Tocantins |
| CFMV | Conselho Federal de Medicina Veterinária |
| CPLA | Comprimento do Plastrão |
| EPI | Equipamento de Proteção Individual |
| HE | Hematoxilina e Eosina |
| IBAMA | Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis |
| ICMBio | Instituto Chico mendes de Conservação da Biodiversidade |
| LCAR | Largura da Carapaça |
| LPLA | Largura do Plastrão |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| RAN | Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Repteis e Anfíbios |
| SISBIO | Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade |
| TM | Tricoma de Masson |
| UFT | Universidade Federal do Tocantins |
| IUCN | International Union for Conservation of Nature |
| MMA | Ministério do Meio-Ambiente |
| UHE | Usina Hidrelétrica |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 10 |
| 2 OBJETIVOS | 13 |
| 2.1 Geral | 13 |
| 2.2 Específicos | 13 |
| 3 METODOLOGIA | 14 |
| 3.1 A espécie | 14 |
| 3.2 Área de Estudo | 14 |
| 3.3 Biometria e eutanásia | 16 |
| 3.4 Microscopia de Luz | 17 |
| 3.4.1 Emblocamento | 17 |
| 3.4.2 Microtomia e montagem de lâminas..... | 18 |
| 3.4.3 Coloração de lâminas..... | 19 |
| 3.4.3.1 <i>Hematoxilina e Eosina (HE)</i> | 19 |
| 3.4.3.2 <i>Tricrômio de Masson (TM)</i> | 20 |
| 3.4.4 Análise das lâminas | 21 |
| 3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) | 21 |
| 3.5.1 Preparação das amostras..... | 21 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 23 |
| 4.1 Anatomia e histologia do esôfago | 23 |
| 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 36 |
| REFERÊNCIAS | 38 |
| ANEXOS | 43 |
| ANEXO A: Autorização do comitê de ética no uso de Animais – CEUA/UFT | 43 |

1 INTRODUÇÃO

A ordem Chelonia ou Testudine corresponde a linhagem mais antigas dentre os répteis, tendo os fósseis datados em carbono com idade aproximada de 200 milhões anos, apontando que os ancestrais dos quelônios atuais tenham surgido no período Jurássico (SHAFFER, 2009; PÉRAZ-GARCIA, 2011; RABI, 2014; PÉRAZ-GARCIA, 2022). O êxito evolutivo do grupo está intimamente relacionado às modificações dos tegumentos ósseos e epidérmicos destes animais, possibilitando o surgimento do casco na linhagem, conferindo um alto nível de proteção ao grupo (SHAFFER, 2009). A apomorfia do casco é considerada uma das principais sinapomorfia de quelônios, formado pela fusão das costelas vertebrais, originando a carapaça (dorsalmente); e plastrão, originado pela fusão das costelas abdominais (ventralmente). Outras adaptações exclusivas do grupo podem ser citadas como bico córneo similar ao de aves, adaptação anatômica da cintura pélvica e abdominal (SHAFFER, 2009)

Os quelônios surgiram inicialmente em ambiente terrestre, e ao longo da evolução se adaptaram para habitar também em ambiente dulcícola e marinho. Dessa forma, adaptações na fisiologia desse grupo também surgiram, como por exemplo maturação sexual tardia, alta produção de ovos no período reprodutivo e alternância de geração demorada (LUSCHI *et al.*, 2003; WYNEKEN, 2007; NAFUS, 2022). A expansão dos quelônios contribui para a alta exploração de diferentes espécies que apesar de serem resguardadas por lei, são altamente exploradas através do consumo de sua carne e ovos, e comercialização de filhotes e adultos (FERREIRA, 2003).

Atualmente, os representantes da ordem Chelonia estão distribuídos em 14 famílias pertencentes a duas subordens, que se diferenciam de acordo com a forma que os animais retraem o pescoço para dentro do casco. São elas: subordem Cryptodira, no qual agrupa os animais que retraem o pescoço para o interior do casco de forma vertical (tartarugas, jabutis) e algumas espécies de cágados, como o tigre d'água; e subordem Pleurodira, com animais que retraem o pescoço no plano lateral ao casco (LEGLER, 1993; MEYLAN, 1999). Embora os Cryptodira apresentem a maior diversidade de famílias, globalmente totalizando 11 famílias, no Brasil são representados apenas por 7 espécies em 3 famílias (Cheloniidae, Dermochelyidae e Testudinidae). Os Pleurodira possuem apenas três famílias (Chelidae, Pelomedusidae e Podocnemididae) e contam com a ocorrência de 30 espécies em território brasileiro, apresentando 15 espécies na região amazônica (VOGT, 2008; COSTA, 2018; VAN DIJK, 2019; SOUSA, 2021).

A região amazônica comporta uma gama de espécies de cágados, e a família Podocnemididae tem um importante papel de destaque na fauna e cultura local (ROCHA; FACHÍN-TERÁN, 2011). O gênero *Podocnemis* pertencente à esta família, conta com seis espécies: *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848), *Podocnemis expansa* (Scheigger, 1812), *Podocnemis sextuberculata* (Cornalia, 1849) *Podocnemis erythrocephala* (Spix, 1824), *Podocnemis vogli* (Muller, 1935) e *Podocnemis lewyana* (A. Duméril, 1852), sendo apenas as duas últimas não ocorrem em território brasileiro.

A espécie *P. unifilis* (tracajá) toma destaque na região amazônica por apresentar papel crucial na ecologia e conservação dos habitats que estão inseridas, atuando no controle populacional de plantas aquáticas, auxiliando na ciclagem de nutrientes terrestres e aquáticos, uma vez que seus ovos após a eclosão fertilizam o solo em que foram depositados. Além disso, filhotes e adultos servem de presa para diversos nichos ecológicos (VOGT, 1993; VOGT, 2008). *P. unifilis* é vista como símbolo de programas de conservação e possui um forte laço com comunidades tradicionais, sendo utilizada em cerimônias, culinária, até mesmo como forma de subsistência (IBAMA, 1989; PEZZUTI, 2018).

De acordo com Vogt (2008), espécimes de *P. unifilis* (tracajá) em estágio maduro podem medir 50cm e possuir um peso aproximadamente de 12.5kg, tornando essa a segunda maior espécie do gênero *Podocnemis* em dados biométricos, estando atrás apenas de *P. expansa* (Tartaruga da Amazônia). O tracajá por não ser seletivo em relação às áreas de desovas, podem construir ninhos em locais de praias ou em substratos nos leitos dos rios, depositando de 15 a 30 ovos que levam de 50 a 90 dias para eclodirem (VOGT, 2008; FONSECA, 2020). As populações do tracajá são generalista em quanto à seus habitats, sendo amplamente distribuídas ao longo da América do sul e da bacia amazônica (IBAMA, 1989; RAN/ICMBio, 2016), com registro de ocorrência em nove países do norte da América do Sul (Brasil, Venezuela, Equador, Colômbia, Bolívia, Suriname, Guiana, Peru e Guiana Francesa), ocorrendo em lagos, rios, riachos e em regiões de planalto inundável, (RHODIN *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2022), associadas a habitats de águas claras, escuras e turvas (VOGT, 2008),

Essa variação de habitats pode ter influenciado diretamente nos aspectos alimentares do Tracajá, por apresentarem hábitos alimentar tipicamente onívoro, tendo sua dieta constituída majoritariamente por material vegetal, chegando a compor 90% da dieta da espécie como, caules, folhas, raízes, talos e sementes, variando sua dieta em pequenos invertebrados como crustáceos ou mesmo consumindo pequenos peixes (PORTAL, 2002; SANTOS-JUNIOR, 2009; GARCEZ, 2012). A plasticidade alimentar é diretamente relacionada aos diferentes nichos e habitats que essa espécie pode ocupar (FACHÍN-TERÁN, VOGT, 2004; AGOSTINI, 2016).

Diversos animais herbívoros apresentam adaptações morfológicas que auxiliam diretamente em seus hábitos alimentares, como por exemplo a presença de dentes especializados (FELIX, 2012), ou modificações no sistema digestório, podendo possuir compartimentos extras no caso dos ruminantes (RIBEIRO, 1983) ou cecos extremantes desenvolvidos nos herbívoros monogástricos (DOMINGUES, 2009).

Vogt (2004) descreve o tubo digestivo de quelônios adaptados a sua alimentação e com presença de papilas e pregas longitudinais ao longo do esôfago, ou mesmo ao longo da cavidade bucal como presente em tartarugas marinhas das espécies *Dermochelys coriacea* e *Chelonia mydas* (MAGALHÃES, 2010; REIS, 2017). Estas papilas são modificações anatômicas a partir de alterações estruturais do epitélio e tecido conjuntivo do tubo digestivo desses animais, assim como descrito por Magalhães (2012).

Desta forma o levantamento de dados científicos sobre espécies silvestres desempenha papel significativo para a compreensão das características, ecologia e conservação destes grupos. A histologia é um meio de se levantar esses dados, podendo ajudar no entendimento de sua biologia, monitoramento da saúde populacional e até na compreensão das adaptações dos organismos ao ambiente natural.

No caso dos esôfagos de quelônios, diversos indivíduos apresentam projeções de papilas em diferentes graus de desenvolvimento e quantidade delas, no qual podem estar presente em diferentes nichos ecológicos havendo diferentes hábitos alimentares, embora seja uma característica comum em diferentes linhagens de quelônios, pouco se sabe do desenvolvimento das mesma ou como se compartilha a anatomia do esôfago neles grupos nos primeiros estágios de desenvolvimentos, do embrião ao juvenil, uma vez que em sua maioria os trabalhos que englobam o trato digestório de quelônios estão voltados ao estágio adulto dos quelônios.

Dito isso, o presente trabalho objetifica o estudo histológico e anatômico do esôfago de *P. unifilis* em estágio de desenvolvimento juvenil, visando gerar descrições quanto a sua organização histológica e anatômica.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Caracterizar os aspectos morfológicos dos tecidos presentes no esôfago de *P. unifilis*, elevando o acervo de dados a respeito deste órgão, a partir de descrições histológicas.

2.2 Específicos

- Identificar a organização dos tecidos do esôfago de *P. unifilis*;
- Descrever a morfologia do esôfago da espécie;
- Discorrer sobre a anatomia do esôfago.

3 METODOLOGIA

3.1 A espécie

Morfologicamente, destacam-se possuindo manchas em amarelo na cabeça e nas bordas da carapaça quando filhotes (figura 1A), o que confere a essa um de seus nomes populares como “tartaruga de cabeça amarela”. Essas “manchas” se perdem nas fêmeas ao longo da maturação sexual, permanecendo uma tonalidade de marrom-escuro (figura 1B). Os machos as mantêm na cabeça, em uma tonalidade menos vibrante (VOGT, 2008).

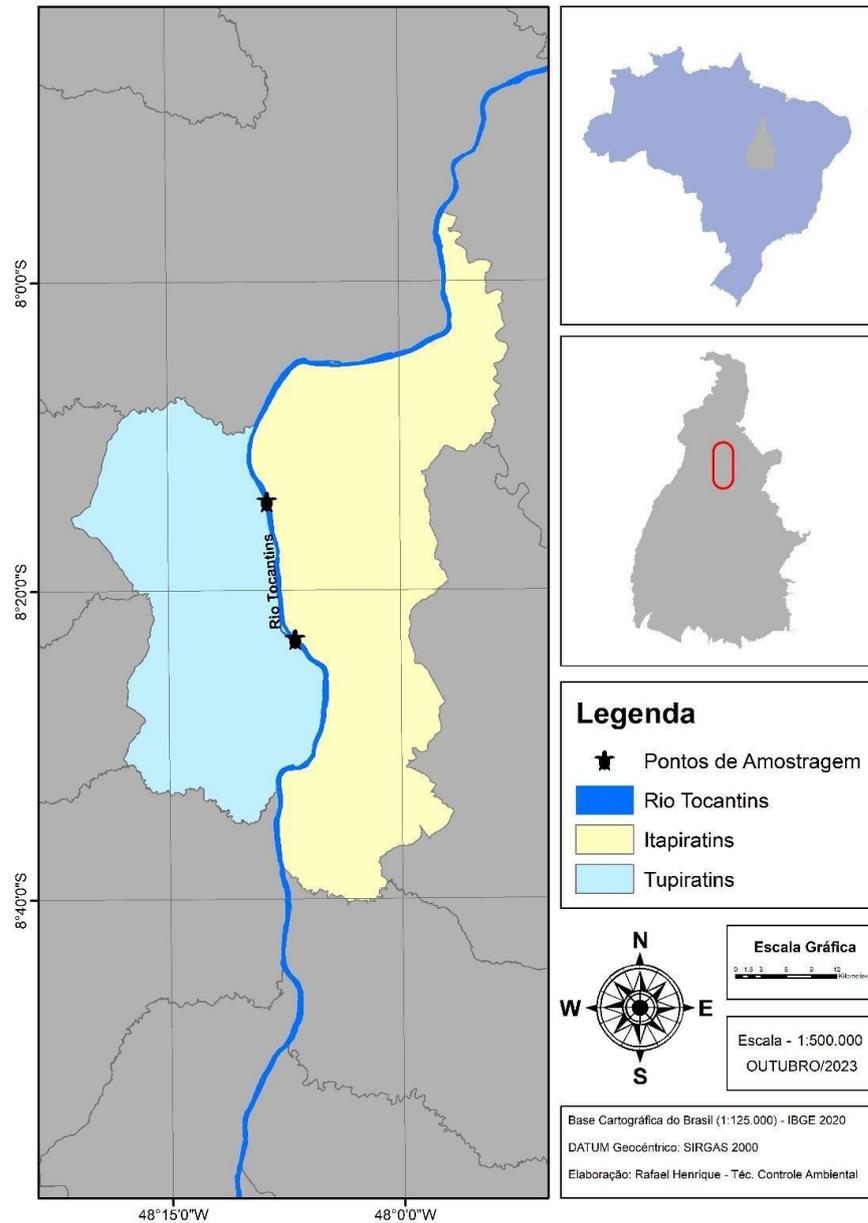
Figura 1: Imagens de exemplares de *P. unifilis* em dois diferentes estágios de desenvolvimento. A: espécime filhote, caracterizados pela presença de manchas amarela vibrante ao longo do casco e cabeça; B: fêmea adulta, caracterizadas pela coloração de suas manchas em marrom-escuro. Fonte: autor, 2023.



3.2 Área de Estudo

Os espécimes estudados neste trabalho foram coletados no Rio Tocantins, entre os municípios de Itapiratins e Tupiratins (figura 2), próximos as coordenadas 8°23'11.2"S 48°06'50.1"W e 8°14'16.4"S 48°08'35.5"W. Essa região é drenada pela Bacia Tocantins Araguaia, correspondendo a bacia mais drenada na América do Sul para atividades com fins agrícolas, pecuários, abastecimento municipais e geração de energia elétricas (SOUZA, 2002; AQUINO et al, 2009).

Figura 2: Pontos de amostragem e municípios ao entorno (Itapiratins e Tupiratins). Fonte: IBGE, 2020.



A coleta dos juvenis de *P. unifilis* ocorreram com a autorização do Sistema de Autorização e Informação de Biodiversidade (SISBIO/ICMBio), através de técnicas de capturas de quelônios desenvolvidas em Instituto Nacional de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 1989) como “linha e anzol”. O método consiste na utilização de iscas atrativas, acoplada em anzol pequeno, encastoadada em linha de *nylon* ou multifilamento.

Foram coletados cinco espécimes juvenis entre junho e agosto de 2022, que foram transportados ao Laboratório de Anatomia Vegetal e Técnicas Histológicas da UFT- *Campus Palmas*). Os animais foram aclimatados em tanque com água, com o intuito de manter a hidratação destes.

3.3 Biometria e eutanásia

O protocolo biométrico seguido ocorreu conforme descrito em Ribeiro (2012), utilizando de paquímetro para as seguintes medidas: nas projeções longitudinais: comprimento da carapaça – Ccar e comprimento do plastrão – Cpla; e transversal: largura da carapaça – Lcar e largura do plastrão – Lpla.

Figura 3: medição dos dados biométricos de espécime de *P. unifilis*, utilizando-se de paquímetro manual em escala. Fonte: autor, 2023.



Logo após a biometria deu-se início ao protocolo de eutanásia animal, efetuados em consonância com o Conselho Federal de Medicina Veterinária na Resolução nº 1000/2012 (CFMV, 2012) e assegurado pela autorização do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFT) no processo nº23101.002389/20-331 (anexo 1), seguindo as etapas:

- Dessensibilização em gelo por 60 minutos;
- Sangria;
- Serragem da carapaça – plastrão;
- Dissecção dos órgãos (esôfago);

- Fixação das amostras em formol 10% tamponado em tampão fosfato e estoque em álcool 70%.

A dessensibilização é um protocolo comum e obrigatório em protocolos de eutanásia, fazendo-se o uso de medicamentos, substâncias, entre outros, com o intuito de reduzir as atividades metabólicas dos animais, deixando-os em estado dormente de modo que a dor seja minimizada no momento da sangria. Para quelônios, por pertencerem ao grupo dos reptéis e possuírem a regulação corporal pelo meio externo (ectotérmicos), utiliza-se gelo para reduzir a temperatura dos animais, colocando-os em um modo similar a à “hibernação” induzida.

Após a retirada da dessensibilização, iniciou-se o procedimento da sangria através de uma incisão na região jugular do animal, interrompendo a circulação sanguínea e possibilitando o extravasamento do maior aporte de sangue possível, com o intuito de facilitar visualização dos órgãos no momento da dissecação.

A serragem constitui da separação da carapaça e plastrão na região da ponte pélvica e escapular, caracterizado pelo ponto no qual as costelas vertebrais se fundem com as costelas abdominais. Essa separação foi efetuada com alicates de corte, por se tratarem de espécimes juvenis e a ossificação não apresentar maior resistência.

A dissecação ocorreu com o auxílio de bisturis e tesouras cirúrgicas, e todos os órgãos foram removidos de forma a não prejudicar os tecidos. O esôfago foi seccionado em duas porções: a primeira sendo logo após o encerramento da boca, no início do tubo esofágico; e o segundo ponto próximo ao início do estômago. Em razão de ausência de esfíncter visível na espécie, não há uma delimitação exata de onde finaliza o esôfago e inicia-se o estômago, sendo a última porção seccionada no início da região cárdica do estômago.

Após a separação do esôfago, este foi seccionado em amostras menores para facilitar a fixação. As amostras foram fixadas em formol 10% tamponado com tampão fosfato, permanecendo por 72 horas, no intuito de interromper os processos celulares, como a autólise, preservando assim os tecidos, e após foi substituído por álcool 70% para estoque.

3.4 Microscopia de Luz

3.4.1 Emblocamento

As amostras dos esôfagos seguiram protocolos de emblocamento em parafina que se inicia na desidratação das amostras. A desidratação é necessária devido a insolubilidade da parafina em água, característica que impede a infiltração direta da parafina nos tecidos animais. A desidratação ocorreu através da imersão das amostras em diferentes concentrações de álcool

etílico, de forma a seguirem uma escala crescente de concentração (álcool 70% - álcool 95% I - álcool 95% II - álcool 100% I - álcool 100% II) durante o intervalo de tempo de 1 (uma) hora cada. O protocolo finalizou com a adição das amostras em duas etapas de xilol 100% com duração de 40 (quarenta) minutos cada. Esse protocolo é adaptado de Carvalho (2012).

A inclusão da parafina aos tecidos do esôfago ocorreu através da imersão das amostras em parafina derretida à 60°C, posteriormente submetidas a parafina contendo 8% de cera de abelha e mantidas em estufa aquecedora por 60 minutos à 60°C. O processo de inclusão ou parafinização é caracterizado por adesão de parafina nas estruturas celulares, visando manter a amostra íntegra durante a confecção das lâminas histológicas e corte no micrótomo. As amostras já incluídas foram transferidas para moldes de papel em formato cúbico e preenchidos com parafina derretida contendo 8% de cera de abelha.

3.4.2 Microtomia e montagem de lâminas

Os blocos obtidos foram armazenados em ambiente refrigerado e, após o endurecimento da parafina, se iniciaram as etapas de microtomia, executando cortes à 10µm para remover o excedente da parafina; e após a remoção passou a ser cortado a uma espessura entre 5µm e 4µm (figura 4).

Figura 4: Etapa de microtomia, obtenção de “fitas” contendo amostras de conteúdo animal. Fonte: autor, 2023.



Foram obtidos cortes do tecido que foram aderidos a lâmina histológica com auxílio de adesivo de Haupt, utilizando de formalina 5% e chapa aquecedora, impedindo que houvesse sobreposição tecidual ou enrugamento da amostra.

3.4.3 Coloração de lâminas

3.4.3.1 Hematoxilina e Eosina (HE)

Inicialmente as lâminas foram hidratadas a partir de imersões (figura 6) em concentrações decrescentes de álcool (absoluto, 95%, 95%, 70%). Após a hidratação passa-se à etapa de coloração propriamente dita, iniciada com a imersão das lâminas em Hematoxilina de Harris, coloração caracterizada por ser base e apresentar uma reação de coloração em componentes ácidos das células de forma a atribuir coloração em tons de roxo. Em seguida foram submetidas ao diferenciador (ácido clorídrico 1%), e posteriormente coradas com Eosina que, por ser um corante de pH baixo (ácido), tende a reagir com os componentes básicos, atribuindo a essas tonalidades alaranjadas.

Figura 5: Desidratação das amostras em álcool. Fonte: autor, 2023.



Posterior a coloração, os cortes passaram por etapa de desidratação em álcool e xilol para montagem das lâminas permanentes, tendo a fixação das lamínulas de vidro com auxílio de bálsamo-do-canadá (sintético). Após essa etapa as lâminas permaneceram em secagem para análise em microscópio.

3.4.3.2 *Tricrômio de Masson (TM)*

A coloração em Tricrômio de Masson é composta de três corantes (hematoxilina, mix de corantes ácidos e azul de anilina), responsáveis por corar núcleo, citoplasmas e colágeno, respectivamente. Foi utilizado para verificação e coloração de segmentos de fibras colágenas e musculares nos tecidos presente no esôfago de *P. unifilis*.

Para este protocolo de coloração foi utilizado kit de coloração rápida, produzido pelo Grupo Erviegas “HistoKit™: Masson Trichrome (with aniline blue) revisão 01/2023” e utilizados de matérias e métodos produzidos e recomendados pelo fabricante.

A montagem final das lâminas permanentes ocorreu após protocolo de desidratação designado pelo kit e auxílio do balsamo-do-canadá (sintético) para fixação das lamínulas de vidro.

3.4.4 Análise das lâminas

As lâminas produzidas seguiram para análises em microscopia de luz (Leica DM500) com imagens capturadas pelo software Leica (Las EZ). Utilizando de trabalhos comparativos e revisões bibliográficas referentes a histologia do trato digestório de quelônios e do gênero *Podocnemis* foi elaborada a descrição histológica do esôfago de *P. unifilis*.

3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

3.5.1 Preparação das amostras

O protocolo se iniciou com a preparação das amostras fixadas, cortadas em espessuras variando de 0,2 a 0,4mm. Posteriormente, as amostras passaram por uma etapa de lavagem em água destilada, com duração de aproximadamente 10 minutos. Essa lavagem teve como objetivo a remoção do excedente de fixador contido nas amostras, a fim de prepará-las para etapas subsequentes do processo.

Após a lavagem, as amostras foram imersas em tampão fosfato, por um período de 72 horas. Posteriormente, as amostras foram conduzidas a uma lavagem em água ultrapura através das transferências das amostras para tubos de *ependorf* de 2,5mL contendo água ultrapura, permanecendo aproximadamente 30 minutos. Na sequência, as amostras foram imersas em 1000 μ L de glicerol 16%, sendo mantidas por 24 horas. Essa etapa visa impedir danos estruturais aos tecidos.

Após 24h, as amostras foram submetidas a uma fase de desidratação alcoólica (álcool 50%, álcool, álcool 70%, álcool 90%, álcool 95%, álcool absoluto, álcool absoluto) em duração de (20 min) respectivamente. Posteriormente as amostras foram realocadas a uma câmara de ponto crítico. Esse equipamento possibilita uma secagem de forma a substituir gradualmente o álcool contido nas amostras por CO₂, o que preserva integralmente as características estruturais das amostras, ocorrendo em uma variável de temperatura de 0 a 4°C. O método de secagem é executado sem a necessidade de evaporação, assegurando a preservação da estrutura das amostras.

Após a conclusão da etapa de secagem, as amostras foram transferidas para “*stubs*” metálicos, onde foram fixadas, facilitando o manuseio destas e preparando-as para a etapa final de metalização em ouro. Devido à sua natureza orgânica, são submetidas ao processo de metalização por pulverização, no qual são revestidas com camadas de ouro. Essa metalização desempenha um papel essencial na garantia da condutividade das amostras para o feixe de elétrons no microscópio eletrônico de varredura (MEV). Todas as etapas para preparação das

amostras para análise em microscopia eletrônica de varredura seguiram protocolos adaptados de Osatchuck (2022).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados 5 espécimes de *P. unifilis* no rio Tocantins nas proximidades do município de Tupiratins. Foram obtidas as seguintes medidas médias retilíneas: comprimento da carapaça 15,44cm, largura da carapaça 14,42cm, comprimento do plastrão 12,28cm e largura do plastrão 9,64cm (Tabela 1), o que levou a caracterizar os mesmos como juvenis, confirmando ainda, após a eutanásia, que os animais ainda não haviam atingido maturação sexual. O tamanho de quelônios reflete diretamente ao seu estágio de desenvolvimento e maturação sexual, cabendo-os considerar adultos ou juvenis pelo tamanho do espécime, confirmado após verificação das gônadas (FACHIN-TÉLAN e VOGT, 2004).

Tabela 1: Dados biométricos de cinco exemplares juvenis de *P. unifilis* coletados no Rio Tocantins. Sendo CCAR: comprimento do casco; LCAR: largura da carapaça; CPLA: comprimento do plastrão; LPLA: largura do plastrão. Fonte: autor, 2023

| | CCAR (cm) | LCAR (cm) | CPLA (cm) | LPLA (cm) |
|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Espécime I | 16.0 | 15.5 | 12.1 | 9.2 |
| Espécime II | 15.2 | 14.8 | 12.5 | 11.4 |
| Espécime III | 15.9 | 14.4 | 12.4 | 9.4 |
| Espécime IV | 13.6 | 13.7 | 11.2 | 8.7 |
| Espécime V | 16.5 | 13.7 | 13.2 | 9.2 |
| Média (cm) | 15.44 | 14.42 | 12.28 | 9.64 |

4.1 Anatomia e histologia do esôfago

O esôfago de *P. unifilis* apresenta uma anatomia classificada como "músculomembranáceo" (MAGALHÃES, 2010). Este órgão demonstrou ser tubular e ocupar uma posição proeminente no sistema digestório, localizado entre a boca e o estômago (Figura 6).

Figura 6: Tubo digestivo dissecado de *P. unifilis* em escala com paquímetro manual. a: esôfago; b: estômago; c: baço; d: intestino. Fonte: autor, 2023.



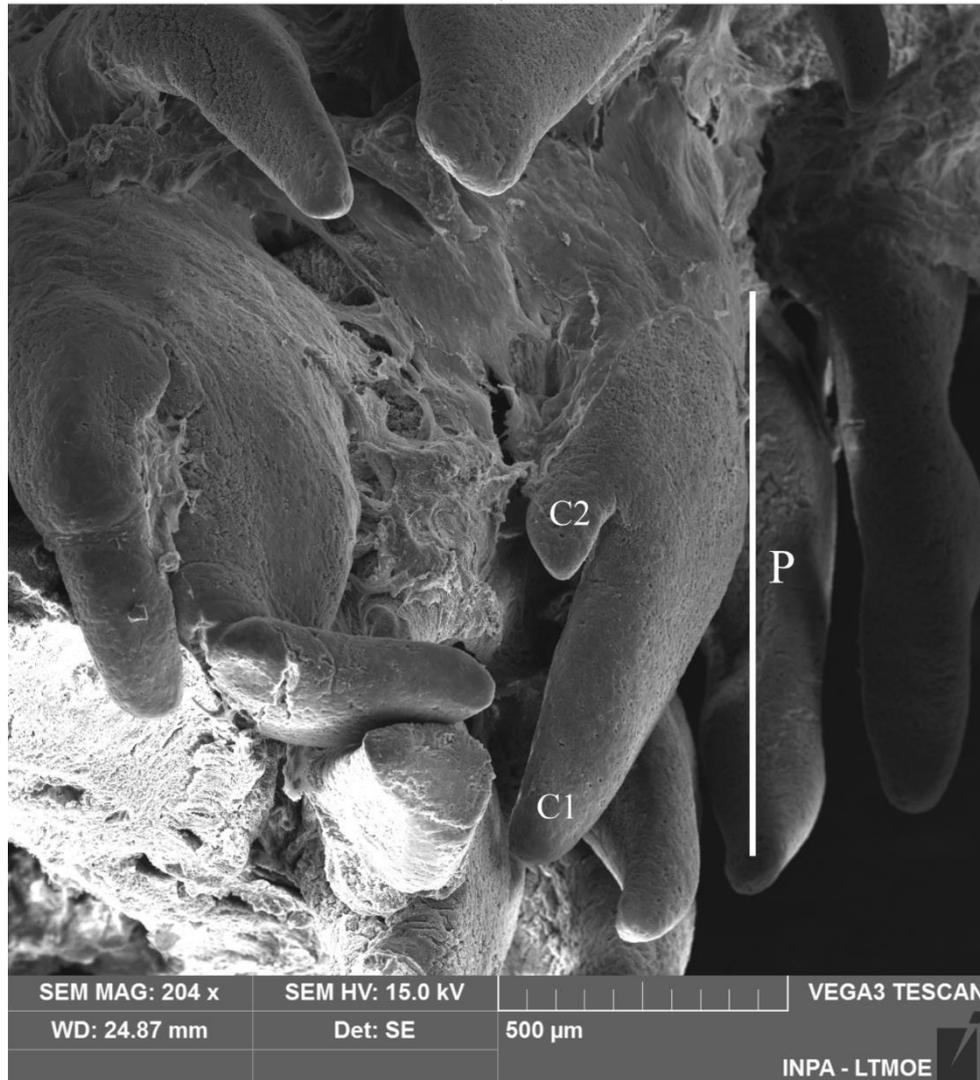
Anatomicamente, o esôfago pode ser dividido em duas regiões distintas. A primeira na porção anterior do órgão e proximal à boca (papilar) e uma segunda região proximal ao estômago (pregueada), sendo caracterizadas pela formação de papilas e pregas longitudinais, respectivamente. As papilas auxiliam na deglutição dos alimentos e estão presente em diferentes famílias de quelônios, sendo observadas em todas as famílias de tartarugas marinhas, podendo se estender por todo o esôfago, iniciando suas projeções na boca, seguindo até o início do estômago, como ocorre na espécie *Dermochelys coriacea* (Fitzinger, 1843) (OLIVEIRA, 2022), divergindo do relatado na família Podocnemididae, onde tem-se a presença de papilas restrita à primeira porção do esôfago.

Embora comum em tartarugas marinhas devido seus hábitos alimentares, cágados da família Emydidae que apresentam hábitos alimentares onívoros, alimentando-se principalmente invertebrados aquáticos e plantas, apresentam o desenvolvimento das papilas (PEREIRA, et al., 2005), podendo ser presentes até mesmo em quelônios terrestres. Uma vez que estes são majoritariamente herbívoros, tendem a possuir papilas esofágicas pouco desenvolvidas quando em comparação aos cágados e tartarugas marinhas.

Nos espécimes coletados observou-se papilas pouco desenvolvidas, cabendo considerar que os espécimes estudados estavam em estágio juvenil. Pela presença descrita na literatura, sugere-se que o surgimento e desenvolvimento das papilas está intimamente relacionado ao tamanho do animal. Logo, essas características papilares se correlacionam as estimativas de idade dos espécimes: animais maiores e maduros apresentam papilas maiores e mais desenvolvidas (FACHIN-TÉLAN e VOGT, 2004; MAGALHÃES, 2012).

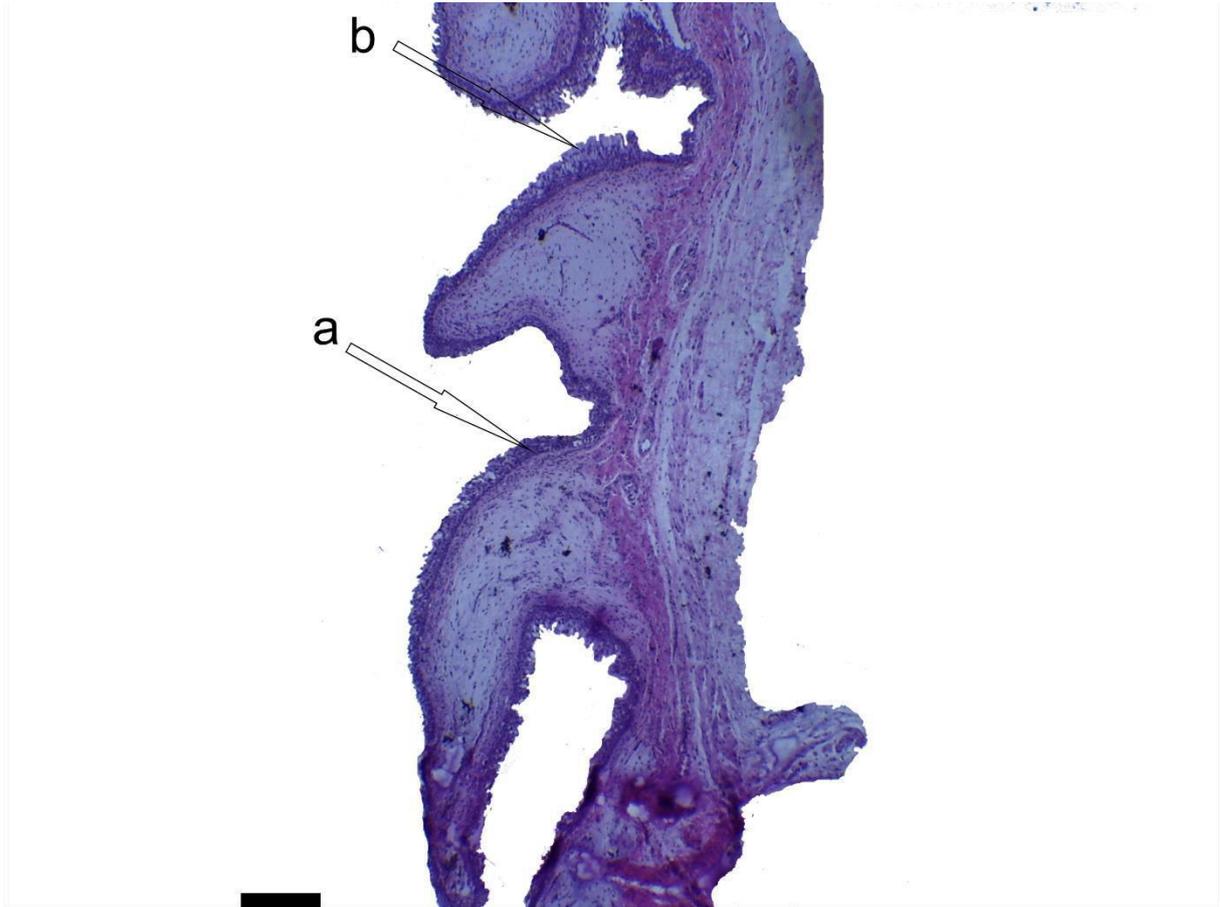
Uma vez que não foi possível observar as estruturas papilares à olho “nú”, sendo vistas apenas com auxílio de imagens de microscopia de varredura (Figura 7) e observação em lupa, de acordo com Magalhães (2010, p.61), quando estão plenamente desenvolvidas, são voltadas ao estômago e apresentam tamanhos significativos sendo facilmente observadas. Isso corrobora com o fato de atuarem impedindo a regurgitação dos alimentos e diminuir o atrito do alimento com a parede do esôfago, por diminuir a superfície de contato com a parede do esôfago ao alimento na região anterior do órgão, assim como informado por Reis (2017).

Figura 7: Eletromicrografia das papilas esofágicas e suas projeções voltadas ao estômago de *P. unifilis*, sendo a papila (P) bi ponteadada apresentando um cume maior (C1) no ápice da papila e um cume originado na porção. Fonte: autor, 2023.



As análises histológicas apontaram que as papilas, formadoras da primeira região esofágica, são projeções das camadas mucosa e submucosa, sendo essas estruturas compostas por epitélio estratificado diferenciados em dois tipos: pavimentoso e cilíndrico. O pavimentoso disposto ao longo de toda a papila, enquanto o epitélio cilíndrico concentrava-se na superfície da região mucosa da papila (Figura 8).

Figura 8: Fotomicrografia das papilas esofágicas direcionadas ao estômago. (a→): epitélio estratificado pavimentoso, (→b): epitélio estratificado cilíndrico. corada em HE. imagem aumentada em 4x, barra: 100µm.
Fonte: autor, 2023.



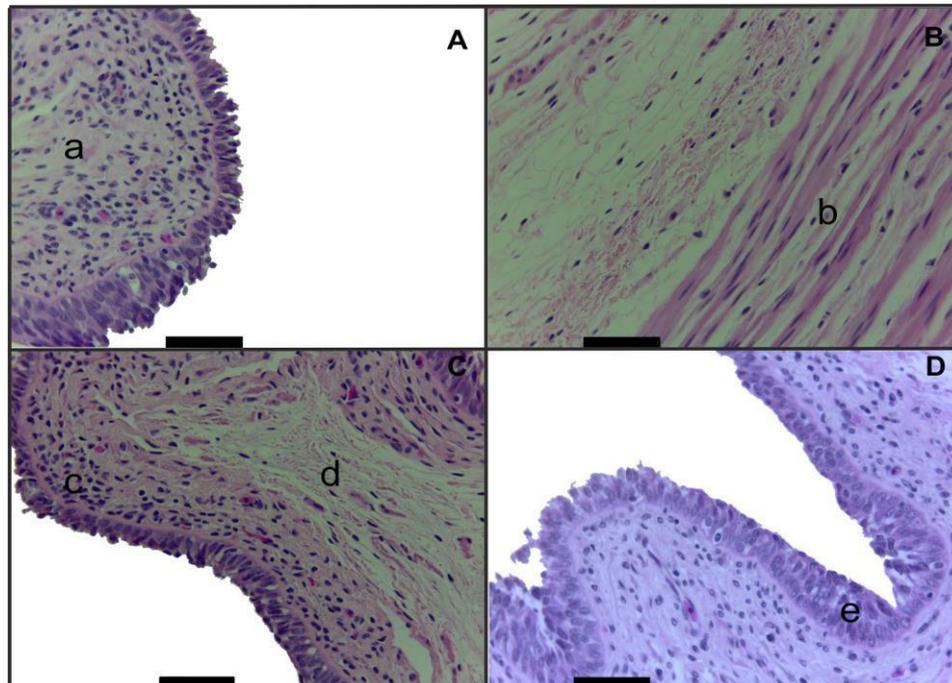
Na segunda porção do esôfago encontram-se pregas longitudinais, representando a maior parte do órgão, corroborando com o obtido por Magalhães (2012, 21p) para dados da espécie. Todos os quelônios podem possuir pregas longitudinais em algum grau de desenvolvimento, sendo mais comum em tartarugas e cágados. A presença de pregas bem desenvolvidas ao longo do esôfago está associada principalmente à quelônios que possuem em sua alimentação hábitos de ingerirem alimentos difíceis de triturar, como crustáceos, moluscos ou alguns conteúdos vegetais (sementes, gravetos ou folha). Essas pregas auxiliam na deglutição alimentar de forma a aumentar a superfície interna do esôfago, permitindo uma trituração eficiente e processamento dos alimentos (QUEIROZ, 2009; MAGALHÃES, 2010; CALAIS; DAVID; NUNES, 2016; CAVALCANTE, 2020).

A função, portanto, dessas pregas é conferir ao esôfago uma característica elástica permitindo que ele se amplie, de modo que os animais possam consumir alimentos de maior volume, como presas grandes ou plantas. Tal expansão auxilia a acomodação do alimento em

seu sistema digestivo antes de serem processados no estômago, além do auxílio no transporte do alimento em direção ao estômago (AI-HUSSAINI, 1949; GODINHO, 1970, MELO *et al.*, 2019).

A segunda porção do esôfago apresentou formação de mucosa pregueada, composta por epitélio estratificado do tipo cilíndrico em sua maioria alongado. O esôfago exibe uma estrutura complexa, que se desdobra em três regiões sucessivas interconectadas: a mucosa, a submucosa e a camada muscular (MAGALHÃES, 2012; CALAIS; DAVID; NUNES, 2016), conforme descrito na Figura 9.

Figura 9: Fotomicrografia dos esôfagos de *P. unifilis* evidenciando as divisões do esôfago em: mucosa, submucosa e muscular. A: epitélio estratificado. a: região mucosa; B: transição entre camada muscular e submucosa, b: região muscular propriamente dita; C: região de transição entre mucosa e submucosa. c: região mucosa propriamente dita, constituída por tecido epitelial estratificado cilíndrico, d: submucosa constituída por tecido conjuntivo frouxo; D: região mucosa, e: epitelial pavimentoso. Imagem corada em HE em aumento de 10x, barra: 100µm. Fonte: autor, 2023.



A mucosa, a camada mais interna entre essas três, é revestida por um epitélio estratificado cilíndrico não queratinizado, cuja função primordial é a de resguardar a superfície interna do esôfago contra os rigores da deglutição de alimentos (RODRIGUES, 2009). Esse epitélio é particularmente especializado para suportar o atrito mecânico decorrente do processo de transporte de alimentos, através da secreção de muco e enzimas (OLIVEIRA, 2022). Essa informação corrobora com dados alimentares da espécie, que tende a variar entre proteína animal e estruturas vegetais, sendo comumente encontrados também sedimentos de solo superficial e leitosos dos rios (MOLINA, 1998; BALENSIEFER, 2003; CUNHA, 2013).

Adaptações como pregas (reentrância da região de mucosa e submucosa) atribuí ao esôfago flexibilidade, alterando o volume do órgão de acordo com à natureza dos alimentos ingeridos, otimizando o processo de deglutição e auxiliando na proteção do epitélio, devido a ausência de queratina (MAGALHÃES, 2012). De acordo com a literatura, o esôfago apresenta incrementos adaptativos adicionais como glândulas mucosas que secretam muco para facilitar o transporte dos alimentos, lubrifica e protege o órgão de possíveis danos ao tecido epitelial do órgão, devido sua alimentação variada (GARCEZ, 2012; SANTOS, 2009). É possível atribuir a presença de alta quantidade de vasos sanguíneos e inervações à presença dessas glândulas auxiliaadoras nos processos de movimentação peristáltica (LOPES, 2013).

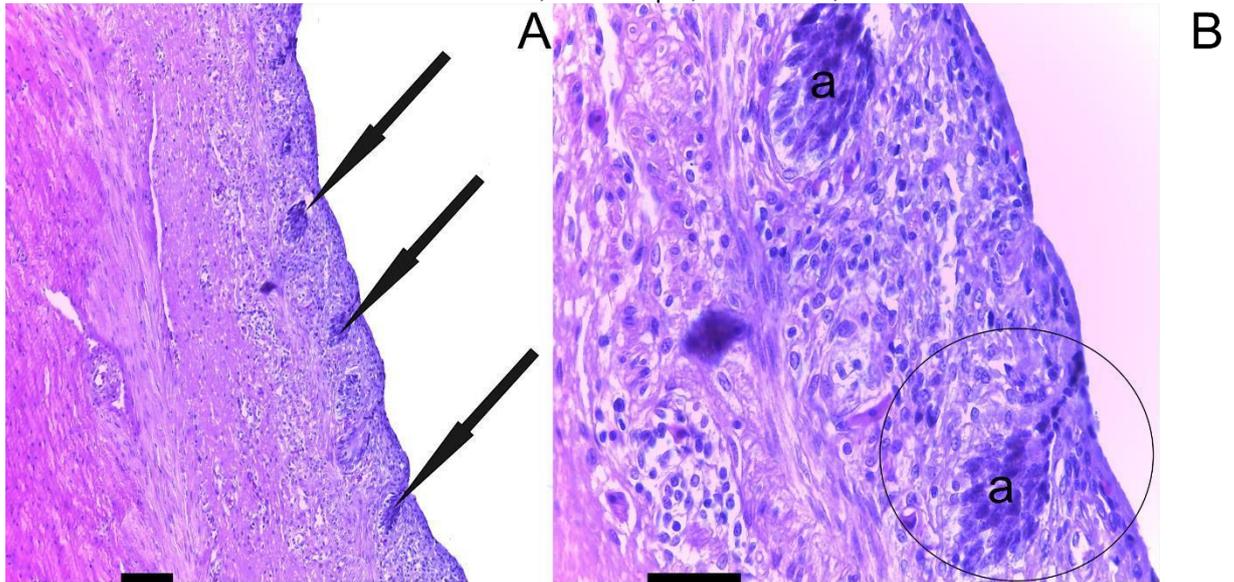
Assim, as análises histológicas do esôfago revelam uma complexa e adaptativa morfologia, especializada para o suporte na função do esôfago em transportar alimento desde a cavidade bucal ao estomago, protegendo a porção do tubo digestivo que o compreende, minimizando os danos ao seu epitélio de revestimento interno.

Através da histologia foi possível observar na região mucosa porções glandulares formadas por glândulas exócrinas, sendo constituídas de tecido epitelial estratificado cilíndrico com células alongadas (Figura 10; Figura 11). Isso corrobora com dados obtidos em Magalhães (2010) e Vogt (1998) para dados histológicos da família Podocnemididae e Pelomedusidae, possuindo esta região pregueada constituída por células agranulares.

Figura 10: Fotomicrografia da região mucosa de *P. unifilis*. a: epitélio estratificado cilíndrico e pavimentoso; b: células secretoras, c: células superficiais cilíndricas alongadas da mucosa, d: rompimento do tecido epitelial, e: vasos sanguíneos irrigando a região submucosa; (→) pregas longitudinais. Imagem coradas em HE em aumento de 10x. Fonte: autor, 2023.

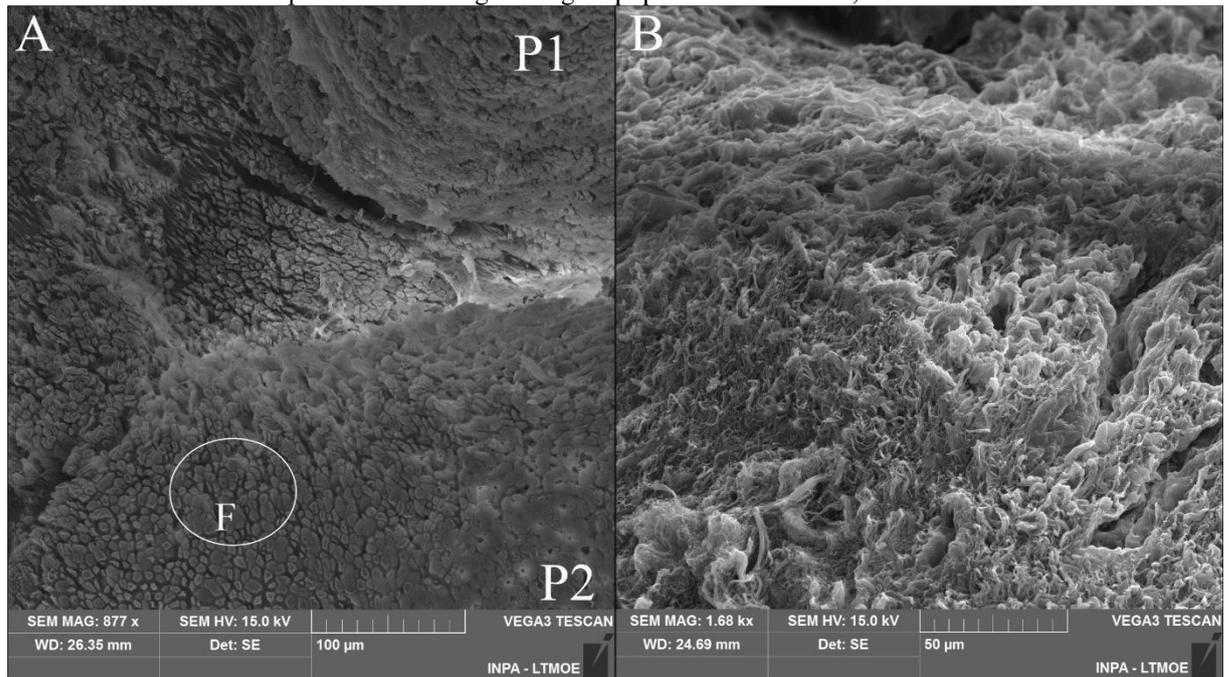


Figura 11: Fotomicrografia da mucosa, evidenciando regiões secretoras de muco. A: mucosa esofágica formada por células estratificadas pavimentosa, imagem corada em HE em aumento de 4x, barra: 100µm, (→) complexo de células secretoras e formação de glândulas exócrinas; B: epitélio pavimentoso, (a) glândula exócrina corado em HE em aumento de 40x, barra: 50 µm, Fonte: autor, 2023.



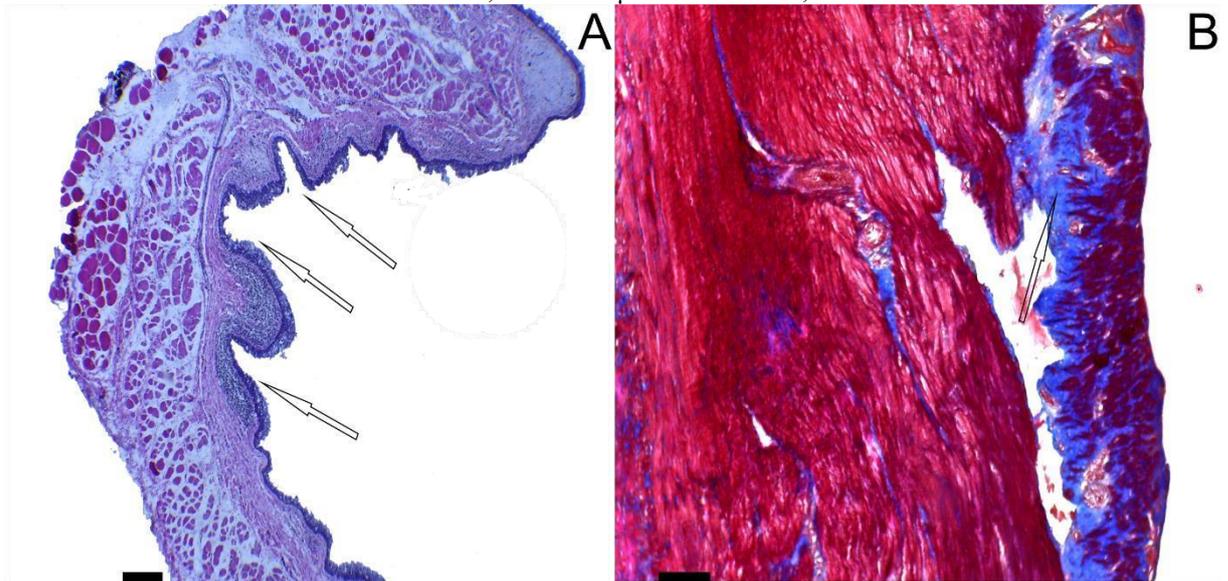
O muco produzido por essas glândulas desempenha um papel importante na lubrificação da mucosa esofágica, facilitando a passagem do alimento em direção ao estômago e protegendo a mucosa contra lesões causadas pelo atrito (LOPES, 2014). A liberação de muco em *P. unifilis* está disposta ao longo de todo o esôfago, distribuído em fendas de liberação, observáveis a partir de imagens de Varredura (Figura 11) observadas ainda por Magalhães (2010, p.36) em espécimes de *P. unifilis*.

Figura 12: Eletromicrografia da região papilar do esôfago de *P. unifilis*, A: região entre papilas, papila 1 (P1) e papila 2 (P2), abordando pontos de excreção de muco através de fendas de liberação (F); B: disposição do epitélio superficial do esôfago na região papilar. Fonte: autor, 2023.



Observou-se na região da mucosa a presença de feixes cartilagosos (Figura 13B), possivelmente atuando como estrutura de sustentação do esôfago, promovendo suporte estrutural para o mesmo, mantendo este em seu formato tubular e impedindo o colapso das paredes do órgão (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2013). Essa região é dotada de pregas esofágicas (Figura 13A), células caliciformes e ausente de tecido muscular.

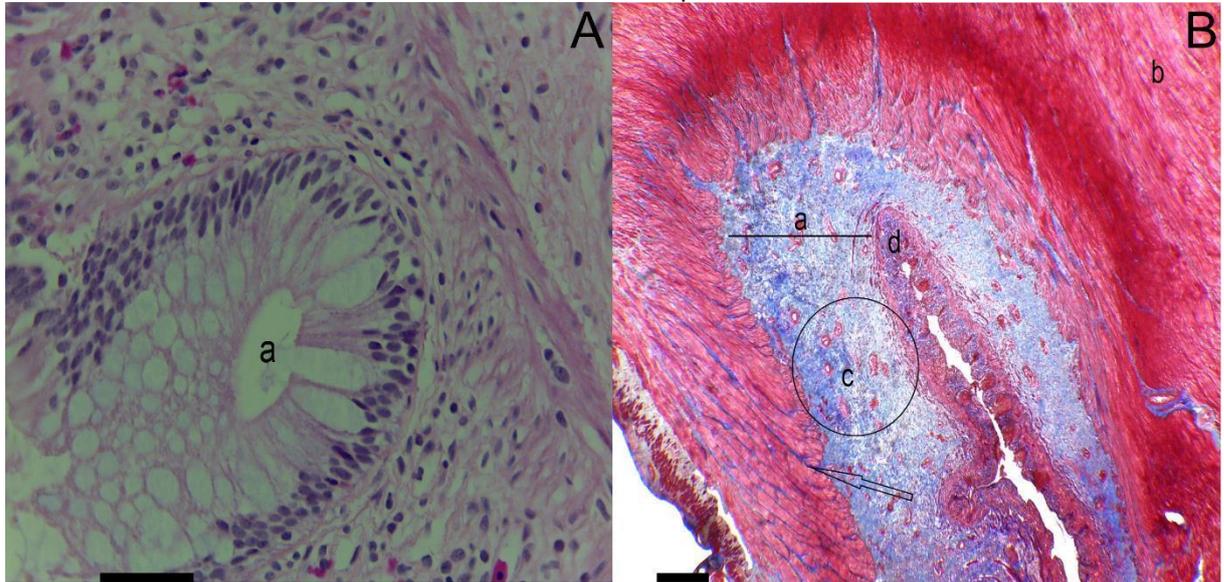
Figura 13: Fotomicrografia da região posterior do esôfago, A: caracterizado pela presença de pregas longitudinais, (→) pregas, formação originadas a partir de reentrâncias da mucosa e submucosa. imagem corada em HE em aumento de 4x, barra: 100µm; B: (→) feixes cartilagosos na mucosa (fibras azuis). imagem corada em TM em aumento de 10x, barra: 100 µm. Fonte: autor, 2023.



A região submucosa desempenha um papel fundamental na anatomia e na fisiologia do trato gastrointestinal dos quelônios. Esta região é caracterizada por uma alta densidade de vasos sanguíneos e glândulas secretoras de muco (Figura 14A). A presença significativa de vasos sanguíneos é essencial para a irrigação do órgão (Figura 14B). Lopes (2013) observou ainda a presença de vasos linfáticos e células nervosas o que, por sua vez, possibilita a respiração celular, fornecendo a energia necessária para o pleno funcionamento do órgão (SARTORI, 2009; LOPES, 2013). A respiração celular é um processo crucial para a produção de adenosina trifosfato (ATP), a principal fonte de energia para as funções metabólicas do organismo (MARZZOCO, 2017).

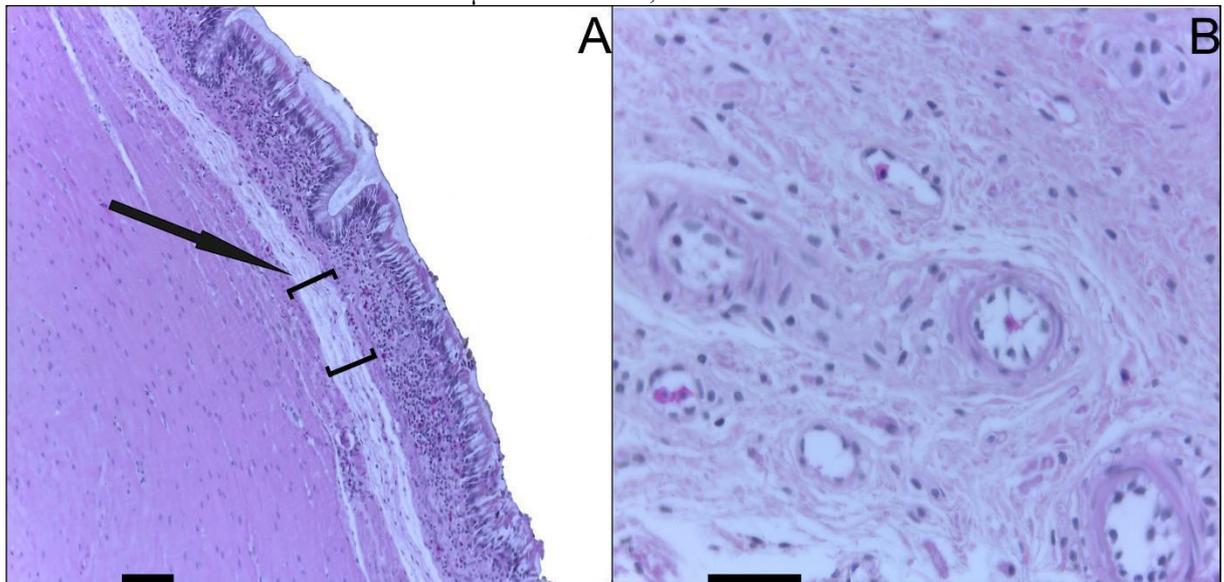
A submucosa não é apenas uma região responsável pela nutrição e suporte da mucosa, sendo constituída em sua maior parte por tecido conjuntivo frouxo. Esse tecido conjuntivo é rico em fibras colágenas e elásticas (Figura 14B) conferindo à submucosa a eficiência necessária de distensão e elasticidade. Essas características são fundamentais para acomodar o alimento durante o processo de deglutição, garantindo a passagem segura dos alimentos (LOPES, 2013). É importante destacar que essa adaptação corrobora com dados da dieta onívora de *P. unifilis*, conforme relatado por Garcez (2012).

Figura 14: Fotomicrografia do esôfago de *P. unifilis*. A: glândula secretora, imagem corada em HE em aumento de 40x, barra: 50 μm ; B: atribuída coloração avermelhada para fibras musculares, citoplasma, ceratina, acidófilo e tons azul para colágeno. (-) região submucosa, a: fibras colágenas, representado a maior parte da região submucosa, b: musculatura lisa, c: vasos sanguíneos, d: ramificação de feixes cartilagosos no epitélio estratificado pavimento e circular; (→) ramificação de fibras colágenas entre a musculatura lisa. Imagem corada em TM em aumento 10x, barra: 100 μm ; Fonte: autor, 2023.



A região submucosa conecta-se à mucosa e à camada muscular (Figura 15A), desempenhando um papel fundamental na função do esôfago e na manutenção da saúde do órgão através do transporte de nutrientes e oxigênio entre às camadas (CORMACK, 2003). Além da composição por tecido conjuntivo frouxo cartilaginoso, foi identificado alto grau de vascularização nessa região (Figura 15B), corroborando com achados por Magalhães (2012) para o gênero e espécie *P. unifilis*, Lopes (2013) para *Phrynops geoffroanus* e Cavalcante (2020) para tartarugas marinhas.

Figura 15: Fotomicrografia da submucosa do esôfago de *P. unifilis* caracterizada por nutri a mucosa e sustentar os tecidos adjacentes. A: região de submucosa composta por células pavimentosas, (→) zona de transição entre a derme e epiderme constituída de lâmina basal. imagem corada em HE em aumento de 4x, barra 100µm; B: vasos sanguíneos observados na região submucosa em *P. unifilis*. imagem corada em HE em aumento de 40x, barra: 50 µm. Fonte: autor, 2023.

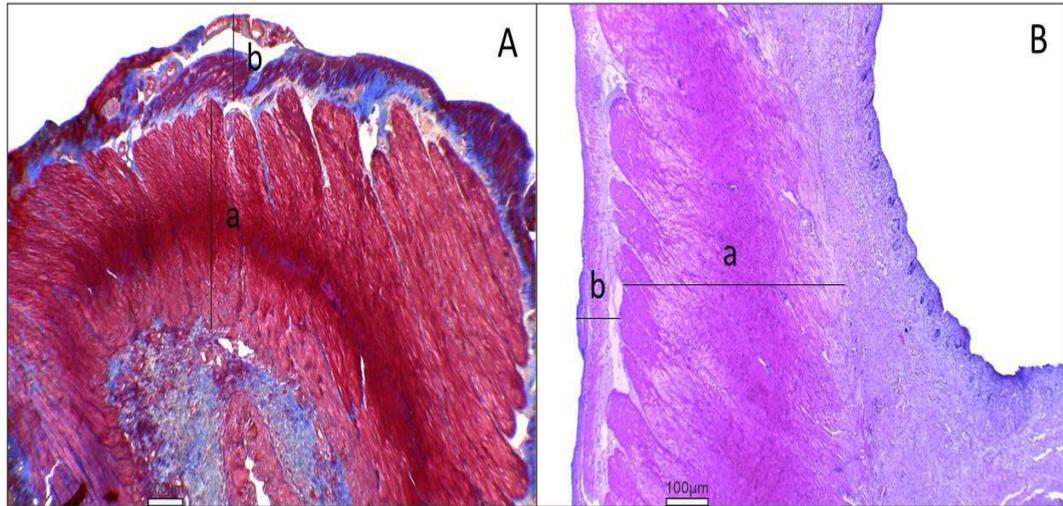


A região muscular do esôfago é composta por musculatura lisa, sendo dividido em duas camadas, na qual a mais interna origina-se posteriormente a região de submucosa, e atua executando movimentos peristálticos que impulsionam o alimento em direção ao estômago. Já a camada mais externa executa movimentos de contração e relaxamento do órgão, de modo a possibilitar que o esôfago se adeque ao volume do alimento ingerido e o conduza ao estômago (LOPES, 2014).

O padrão anatômico observado em *P. unifilis* condiz com esses apontamentos, uma vez que refletem à adaptação para aos quelônios, como abortado em Legler (1993), no qual a região muscular desempenha um papel na eficiência do funcionamento do esôfago.

Na camada muscular do esôfago de *P. unifilis*, identificamos a presença de duas camadas distintas: a camada muscular circular interna e a camada muscular longitudinal externa (Figura 18A e 18B). A camada muscular circular interna é composta por fibras musculares lisas dispostas em círculos concêntricos ao longo da região submucosa (Figura 18), corroborando com o levantamento feito por Magalhães (2012) caracterizando os aspectos morfológicos e histológicos do esôfago e atribuindo suas adaptações aos aspectos alimentares pertencentes a família Podocnemididae. A contração coordenada dessas fibras desempenha um papel na geração de movimentos peristálticos rítmicos. Esses movimentos peristálticos atuam no transporte eficiente do bolo alimentar do esôfago até o estômago. A capacidade de realizar essa ação de forma coordenada otimiza o processo de digestão.

Figura 16: Fotomicrografia da região mais externa do esôfago de *P. unifilis*, caracterizada pela presença de musculatura lisa responsável pelo movimento peristáltico do órgão. A: região muscular corada em Tricrômico de Masson. a: fibras musculares dispostas em círculos concêntricos; b: fibras musculares dispostas paralelamente ao longo de todo o segmento do esôfago. B, região muscular corada em Hematoxilina e Eosina. a: camada muscular circular; b: camada muscular longitudinal. Ambas as imagens em aumento de 4x, barras: 100µm. Fonte: autor, 2023.



Por outro lado, a camada muscular longitudinal externa (Figura 18b) apresenta fibras musculares distribuídas longitudinalmente ao longo de todo o esôfago, paralelamente ao seu eixo. A contração ou relaxamento dessas fibras confere a capacidade de alongamento ou encurtamento do esôfago durante a deglutição e a acomodação de alimentos de diferentes tamanhos. Essa característica anatômica torna o esôfago de *P. unifilis* adaptado ao tipo de alimentação onívora da espécie. A capacidade de ajustar o comprimento do esôfago de acordo com o tamanho e a natureza dos alimentos ingeridos é uma vantagem para a espécie que contribui para a eficiência da alimentação.

Essa anatomia esofágica adaptada em *P. unifilis* demonstra a complexa relação entre a estrutura anatômica e a função fisiológica. Essa adaptação é essencial para o sucesso da alimentação onívora da espécie (SOUZA, 2004; OLIVEIRA, 2022, garantindo a eficiência na passagem dos alimentos pelo esôfago e, por conseguinte, otimizando o processo de digestão.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A importância do presente trabalho se dar ao elevar os dados a respeito da biologia do *Podocnemis unifilis*, uma vez que os estudos voltados a histologia e anatomia do esôfago e demais órgãos do tubo digestório da espécie concentrasse em exemplares adultos, fazendo cada vez mais necessários trabalhos como este que investigue o desenvolvimento dos órgãos e sua histologia em diferentes estágios de vida da espécie.

Onde as análises anatômicas e histológicas do esôfago de *P. unifilis* juvenil indicaram características de sua biologia e adaptações anatômicas que refletem diretamente os hábitos alimentares da espécie, embora a presença das papilas de acordo com a literatura esteja relacionada a uma alimentação herbívora, o pouco desenvolvimento da mesma me faz questionar, se as características alimentares dos exemplares juvenis e filhotes da espécie se mantem os mesmos dos adultos?

Observamos a região anterior do órgão apresentou a presença de papilas em desenvolvimento, sendo estas papilas formadas de projeções do epitélio estratificado, originado das camadas histológicas da mucosa e submucosa, auxiliando na deglutição de alimento e impedindo que ele seja regurgitado pelo animal. O desenvolvimento das papilas está relacionado com a maturação e crescimento dos animais, podendo ser utilizado como parâmetro para estimar o estágio de desenvolvimento de espécimes.

Já na região posterior correspondo uma porção pregueada que se estende até o início do estômago, sendo essas modificações do epitélio capazes de proporcionar o aumento da superfície interna do órgão para acomodar alimentos de maior volume.

Na análise histológica, observou-se no esôfago três tipos de tecidos: epitelial, conjuntivo frouxo e muscular. Há adaptações, em especial, do epitélio e tecido conjuntivo, a partir de projeções dos mesmos, formando papilas esofágicas que são estruturadas por epitélio cilíndrico em sua superfície e pavimentoso abaixo das células cilíndricas.

As pregas longitudinais são originadas a partir da invaginação do epitélio e camada conjuntiva, formadas por células do tipo cilíndricas (alongadas em algumas regiões) e células pavimentosas.

A camada mucosa é formada por células cilíndricas e pavimentosas, havendo especialização de células secretoras de muco (caliciformes e glândulas exócrinas), atribuindo eficiência na deglutição dos alimentos e atuando em processos enzimáticos pré-digestivos.

A camada submucosa é uma camada formada por tecido conjuntivo frouxo rico em fibras cartilaginosas e elásticas, moldando a anatomia tubular do esôfago e responsável pela sustentação deste.

Por fim, a camada muscular originada por tecido muscular do tipo liso, apresenta duas configurações distintas: circular originando movimentos peristálticos e de expansão do órgão.

Sugiro que novos trabalhos sejam realizados com novas metodologias, utilizando-se de outros corantes para a obtenção de novos dados, quais hematoxilina e Eosina ou Tricrômio de Masson, não permitem o inferir a respeito do órgão.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, M.A.P. **Padrões genético-populacionais do “tracajá” *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE) na Amazônia brasileira**. 2016. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016, 41p.
- AL-HUSSAIN, A.H. On the functional Morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their in their feeding habits. II – **Citology and Physiology. Quat. J. Micr. Sec. London**, v. 90, n. 01, p. 323-354, 1949.
- ALMEIDA S. S.; SÁ, P. G.; GARCIA, A. Vegetais utilizados como alimento por *Podocnemis* (chelonina) na região do Baixo Rio Xingu Brasil-Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Botânica**, Belém, v.02, n.02, p. 199-211, 1986.
- AQUINO, S.; LATRUBESSE, E.M.; DE SOUZA F.E.E. Caracterização hidrológica e geomorfológica dos afluentes da Bacia do Rio Araguaia. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v. 10, n. 01. p. 43-54, 2009.
- BALENSIEFER, D.C. **Dieta de *Podocnemis unifilis* (Testudines, Pelomedusidae) no período de seca em uma várzea do médio Solimões, Amazona**, 2003. Dissertação (mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) - Universidade Federal do Amazonas. Manaus. 2003, 34p.
- CALAIS J.A.; DAVID, J.A.O.; NUNES, L.C. Caracterização morfológica do esôfago de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, n.01, p.127-135, 2016.
- CARVALHO, Y.K. Estudo histomorfofuncional de fígado de primatas (*Callithrix jacchus*) criados em cativeiro / Yuri Karaccas Carvalho. Tese (doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo. Faculdade de medicina veterinária e zootecnia. Departamento de cirurgia, São Paulo. 2012. 100p.
- CAVALCANTE, R.M.D.S. **Caracterização macro e microscópica da língua e esôfago de tartarugas marinhas (Testudines)**. 2021. Dissertação (mestrado em Biologia Estrutural e Funcional) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020, 81p.
- CORMACK, D.H. **Fundamentos de Histologia**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
- COSTA, H.C.; BÉRNIL, R.S. Répteis do Brasil e suas unidades federativas: lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**, v.07, n.01, p.11-57, 2018.
- CUNHA, F.L.R. Dieta de quatro espécies do gênero *Podocnemis* (Testudines, Podocnemididae) na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Uatumã, Amazonas, Brasil. 2013. Dissertação (mestrado em Ciências Biológicas, Biologia de Água Doce e Pesca de Interior), 2013, 70p.
- DOMINGUES, J.L. Uso de volumosos conservados na alimentação de equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 01, p. 259-269, 2009.
- FACHÍN-TERAN, A.; VOGT, R.C. Alimentación de *Podocnemis Sextuberculata* (Testudines: Podocnemididae). **Reserva Mamirauá**, Amazonas, Brasil, **Revista Colombiana de Ciência Animal – RECIA**, v. 06, n. 02, p. 285–298, 2014.
- FACHÍN-TERÁN, A.; VOGT, R.C. Estrutura populacional, tamanho e razão sexual de *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae) no rio Guaporé (RO), **norte do Brasil. Phyllomedusa**, v. 03, n. 01, p. 29-42, 2004.
- FACHIN-TERAN, A; VOGT, R.C. Estrutura populacional, tamanho e razão sexual de *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae) no rio Guaporé (RO), norte do Brasil. **Phyllomedusa** v. 03, n. 01, p. 29-42, 2004.

- FELIX, G.A. **Comportamento alimentar e qualidade de carne de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) de vida livre, em áreas agrícolas.** 2012 Dissertação (Mestrado em zootecnia) - Universidade Federal da Grande Dourados. 2012, 97p.
- FERRARA, C.R.; VOGT, R.C.; SOUSA-LIMA, R.S.; LENZ, A.; MORALES-MÁVIL, J.E. Sound communication in embryos and hatchlings of *Lepidochelys kempii*. **chelonian conservation and biology: celebrating 25 years as the world's turtle and tortoise journal**, v. 18, n. 02, p. 279-283, 2019.
- FERREIRA J.P.D. **Influência dos processos sedimentológicos e geomorfológicos na escolha das áreas de nidificação de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-amazônia) e *Podocnemis unifilis* (tracajá), na bacia do rio Araguaia.** Tese (Doutorado em Evolução Crustal e Recursos Naturais.) - Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de Geologia, Ouro Preto, 2003, 269p.
- FONSECA, R. A.; DE MELO, S.; MIORANDO, P. S.; PEZZUTI, J. C. B. Manejo e conservação de quelônios na Amazônia brasileira, ed. 475 (Edição 475). **Papers do NAEA**, v. 29, n. 02, 2020, 22p.
- FONSECA, R.A. **Ecologia e conservação de *Podocnemis expansa* (Testudines, Podocnemididae) no Médio Tapajós.** 2022, tese (Doutorado em Sociedade, Natureza e DESENVOLVIMENTO) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ. 2022, 167p.
- GARCEZ, J. R. **Alimentação de tracajá (*Podocnemis unifilis*), iacá (*Podocnemis sextuberculata*) e tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) no rio Juruá, Amazonas.** Dissertação (Mestrado em ciência pesqueira) - Universidade Federal do Amazonas. 2012. 59p.
- GIBBSON, J.W.; SCOTT, D.E.; RYAN, T.J, BUHLMANN, K.A.; TUBERVILLE, T.D.; METTS, B.S.; MILLS, T. O declínio global dos répteis, anfíbios Déjà Vu: As espécies de répteis estão em declínio em escala global. Seis ameaças significativas às populações de répteis são a perda e degradação de habitat, a introdução de espécies invasoras, a poluição ambiental, as doenças, o uso insustentável e as mudanças climáticas globais. **Biociências**, n. 08, v.50, p. 653666, 2000.
- GODINHO, M.H., Considerações gerais sobre anatomia dos peixes. *In: Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguaia. Poluição e Piscicultura. São Paulo: Edancee*, v. 01, n. 01, p. 113116, 1970.
- IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Projeto Quelônios da Amazônia 10 anos. Brasília, DF. 1989. 119p.
- IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Manejo conservacionista e monitoramento populacional de quelônios amazônicos. 1.ed. Brasília, DF: IBAMA, v. 01, 01, 2016. 136p.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica I** .12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- KLOSOVSKI, L. J. R. **Análise das estratégias de conservação de Quelônios brasileiros.** 2003. Monografia (graduação em Biologia). Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2003, 41p.
- LEGLER, J. M.; GLASBY, C. J.; ROSS, G. J. B.; BEESLEY, P. L. MORPHOLOGY and physiology of the Chelonia. **Fauna of Australia**, v. 02, n. 16, p. 108-119, 1993.
- LOPES, D.A.V. **Caracterização histológica e histoquímica e detecção por imunohistoquímica de células do Sistema Neuroendócrino Difuso do tubo digestivo da espécie *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (Testudine: Chelidae).** 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013, 124p.

- LOPES, D.A.V.; NASCIMENTO, A. A. D.; SALES, A., VENTURA, A.; NOVELLI, I. A.; SOUSA, B. M.; PINHEIRO, N. L. Histologia e histoquímica do tubo digestório de *Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae). **Acta Amazonica**, v. 44, n. 01, p. 135-142, 2014.
- MAGALHÃES, M.S.; FREITAS, M. D. L.; SILVA, N. B. D.; MOURA, C. E. B. D. Morfologia do tubo digestório da tartaruga verde (*Chelonia mydas*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 01, p. 676-684, 2010.
- MAGALHÃES, M.S. Morfologia do tubo digestório aplicada à compreensão da dieta em quelônios da família Podocnemididae. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Área de Concentração em Biologia de Água Doce e Pescar Interior) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, AM. 2010. 78p.
- MAGALHÃES, M.S.; SANTOS, A.J.B.; SILVA, N.B.; MOURA, C.E.B. Anatomy of the digestive tube of sea turtles (Reptilia: Testudines). *Rev. Bras. Zool.*, v. 29, n. 01, p. 70-76, 2012.
- MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. Bioquímica básica. In: **Bioquímica básica**. 2017, 392p.
- MELO, L.F.D.; RODRIGUES, A.C.B.; CABRERA, M.L.; TURQUETTI, A.D.O.M.; RUIVO, L.P.; AZARIAS, G.R.; RICI, R.E.G. Análisis del Esófago de la Tortuga Verde *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), Testudines, Cheloniidae. **International Journal of Morphology**, v. 37, n. 04, p. 1391-1396, 2019.
- MEYLAN, A.B. Status of the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in the Caribbean region. **Chelonian Conservation and biology**. v. 03, n. 02, p. 177-184, 1999.
- MOLINA, F. B.; ROCHA, M. B.; LULA, L.; A. B. Comportamento alimentar e dieta de *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron) em cativeiro (Reptilia, Testudines, Chelidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, n. 01 v. 15, p. 73-79, 1998.
- NAFUS, M. G.; DALY, J. A.; TUBERVILLE, T. D.; KLIMELY, A. P.; BUHLMANN, K. A.; TODD, B. D. Habitat use by female desert tortoises suggests trade-offs between resource use and risk avoidance. **plos um**, v. 17, n. 08, 2022, 15p.
- OLIVEIRA, P. H. G. **Dieta dos quelônios (Testudines, Podocnemididae: *Podocnemis* spp.) no rio Andará, Barreirinha, Amazonas, Brasil**. 2022. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia- Rede BIONORTE). Universidade Federal do Amazonas e Universidade Estadual do Amazonas, Manaus, 2022. 219p.
- OLIVEIRA, R. E. M. D. **Morfologia e achados anatomopatológicos do trato digestório de tartarugas marinhas**. 2022. Tese (Doutorado em Ciências Animal). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2022. 228p.
- OSATCHUK, B. C. M. Avaliação de microplásticos presentes em concentrados de plaquetas / Bianca Caroline Miara Osatchuk. Dissertação (mestrado). Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2022. 58p.
- PEREIRA, J.G.; FONSECA, C.C.; MENIN, E.; DAS NEVES, M.T.D. Estudo histológico e histoquímico do esôfago do muçua *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptilia, Chelonia, Kinosternidae). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR** v. 08, n. 01, p. 2-10, 2005.
- PÉREZ-GARCÍA, A.; MARTÍN-JIMÉNEZ, M.; AURELI, M.; CANUDO, J.I.; CASTANERA, D. A new Iberian pleurosternid (Jurassic-Cretaceous transition, Spain) and the first neuroanatomical study of this clade of stem turtles. **Historical Biology**, v. 34, n. 02, p. 298311, 2022.
- PÉREZ-GARCÍA, A.; ORTEGA, F. *Selenemys lusitanica*, gen. e sp. nov., A new leurosternid turtle (Testudines: Paracryptodira) from the Late Jurassic of Portugal. **Journal of Vertebrate Paleontology** v. 31, n. 01, p. 60-69, 2011.
- PEZZUTI, J.; DE CASTRO, F.; MCGRATH, D.G.; MIORANDO, P.S.; BARBOZA, R.S.L.; ROMAGNOLI, F.C. Commoning in dynamic environments: community-based management of

- turtle nesting sites on the lower Amazon floodplain. *Ecology and Society*, v. 23, n. 03, 2018, 34p.
- PORTAL, R.R.; LIMA, M.A.S.; BATAUS, Y.S.L.; REIS, I.J. Espécies vegetais utilizadas na alimentação de *Podocnemis unifilis*, Troschel 1948 (Reptilia, Testudinae, Pelomedusidae) na região do Pracuúba – Amapá – Brasil, **Ciências Animal Brasileira**, n. 3, v. 01, p. 11-19, 2002.
- QUEIROZ, M.L. Estudo Morfológico do Trato Digestório de Quatro Espécies de Quelônios da Família Podocnemididae. XVIII Jornada de Iniciação Científica PIBIC CNPq/FAPEAM/INPA, p. 408-410, 2009.
- RABI, M., SUKHANOV, V.B., EGOROVA, V.N., DANILOV, I.; JOYCE, W.G. Osteology, relationships and ecology of *Annemys* (Testudines, Eucryptodira) from the Late Jurassic of Shar Teg, Mongolia, and phylogenetic definitions for Xinjiangchelyidae, Sinemydidae and Macrobaenidae. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 34, n. 02, p. 327-352, 2014.
- REIS, E.C., GOLDBERG, D.W. Biologia, ecologia e conservação de tartarugas marinhas. In: REIS, E.C., CURBELO-FERNANDEZ, M.P., editoras. **Mamíferos, quelônios e aves: caracterização ambiental regional da Bacia de Campos, Atlântico Sudoeste**. Rio de Janeiro: Elsevier. Habitats, v. 07, n. 01, p. 63-89, 2017.
- RHODIN, A.G.J.; IVERSON, J.B.; BOUR, R.; FRITZ, U.; GEORGES, A.; SHAFFER, H.B.; VAN DIJK, P. P. Turtles of the world: annotated checklist and atlas of taxonomy, synonymy, distribution, and conservation status. **Chelonian Res. Monogr.** V. 07 n. 08, p. 1–292, 2017.
- RIBEIRO, A.B.N. **Captura e implicações da pressão antrópica para o tracajá (*Podocnemis unifilis* Troschel, 1848) na região dos lagos do município de Pracuúba, Amazônia, Amazônia, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Macapá. 2012, 81p.
- RIBEIRO, R.L.; ALLISON, M.J. Metabolismo ruminal. **Revista de Zootecnia**, v. 57, n. 02, p. 461-477, 1983.
- RIEPEL, O. **Turtles as hopeful monsters: origins and evolution**. Indiana University Press, 2017, 216p.
- ROCHA, J.M.; FACHÍN-TERÁN, A. O projeto de manejo de quelônios amazônicos “Pé-de-Pincha” e sua contribuição na educação científica em duas comunidades ribeirinhas do assentamento agrícola “Vila Amazônia”, Parintins, AM. **Revista Amazônica de Ensino de Ciências**, v. 04, n. 06, p. 57-70, 2011.
- SANTOS-JUNIOR, L.B. Dieta de *Podocnemis erythrocephala* (Testudines: Podocnemididae) no Parque Nacional do Jaú. 2009 Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas, Brasil, 2009, 29p.
- SARTORI, S.S.R. **Morfologia do tubo digestivo da lagartixa *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnés, 1818) (Squamata: Gekkonidae)**. Dissertação (mestrado em biologia celular e estrutural). Universidade Federal de Viçosa. 2009. 10p.
- SHAFFER, H.B. Turtles (Testudines). In **The Timetree of Life**. S. B. Hedges and S. Kumar, Eds. (Oxford University Press, New York), v.1, p. 398-401, 2009.
- SILVA, O.D.D.; SILVA, J.S.H.; SILVA-ALVES, V.D.; COSTA, T. M. D.; FERMIANO, E.C., MUNIZ, C.C.; SILVA, D.J.D. O sol do meio-dia revela o que as águas escondem: *Podocnemis unifilis* Troschel, 1848 (Testudines, Podocnemididae), outra espécie exótica no Pantanal matogrossense. **Biota Neotropica**, v. 22, n. 01, p. 02-07, 2022.
- SILVEIRA, T.B.; AGOSTINHO, E.S.; SANTOS, F.G.; DE OLIVEIRA, A.C.; MEDEIROS, L.S., CARVALHO, Y.K.D., MIGLINO, M.A. Avaliação da cavidade orofaríngea da tartaruga da Amazônia, *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.01, p. 1002-1008, 2015.
- SOUSA, A.C.S. **Uma proposta de sequência didática: conhecendo os quelônios da**

- Amazônia.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciado em Ciências Biológicas) - Faculdade de Ciências Biológicas, Campus Universitário de Altamira, Universidade Federal do Pará, Altamira, 2021, 62p. Disponível em: <https://bdm.ufpa.br:8443/jspui/handle/prefix/5529>.
- SOUZA, F.L. Uma revisão sobre padrões de atividade, reprodução e alimentação de cágados brasileiros (testudines, chelidae). **Phyllomedusa**, v. 03, n. 01, p. 15-27, 2004.
- SOUZA, I. **Compartimentação da rede de drenagem da bacia hidrográfica do Rio Araguaia.** 2002 monografia (curso de especialização em geografia) - Instituto de Estudos Socioambientais, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2002. 110p.
- TERAN, A.F.; VOGT R.C.; GOMEZ M.F.S. Food Habits of an Assemblage of Five Species of Turtles in the Rio Guaporé, Rondônia, Brazil. **Journal of Herpetology**, Columbus, v. 29, n. 4, p. 536-547, 1995
- VAN DIJK, P.P.V.; IVERSON, J.B.; RHODIN, A.G.J.; SHAFFER, H.B.; BOUR, R. Turtles of the World, 7th Ed. Annotated checklist of taxonomy, synonymy, distribution with maps, and conservation status. Chelonian Research Monographs, v. 5, p. 329-479, 2014
- VOGT, R.C. Conservation of freshwater turtles in the Amazon. **Biological Conservation**, n. 64, v. 02, p. 145-151, 1993.
- VOGT, R.C.; MITTERMEIER, R.A. **Rios de vida: a conservação das tartarugas da Amazônia.** Edições Instituto Internacional de Ecologia, 2008, 104p.
- VOGT, R.C.; PÁEZ, V.P. *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) –Tartaruga-da-Amazônia. In Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção, **Ministério do Meio Ambiente**, v. 01, n. 01, p. 156-160, 2008.
- VOGT, R.C.; SEVER, D.M.; MOREIRA, G. Esophageal papillae in Pelomedusid turtles. WYNEKEN, J. **The Anatomy of Sea Turtles.** NOAA Technical Memorandum NMFSSEFSC_470, US Department of Commerce, v. 02, n. 01, 2002, 172p.
- WYNEKEN, J.; GODFREY, M.H.; BELS, V. Biologia das tartarugas: das estruturas às estratégias de vida. **Crc Press**, 2007, 408p.

ANEXO A: Autorização do comitê de ética no uso de Animais – CEUA/UFT

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
COMITE DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA



Araguaína, 10 de novembro de 2020.

O projeto intitulado “Efeito de agrotóxicos em *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae) e possíveis implicações em comunidades tradicionais” processo n° 23101.002389/20-31 sob a responsabilidade, **Kellen Lagares Silva Ferreira** está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela lei de Procedimentos para o Uso Científico de Animais, de 8 de outubro de 2008, estando aprovado para a sua execução pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins.

Atenciosamente,

CEUA/UFT