CYNTHIA MARIA CARPIGIANI TEIXEIRA

Avaliação radiográfica, ultrassonográfica e endócrina do ciclo reprodutivo de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Departamento:

Reprodução Animal

Área de Concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Claudio Alvarenga de Oliveira

São Paulo
2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2113
FMVZ

Teixeira, Cynthia Maria Carpigiani

Avaliação radiográfica, ultrassonográfica e endócrina do ciclo reprodutivo de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766) / Cynthia Maria Carpigiani Teixeira. – São Paulo : C. M. C. Teixeira, 2009.
96 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2009.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.
Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Claudio Alvarenga de Oliveira.

1. *Geochelone* sp. 2. Reprodução. 3. Ultrassonografia. 4. Radiologia.
5. Dosagem hormonal. I. Título.

ERRATA

Folha

Parágrafo

Linha

Onde se lê

Leia-se

7

1

5

94 f.

96 f.

8

1

5

94 f.

96 f.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Assistência Acadêmica

Comissão de Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Acompanhamento do ciclo reprodutivo de jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabuti-tinga (*Geochelone denticulata*, LINEU, 1766) através de imagens radiográficas, ultrassonográficas e alterações hormonais séricas em machos e fêmeas", protocolo nº702/2005, utilizando 20 jabutis, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Cláudio Alvarenga de Oliveira, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Accompaniment of the reproductive cycle de jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) and jabuti-tinga (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766) through radiographics and ultrasonographics images, and hormonal alteration in males and females", protocol number 702/2005, utilizing 20 jabutis, under the responsibility of Prof. Dr. Claudio Alvarenga de Oliveira, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 08 de julho de 2005

Prof.ª Dr.ª Júlia Maria Matarazzo
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Cynthia Maria Carpigiani Teixeira

Título: Avaliação radiográfica, ultrassonográfica e endócrina do ciclo reprodutivo de jabutis-piranga (*geochelone carbonaria*, spix, 1824) e jabutis-tinga (*geochelone denticulata*, lineu, 1766)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Assinatura:	_____	Julgamento	_____
Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Assinatura:	_____	Julgamento	_____
Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Assinatura:	_____	Julgamento	_____
Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Assinatura:	_____	Julgamento	_____
Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Assinatura:	_____	Julgamento	_____

Agradecimentos:

Ao Prof. Dr. Claudio Alvarenga de Oliveira, orientador deste trabalho, pela oportunidade para o doutorado e por ter entendido as dificuldades desta pesquisa e me auxiliado pacientemente em cada uma das etapas.

Ao Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães pelas longas conversas e discussões científicas. Suas dicas e orientações me foram preciosas.

Aos médicos veterinários Daniel Fedullo (pelo voto de confiança e auxílio no trabalho de colheita junto aos animais), Marina Galvão Bueno (preciosa ajuda no início das colheitas), André Grespan (grande amigo, valioso mestre e companheiro que sempre encontrou um tempinho para me dedicar atenção e ajudar com as inúmeras dúvidas mesmo quando ele não podia), Suzana Hirata Bezzegh, querida “assistente pessoal” e amiga que entendeu o propósito do trabalho e sempre ajudou da maneira mais eficiente e dedicada, em finais de semana, feriados... Sem ela, a pesquisa não teria acontecido... e o desafio de conquistar jabutis teria sido em vão.

Aos biólogos do Setor de Répteis (Cibele e Edvaldo), queridos tratadores (Luizinho, Haroldo, Isa, Cintia) do Zoológico de São Paulo que sempre se mostraram solícitos quando era preciso buscar ou auxiliar na contenção dos jabutis e sem os quais o trabalho teria ficado impossível de realizar.

À Dra. Priscila Viau Furtado que realizou todo o processamento das amostras, e mostrou muito cuidado com todos os detalhes da tese. Obrigada pelo carinho e ajuda!

À Prof. Dra. Terezinha Knobl (FMU) e à Wildvet que me auxiliaram com parte do processamento das amostras.

À Syncrofilm por ter cedido o aparelho de US para a realização do projeto piloto.

À FAPESP pelo apoio a esta pesquisa.

Estagiários que passaram pelo Zoo SP de diferentes universidades brasileiras

Aos queridos Jabutis do Zoológico de São Paulo que aprenderam a confiar em mim e colaboraram muito com esta pesquisa. Minhas meninas e meninos!

À minha família dos quais sempre tive total apoio e incentivo no caminho da Medicina veterinária e da pesquisa.

Aos meus animais companheiros (Nina, Mel, Gabriel, Anita, Elza e Fred) de quem roubei momentos de brincadeiras e alegria para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos jabutis da minha vida (Neneca, Mariana e Vitor que me inspiraram o tema).

... a todos aqueles que em algum momento precisaram de meu apoio e carinho e que, infelizmente não pude atendê-los a contento;

... a todos que se sacrificaram um pouco para que eu pudesse realizar este trabalho.

... à minha família, amigos e outros seres que sempre me acompanham a quem tanto amo!

TEIXEIRA, C. M. C. **Avaliação radiográfica, ultrassonográfica e endócrina do ciclo reprodutivo de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766).** [Radiographic, ultrasound and endocrine evaluation of the reproductive cycle in red-foot tortoises (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) and yellow-foot tortoises (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766)]. 2009. 94 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

O principal objetivo desta pesquisa foi o acompanhamento clínico-laboratorial do ciclo reprodutivo de jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabuti-tinga (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766) servindo-se de métodos minimamente invasivos como imagens radiográficas, ultrassonográficas e alterações hormonais séricas em fêmeas híginas em idade reprodutiva. Para tanto, ao longo de 13 meses seguidos, foram utilizadas 7 fêmeas de *G. carbonaria* e 5 fêmeas de *G. denticulata* mantidas em recinto comum, híginas e em idade reprodutiva. As variações médias de umidade do ar, índices pluviométricos, temperatura e fotoperíodo foram acompanhados semanalmente. Todos os animais foram avaliados uma vez ao mês. As imagens radiográficas dorso-ventrais foram feitas com os animais em estação na Fundação Parque Zoológico de São Paulo em aparelho fixo e submetidos a exposições de 300 mA por 1/60 segundo. Cada fêmea radiografada teve seus ovos mensurados com o auxílio de um paquímetro. No acompanhamento ultrassonográfico utilizou-se aparelho com microtransdutor convexo de frequência dupla 4 e 7,5 MHz, enfatizando-se as estruturas ovarianas (folículos em desenvolvimento e desenvolvidos) e a presença ou não de ovos com casca no oviduto. Esta avaliação foi feita através das janelas acústicas craniais e inguinais por período um pouco maior que 10 minutos. As estruturas ovarianas foram mensuradas seguindo uma escala interna ao aparelho durante o exame e as imagens foram gravadas digitalmente para posterior recuperação. Realizou-se o acompanhamento do ciclo reprodutivo através de colheitas seriadas de sangue para a dosagem de estrógeno, progesterona, testosterona e corticosterona. Para as colheitas de sangue os animais foram fisicamente contidos, permanecendo sustentados por suporte metálico. Estas foram feitas prioritariamente através de punção da veia jugular. As amostras foram dosadas no Laboratório de Dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da USP, por meio de “kits” comerciais de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida. Onde foi possível se verificar alterações entre as duas espécies no que diz respeito ao ciclo anual. Foi possível verificar um pico de progesterona dois meses antes do pico de folículos em desenvolvimento na *G. carbonaria* enquanto que na *G. denticulata*, houve início de desenvolvimento folicular dois meses após uma marcada elevação dos níveis séricos de progesterona, porém o pico de progesterona só se verificou no início do verão. Os níveis séricos de testosterona e corticosterona observados em fêmeas de ambas as espécies não mostraram variações significativas ao longo do ano. Pela ultrassonografia foi possível verificar a vitelogênese nas fêmeas estudadas. A *G. carbonaria* apresentou pico de estradiol no início do verão enquanto a *G. denticulata* no final deste, coincidindo com a maior frequência de observação de folículos desenvolvidos pelo exame ultrassonográfico. As fêmeas de *G. carbonaria* se mostraram mais eficientes na produção de ovos que as *G. denticulata*. Ambas as espécies realizaram uma postura anual.

Palavras-chave: *Geochelone* sp. Reprodução. Ultrassonografia. Radiologia, Dosagem Hormonal.

TEIXEIRA, C. M. C. **Radiographic, ultrasound and endocrine evaluation of the reproductive cycle in red-foot tortoises (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) and yellow-foot tortoises (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766).** [Avaliação radiográfica, ultrassonográfica e endócrina do ciclo reprodutivo de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766)]. 2009. 94 f. Thesis (Doctor's degree in Veterinary Medicine) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

The main objective of this study was to evaluate the reproductive cycle of red-foot (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) and yellow-foot tortoises (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766) using minimally invasive clinical and laboratory methods, such as radiographic and ultrasound images and hormone dosages. Seven *G. carbonaria* and 5 *G. denticulata* healthy females at reproductive age were kept together for 13 consecutive months. Mean variations in air humidity, pluviometric indexes, temperature and photoperiod were recorded weekly. All animals were evaluated once a month. Dorsoventral radiographic images of the animals in a standing position were obtained at the Fundação Parque Zoológico de São Paulo, by means of a fixed x-ray device, using 300 mA for 1/60 second. Eggs of each female that was analyzed by x-ray were measured using a caliper. Ultrasound examination was carried out using a convex micro transducer at two frequencies, 4 and 7.5 mHz. Ovarian structures (developing and developed follicles) were analyzed, as well as the presence or absence of shelled eggs inside the oviduct, using the cranial and inguinal acoustic windows for a little longer than 10 minutes. Ovarian structures were measured during the examination according to an internal scale of the device, and images were digitally recorded to be recovered later. Reproductive cycle was analyzed by means of serial blood collections for estrogen, progesterone, testosterone, and corticosterone dosage. Animals were physically restrained and blood samples were collected, which was preferentially performed by means of a puncture in the jugular vein. Samples were analyzed in the *Laboratório de Dosagens Hormonais* at the *Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária* at USP, using commercial solid phase radioimmunoassay kits (RIA) in order to assess differences in the annual cycle of the two species. A progesterone peak was observed two months before the peak of developing follicles in *G. carbonaria*, whereas *G. denticulata* showed follicular development two months after a marked increase in progesterone serum levels. However, progesterone peak was only observed in the beginning of the summer while in *G. denticulata* it was observed at the end. Testosterone and corticosterone serum levels observed in females of both species did not show significant variations throughout the year. Ultrasound examination showed vitellogenesis in females studied. An estradiol peak was observed in *G. carbonaria* in the beginning of the summer, and in *G. denticulata* in the end of this season, coinciding with a greater rate of developed follicles in ultrasound images. *G. carbonaria* females were more efficient in egg production than *G. denticulata*. Both species laid eggs once during the year.

Key words: *Geochelone* sp. Reproduction. Ultrasound. Radiology. Hormone Dosage.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1A, B, C, D - Vias de colheita de sangue utilizadas no projeto.....	26
Figura 2 - Aparelho de ultrassom com transdutor microconvexo de 4 a 7,5 Mhz (marca Sono Site, modelo 180 Vet).	28
Figura 3 - Contenção física do animal sobre suporte, no Zoológico de São Paulo.	28
Figuras 4 - Visualização dos órgãos e medição das estruturas de interesse pela ultrassonografia servindo-se do aparelho SonoSite 180 Vet (FAPESP), Fundação Parque Zoológico de São Paulo.....	29
Figuras 5A e B - Ultrassonografia pelas janelas acústicas craniais em jabuti-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>), na Fundação Parque Zoológico de São Paulo.....	29
Figura 6 - Radiografia dorso-ventral evidenciando o alcance do transdutor do aparelho de ultrassom posicionado na janela acústica cranial.....	30
Figura 7 - Ultrassonografia pela janela acústica caudal em jabuti-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>), na Fundação Parque Zoológico de São Paulo.....	30
Figuras 8A e B – Posicionamento do animal para posterior realização da imagem radiográfica do transdutor de ultrassom posicionado na janela acústica caudal.....	30
Figura 9 - Jabuti posicionado sobre chassi contendo filme radiográfico em sala de radiologia da Fundação Parque Zoológico de São Paulo (Fonte: Teixeira, C. M. C. São Paulo, 2008).....	31
Figura 10 - Sala escura usada para a revelação manual dos filmes radiográficos na Fundação Parque Zoológico de São Paulo.....	32
Figuras 11A e B - Medições dos ovos visualizados nas radiografias, com auxílio de paquímetro.	32
Figura 12 - Ultrassonografia pela janela acústica cranial em jabuti-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>) onde se evidencia a presença de 6 folículos ovarianos. 2007..	41
Figura 13 - Ultrassonografia pela janela acústica cranial em jabuti-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>) mantida na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. 2008..	42
Figura 14 - Ovo com casca fina em oviduto de <i>Geochelone carbonaria</i> . São Paulo, 2008.....	42
Figura 15 - Ultrassonografia pela janela acústica caudal evidenciando 1 ovo em oviduto em jabuti-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>), na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. 2008.....	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Identificação dos animais usados para a realização do projeto.....	24
Quadro 2 – Controle de qualidade obtido nos ensaios hormonais da progesterona sérica.....	34
Quadro 3 – Controle de qualidade obtido nos ensaios hormonais do estradiol sérico.	35
Quadro 4 – Controle de qualidade obtido nos ensaios hormonais da testosterona sérica	35
Quadro 5 – Controle de qualidade obtido no ensaio hormonal da corticosterona sérica (MPB).....	35
Quadro 6 - Controle de qualidade obtido no ensaio hormonal da corticosterona sérica (Siemens).....	36
Quadro 7 – Dinâmica da população de ovos dos jabutis-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>) e jabutis-tinga (<i>Geochelone denticulata</i>) acompanhados durante o experimento. Em cinza estão representados os períodos nos quais se verificaram ovos pelo exame radiográfico, onde os números representam a quantidade de ovos encontrados pelas imagens radiográficas realizadas mensalmente por 13 meses.....	46
Quadro 8 - Pesos das fêmeas de jabuti-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>) expressos em quilogramas (kg) e avaliados durante o experimento.....	47
Quadro 7 – Pesos das fêmeas de jabuti-tinga (<i>Geochelone denticulata</i>) expressos em quilogramas (kg) e avaliados durante o experimento.....	48

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Concentrações séricas médias de progesterona (ng/mL) e estradiol (pg/mL) das fêmeas de <i>Geochelone carbonaria</i> , mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.....	36
Gráfico 2 – Concentrações séricas médias de testosterona (ng/dL) e respectivos erros padrões da média das fêmeas de <i>Geochelone carbonaria</i> , mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.....	37
Gráfico 3 – Concentrações séricas médias de progesterona (ng/mL) e estradiol (pg/mL) das fêmeas de <i>Geochelone denticulata</i> , mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.	37
Gráfico 4 – Concentrações séricas de testosterona (ng/dL) e respectivos erros padrões da média das fêmeas de <i>Geochelone carbonaria</i> , mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.....	38
Gráfico 5 – Concentrações séricas de corticosterona (ng/mL) das fêmeas de <i>Geochelone carbonaria</i> e <i>Geochelone denticulata</i> , durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.....	39
Gráfico 6 – Médias anuais das concentrações séricas de corticosterona (ng/mL) das fêmeas de <i>Geochelone carbonaria</i> e <i>Geochelone denticulata</i> , durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.....	39
Gráfico 7 – Concentrações séricas de corticosterona (ng/mL) para a fêmea C15, da espécie <i>Geochelone carbonaria</i> , mantida em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.	40
Gráfico 8 - Número de folículos visualizados nas fêmeas de jabuti-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>) através de exames ultrassonográficos mensais e os níveis séricos de progesterona durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.	43
Gráfico 9 - Número de folículos visualizados nas fêmeas de jabuti-tinga (<i>Geochelone denticulata</i>) através de exames ultrassonográficos mensais e os níveis séricos de progesterona durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.	44
Gráfico 10 - Número de folículos visualizados nas fêmeas de jabuti-piranga (<i>Geochelone carbonaria</i>) através de exames ultrassonográficos mensais e os níveis séricos de estradiol durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.	45
Gráfico 11 - Número de folículos visualizados nas fêmeas de jabuti-tinga (<i>Geochelone denticulata</i>) através de exames ultrassonográficos mensais e os níveis séricos de estradiol durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.	46
Gráfico 12. Temperatura ambiente absoluta mínima, máxima e média durante os meses da pesquisa, conforme dados fornecidos pelo Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas – Ciiagro. São Paulo, 2008.....	

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	18
LISTA DE QUADROS	19
LISTA DE GRÁFICOS	20
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
3 OBJETIVO	23
4 MATERIAIS E MÉTODO	24
4.1 Animais	24
4.2 Dosagem hormonal	25
4.2.1 Colheita de sangue	25
4.2.2 Análises Hormonais por Radioimunoensaio (RIE)	26
4.3 Estudo ultrassonográfico	27
4.4 Estudo radiográfico	31
4.4.1 Validação radiográfica	32
4.5 Análise estatística	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Parâmetros de qualidade dos ensaios hormonais	34
5.2 Avaliação das dosagens hormonais	36
5.4 Avaliações dos achados radiográficos	46
5.5 Avaliação das variações de peso corporal	47
5.6 Avaliação das variações da temperatura ambiente	49
5.7 Comentários gerais	50
6 CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIA	53
APÊNDICES	58
ANEXO	95

1 INTRODUÇÃO

O estudo dos répteis instiga a curiosidade humana há muito tempo. Evolutivamente, eles têm se mantido vivos no Planeta Terra até nossos dias há 250 a 300 milhões de anos após terem sofrido apenas pequenas adaptações principalmente ligadas ao tamanho (O'MALLEY, 2005). Desta, maneira, a classe *Reptilia* é representada por 16 ordens, a grande maioria com representantes fósseis (FERNANDES, 1981). Atualmente são quatro as principais: *Squamata*, que inclui lagartos e cobras; *Crocodylia*, onde os crocodilos e jacarés a representam; *Rhynchocephalea*, da tuatara da Nova Zelândia; e *Chelonia*, das tartarugas e jabutis (STORER et al., 2000). Na fauna brasileira destacam-se: as tartarugas marinhas, as tartarugas da Amazônia, os jabutis, os tracajás e as muçuãs, perfazendo ao todo 33 espécies (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 2009).

Desta forma, os quelônios constituem uma ordem dentre os répteis, que possuem o corpo recoberto por uma placa óssea, formada por uma parte dorsal, arredondada e convexa – chamada de carapaça, e uma ventral e plana - o plastrão, ambas cobertas por escamas córneas. Não possuem dentes, mas nas mandíbulas aparecem bainhas córneas (ranfoteca); a língua não é distensível; pálpebras estão presentes; o pescoço é geralmente retrátil (sub-ordem Cryptodira) com oito vértebras cervicais; a cloaca é oval, alongada e em forma de fenda (BARROS, 1971; FERNANDES, 1981; ORR, 1986, O'MALLEY, 2005; CUBAS et al., 2006). Nos jabutis, há dimorfismo sexual geralmente marcado pela presença de plastrão côncavo, maior distanciamento entre a cloaca e base da cauda e menor distanciamento entre as placas anais do plastrão nos machos. As fêmeas geralmente apresentam plastrão retilíneo, caudas mais curtas e placas anais mais distanciadas (O'MALLEY, 2005).

Os quelônios são os únicos tetrápodos que possuem a cintura pélvica e escapular no interior de suas costelas. Isto significa que estes animais não possuem gradil costal expansivo para a respiração (O'MALLEY, 2005). Seu esqueleto é totalmente ósseo e bem desenvolvido; a respiração é pulmonar (exceto nas tartarugas aquáticas que também é cloacal); a excreção é feita por meio de rins metanéfricos; em geral são carnívoros; geralmente possuem dimorfismo sexual externo, com fecundação interna, realizada por órgãos copuladores (BAROUDI, 1970; ORR, 1986; STORER et al., 2000; CUBAS et al., 2006).

Geograficamente, os répteis são animais de zonas tropicais e subtropicais e nas proximidades dos pólos são cada vez mais raros (BAROUDI, 1970). Os *Geochelone carbonaria* ocorrem em todo território nacional, com exceção do extremo oeste da Amazônia, Rio de Janeiro, litoral de São Paulo, do Paraná e estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 2008). Quanto aos *G. denticulata*, estes possuem distribuição um pouco mais restrita às áreas quentes do território nacional. Esta distribuição é verificada em decorrência da ausência de mecanismos termorreguladores internos. Uma vez que são ectotérmicos, dependem do ambiente externo e adaptações ambientais para manutenção da temperatura em níveis adequados às suas atividades (ORR, 1986; O'MALLEY, 2005; CUBAS et al., 2006).

Muitas espécies de quelônios apresentam taxas de crescimento baixas e requerem períodos longos para atingir a maturidade. Essas são características que predispõem uma espécie ao risco de extinção quando condições variáveis aumentam a mortalidade dos adultos ou reduzem drasticamente o recrutamento de jovens para a população. A situação dos jabutis e das tartarugas marinhas é extremamente séria em todo o mundo, em parte porque estas espécies estão entre as maiores e de crescimento mais lento, e também porque outros aspectos de sua biologia as expõem a riscos adicionais. A conservação dos jabutis e das tartarugas marinhas é um assunto de preocupação internacional (BURKE et al., 1993; GIBBONS, 1994). Ressalta-se ainda que esforços conservacionistas tenham sido realizados e a utilização de informações a respeito de aspectos básicos da Biologia é uma parte crucial dos esforços de manutenção das populações existentes e do restabelecimento de populações ameaçadas (POUGH; HEISER; MCFARLAND, 1999).

No Brasil há duas espécies de jabuti, a *Geochelone carbonaria*, também conhecido como "jabuti das patas vermelhas", "jabuti-piranga" (do Tupi, tartaruga vermelha) e *Geochelone denticulata*, o "jabuti das patas amarelas" ou "jabuti-tinga" (do Tupi, tartaruga branca). Em 2003 figuravam na lista B, appendix II, da CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora), dentre os integrantes dos Testudinidae, pela IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) a *G. denticulata* figura entre os animais vulneráveis enquanto que a *G. carbonaria*, pela lista regional de São Paulo, é considerada em perigo de extinção (INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 2009). Estes animais são protegidos pelo IBAMA (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) e como todos os animais silvestres, requerem autorização especial para serem criados em cativeiro.

O jabuti é um réptil terrestre originário de regiões secas e quentes, sendo encontrado principalmente em zonas tropicais da América do Sul, tendo distribuição abrangente desde: Guianas, Venezuela, Equador, Paraguai e algumas ilhas do Caribe (PRITCHARD, 1979). No território brasileiro, a espécie *Geochelone carbonaria* pode ser encontrada nas regiões nordeste, sudeste e sul, em áreas de cerrado e matas, enquanto que a *Geochelone denticulata* habita áreas de florestas densas mais na região norte do país (INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 2009).

Embora possam Este animal vive em diversos ambientes, desde florestas atlânticas, cerrado e caatinga. Mesmo tendo ampla distribuição geográfica, pesquisas básicas e aplicadas sobre esta espécie são escassas, sendo este um dos motivos que incentivaram este estudo.

Considerando as características gerais, ambas as espécies apresentam um corpo inteiramente coberto por um casco alto, também denominado carapaça, e o plastrão na porção inferior, que são fortes, onde somente a cabeça, membros, patas e cauda emergem. A cabeça, as patas e a cauda possuem manchas vermelhas ou amarelas, o que lhes confere o nome de "jabuti das patas vermelhas" (*Geochelone carbonaria*) ou "jabuti das patas amarelas" (*Geochelone denticulata*). São animais onívoros e possuem dimorfismo sexual externo, onde o macho tem plastrão côncavo e cauda alongada e as fêmeas plastrão reto e cauda curta (PRITCHARD, 1979; POUGH, 1997; FARIA, 2000).

Estas duas espécies de jabutis se alimentam de frutas, mas podem consumir também folhas e cogumelos e até mesmo carcaça de outros animais. Dentre os jabutis-piranga, os machos são maiores que as fêmeas, medem em média 30,4 cm, e as fêmeas 28,9 cm. Atingem um máximo de 40-50cm e peso de 6 a 12 kg. Já os jabutis-tinga são um pouco maiores, os machos podem atingir 40 cm de comprimento e em geral são menores que as fêmeas, as quais chegam a 70 cm. Estima-se um período de vida em torno de 80 anos (FRANCISCO, 1997).

Embora o jabuti não figure entre os animais citados como ameaçados de extinção, isto não torna menos relevantes pesquisas para o pleno conhecimento da espécie, principalmente no que diz respeito à reprodução destes animais, já que como já citado, poucos são os estudos voltados à espécie. Este animal tão pacífico e bem adaptado, que há milhões de anos de evolução continua mantendo muitas de suas características originais como o plastrão, pode ser um bom modelo para o estudo e compreensão da fisiologia reprodutiva de outras espécies semelhantes ameaçadas de extinção.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Na literatura científica, a escassez de informações a respeito desta espécie já possibilitou a realização de diversos estudos nas áreas de anatomia, anestesia, cirurgia e reprodução, principalmente na Universidade de São Paulo onde é possível ter disponível alguns trabalhos relacionados à origem, trajeto e número das principais artérias (FARIA, 2000a), irrigação dos órgãos celomáticos (FARIA, 2000b), anatomia radiográfica e determinação do tempo do trânsito gastrointestinal (PIZZUTTO, 2000), Irrigação arterial da glândula tireóide (MARIANA, 2002), topografia vértebro-medular (CARVALHO, 2004a) e anestesia espinhal (CARVALHO, 2004b), topografia e morfologia do sistema urinário (FARIA, 2003), morfologia peniana (CARVALHO, 2003) e algumas considerações quanto ao comportamento reprodutivo do jabuti (VANZOLINI, 1999).

Nem sempre é possível identificar o sexo dos répteis, visto que em boa parte das espécies não há dimorfismo sexual e alguns caracteres sexuais externos são visualizados apenas na época da reprodução. Nos jabutis uma das principais características é o plastrão, que nos machos é côncavo e nas fêmeas é reto, ou mesmo convexo. Isso facilita o procedimento da cópula, de modo que o macho possa encaixar-se sobre a fêmea. O orifício cloacal nos machos está situado mais afastado do plastrão que nas fêmeas. Em função das fêmeas fazerem a postura de ovos, suas placas anais formam um ângulo mais pronunciado que nos machos, facilitando assim a saída dos ovos, no momento da postura (FRYE, 1991; FRANCISCO, 1997). As gônadas pares estão localizadas cranialmente aos rins. A parte superior do oviduto secreta albumina para o óvulo em passagem, e a porção baixa produz a casca. A fecundação é interna. Os machos possuem um único pênis, longo, de cor escura, macio e expansível. Quando não ereto, ele permanece na parede ventromedial do proctodeum e não é usado para transporte de urina. Quando engorgitado, o pênis muscular sai da cloaca com uma prega seminal para o transporte de sêmen (BOYER; BOYER, 1999).

Em geral, os machos são maiores que as fêmeas o que facilita a fecundação. Quando existe mais de um macho, eles vão disputar a fêmea, os machos recolhem a cabeça e batem repetidamente seus cascos um nos outros, mas não chegam a se machucar. Ao acasalar, o macho emite um ruído típico. Os jabutis costumam enterrar os seus ovos em local que lhes parecer mais apropriado, em geral onde bate muito sol e a terra tem consistência que lhes

permite cavar (FRYE, 1991). Esses animais não camuflam o lugar, o que torna possível identificá-lo pela terra remexida (FRANCISCO, 1997).

Vanzolini (1999) refere hábitos reprodutivos idênticos para jabutis *G. carbonaria* e *G. denticulata*. Ambas as fêmeas fazem a postura de ovos esféricos. As *G. carbonaria* chegam a fazer a postura de 10 a 15 ovos, conforme citado referido por Coutinho¹ (1868 apud VANZOLINI, 1999, p. 147-166) enquanto que Moll (1979) cita a observação de 8 a 10 ovos por ninho. Já quanto as *G. denticulata* há referência de 5 a 15 ovos, de 50 X 42 mm (MEDEM, 1960; MOLL, 1979). A incubação leva de 6 a 9 meses contados a partir do momento em que os ovos tenham sido enterrados em ninhos superficiais, ou depositados entre as folhas secas nos meses de verão (FRYE, 1991; FRANCISCO, 1997).

Vanzolini (1999) observou ovos de 3 fêmeas de *G. carbonaria* encontradas mortas e que apresentaram folículos de diferentes diâmetros e volumes, com e sem casca. Estas fêmeas estudadas apresentaram respectivamente: 3 estruturas ovarianas com diâmetro de 19 a 28 mm e volume entre 3,6 e 11,5 mL, 11 estruturas ovarianas de 20 a 32 mm de diâmetro com 4,2 a 17,2 mL de volume e 10 outras estruturas ovarianas com 12 a 32 mm e 0,9 a 17,2 mL.

O período reprodutivo é determinado pelas estações do ano e ocorre principalmente a partir do mês de outubro, tendo seu ápice em janeiro. No entanto, conforme a região em que se encontram, este período pode variar um pouco. Estes animais atingem maturidade sexual entre 5 e 7 anos (FRANCISCO, 1997).

A temperatura ambiente parece ser um dos fatores essenciais na regulação do ciclo reprodutivo de répteis; no entanto, o mecanismo pelo qual a temperatura influencia a função reprodutiva não é plenamente compreendido ainda em répteis. Elevadas temperaturas ambiente ou acesso a uma fonte de calor que predispõe muitos ectotérmicos a usarem a temperatura, ao invés de fotoperíodo, são uma particularidade ambiental para iniciar a estação reprodutiva. O fotoperíodo é regular e pode ser previsto; em contrapartida, a temperatura freqüentemente oscila amplamente. Fatores ambientais sugerem que a temperatura é fator crítico no que diz respeito à reprodução de répteis (GANS; CREWS, 1992).

Para o acompanhamento do ciclo reprodutivo de quelônios pode-se realizar exames radiográficos, ultrassonográficos e de dosagens hormonais. A radiologia é uma grande ferramenta auxiliar para acompanhamento da reprodução dos répteis (MAUTINO; PAGE, 1993). Os quelônios são relativamente fáceis de se posicionar e conter para os exames radiográficos. Eles podem ser colocados diretamente sobre a lâmina ou mesa de raio X.

¹COUTINHO, J. M. S. Sur les tortues de l'Amazonie. *Bulletin de la Société Imperiale Zoologique d'Acclimatation*, v. 5, n. 2, 1868, p. 147-166.

Idealmente a cabeça e as patas devem estar fora do plastrão quando a imagem radiográfica for feita. Para tanto, pode ser colocada uma fita adesiva prendendo a porção caudal do plastrão e isto será um estímulo para que o animal faça força para seguir no sentido contrário à fita, expondo cabeça e patas. Ou então, o mesmo pode ser colocado em uma pequena caixa de papelão (SILVERMAN; JANSSEN, 1999) ou acrílico (RUBEL et al., 1991). Recomenda-se a utilização de um aparelho radiográfico capaz de produzir exposições de 300 mA em tempos de exposição de 1/60 segundo (0,017) ou mais rápido. Isto é necessário uma vez que o esqueleto dos répteis é freqüentemente menos radiopaco que o dos mamíferos (SILVERMAN; JANSSEN, 1999). Quanto ao filme radiográfico, os mais indicados são os de alta definição (SILVERMAN; JANSSEN, 1999). No caso específico do sistema genital, é possível se evidenciar a presença de ovos com início de deposição de casca no oviduto (RUBEL et al., 1991; SILVERMAN; JANSSEN, 1999).

Imagens ultrassonográficas têm sido extensamente utilizadas no estudo da biologia de vários animais domésticos e animais selvagens cativos. Em 1989, Kuchling, utilizou as imagens ultrassonográficas para estudar a morfologia reprodutiva de fêmeas de tartarugas marinhas (*Chelodina oblonga*) e em 1990, Rostal et al. apresentaram o acompanhamento de estruturas foliculares e ovos em *Lepidochelys kempi* mantidas em cativeiro, juntamente com imagens laparoscópicas. Neste último, observaram folículos vitelogênicos de 10 a 30 mm de diâmetro, ovos com casca de $38,8 \pm 1,5$ mm, confirmados pelas imagens laparoscópica e imagens ultrassonográficas *in vitro*, utilizando transdutores de 3,5 e 5,0 MHz.

As técnicas de exame não são complexas embora se necessite de equipamento de alta resolução. Para a maioria dos répteis, exceto os grandes quelônios, os microtransdutores de 7,5 mHz são recomendados. Este transdutor pode ser colocado na janela acústica axilar, cranial ou inguinal após a aplicação de uma generosa quantidade de gel e permite a visualização de folículos (SILVERMAN; JANSSEN, 1999) e ovos no oviduto (KIK, 2002).

Ainda em 1997, Casares, Rubel e Honegger acompanharam o ciclo ovariano de *Geochelone nigra* (tartaruga de Galápagos) pela ultrassonografia e foi possível observar a presença de folículos em desenvolvimento, pré-ovulatório e em atresia assim como ovos em diversos estágios de postura. Nesta espécie, os folículos se tornavam pré-ovulatórios com 40-42 mm e os ovos eram liberados com 34-84 dias após a detecção de deposição de fina casca no ovo ainda no oviduto. Esta tartaruga foi capaz de reter ovos, com casca já formada até a seguinte estação reprodutiva.

O acompanhamento das oscilações de estrógeno, progesterona e testosterona aliado as alterações ultrassonográficas durante a primavera foi realizado com tartarugas de Galápagos

(*Geochelone nigra*) pela equipe de ROSTAL et al., em 1998. Os machos mostraram um aumento pré-acasalamento de testosterona sérica durante a maturação gonadal, espermatogênese e para atrair as fêmeas. Nestas, a testosterona se elevou durante o período de acasalamento pouco antes da ovulação, provavelmente para atrair o macho. A progesterona foi mais variável embora apresente um pico durante o período de acasalamento e parece estar relacionado à ovulação. Um pouco antes da época de acasalamento eles observaram um aumento de estrógeno o qual foi relacionado com vitelogênese e correlacionado com o aumento dos níveis de cálcio.

Para o acompanhamento da vitelogênese em quelônios, de três espécies diferentes, foi publicado um experimento em 2003 por Henen e Hofmeyer, na África do Sul, sobre a determinação da eficácia da janela acústica cranial e inguinal para a detecção de folículos e ovos em três espécies de tartarugas terrestres. Como resultado perceberam que através da janela acústica cranial foi mais fácil visualizar os folículos enquanto que pela janela inguinal esquerda foi melhor a observação dos ovos. A assimetria esquerda-direita ocorreu provavelmente devido a assimetria intestinal entre ceco e cólon descendente. Eles notaram variações entre as espécies quanto ao tamanho e número de folículos e ovos assim como quanto ao ciclo reprodutivo e por fim sugeriram que a eficácia do exame está correlacionada com o tamanho corporal, formato do plastrão, estruturas e ciclos reprodutivos.

Schramm, Casares e Lance (1999) realizaram dosagens de progesterona, estrógeno, testosterona e corticosterona em machos e fêmeas da espécie *Geochelone nigra*, ameaçada de extinção. Nos machos, a testosterona e corticosterona plasmática aumentaram poucos meses antes do início da estação de monta. Picos foram observados quando ocorriam a maioria das cópulas e as temperaturas ambientes foram maiores. Tanto a testosterona quanto a corticosterona mostraram baixos níveis durante a estação fria e seca e altos níveis durante a estação de monta quente e chuvosa. Nas fêmeas, testosterona e corticosterona também aumentaram durante a estação de monta quente e chuvosa. Ambos hormônios atingiram um máximo durante a segunda metade da estação de monta e diminuíram durante a estação mais fria e seca. Os níveis do estradiol na fêmea aumentaram no início da estação de monta, alcançando o nível mais alto no pico da estação reprodutiva, que coincidiu com as maiores temperaturas anuais medidas. O estradiol diminuiu lentamente nos meses seguintes e caiu rapidamente no início da estação de postura quando as temperaturas diminuíram. Os níveis de progesterona foram maiores perto do momento da ovulação e mostraram níveis claramente elevados no início da estação de postura, depois que algumas fêmeas tinham feito sua primeira desova. A progesterona diminuiu durante a estação de postura, quando a temperatura

ambiente começou a cair e alcançou níveis mínimos no período pós- acasalamento pouco antes do início da estação reprodutiva seguinte. Houve variações anuais significativas na testosterona plasmática tanto em machos quanto em fêmeas. A corticosterona plasmática foi geralmente maior nos machos que nas fêmeas e variou durante o ano em ambos os sexos (SCHRAMM; CASARES; LANCE, 1999).

Em experimento realizado com machos e fêmeas de *Graptemys flavimaculata* capturados em armadilhas, foram dosados testosterona, estradiol e progesterona. Os níveis hormonais das fêmeas aumentaram significativamente no período inicial do desenvolvimento ovariano, correspondente à transição da primavera-verão. Fêmeas com folículos pré-ovulatórios não apresentaram níveis maiores de estradiol que fêmeas com folículos de tamanhos pequenos ou intermediários, acompanhados pela ultrassonografia. Estes níveis foram baixos quando comparados com outras tartarugas de água doce, enquanto que a testosterona não apresentou um padrão distinto anual. Através da análise conjunta das dosagens hormonais com o estudo ultrassonográfico foi possível perceber que as fêmeas apresentavam desenvolvimento folicular no outono e uma única postura anual (SHELBY et al., 2000).

Huot-Daubremont et al. (2003) mensuraram os níveis plasmáticos de esteróides sexuais em machos e fêmeas das ameaçadas tartarugas de Hermann (*Testudo hermanni hermanni*) em vida livre e cativas durante seu período ativo em região do sul da França. Encontraram níveis plasmáticos elevados de progesterona e testosterona nos machos no início do inverno. No início da estação de postura observou-se baixos níveis de testosterona nos machos, seguida de um platô elevado durante o verão, presumivelmente por conta da espermatogênese. A testosterona plasmática se elevou em todas as fêmeas durante o outono, indicando crescimento folicular e permaneceu alto ao final da hibernação embora os níveis fossem menores nos cativos. Verificaram também elevação da progesterona no início da primavera, provavelmente relacionada à ovulação, efeitos estes menos marcados que nas de vida livre. As dosagens de testosterona, progesterona e 17β estradiol nas fêmeas cativas durante o período de oviposição na primavera sugerem que algumas fêmeas ovularam e ovipuseram, enquanto que outras não. Diferenças entre os níveis de esteróides sexuais e populações selvagens podem indicar um problema relacionado com ovulação e/ou com estresse em relação com as fêmeas cativas.

Em 2006, Al-Habsi et al. realizaram a colheita de sangue para análise dos hormônios sexuais durante uma das quatro fases de postura (emergência, escavação, finalização do ninho após postura ou não realização de postura e retorno ao mar) de fêmeas de *Chelonia mydas* que

chegavam à praia para a desova. Com a análise das dosagens hormonais, observaram baixos níveis de estradiol em todas as fêmeas e uma elevação estatisticamente significativa dos níveis de progesterona nas fêmeas que apresentaram sucesso na postura assim como nos níveis de corticosterona naquelas que chegaram a fazer o ninho e obtiveram ou não sucesso na postura.

Embora a pesquisa de metabólitos fecais de hormônios da reprodução seja bastante utilizado em experimentos que visam acompanhar o ciclo reprodutivo de diferentes espécies de mamíferos selvagens de forma menos invasiva possível, este método não proporciona uma leitura interessante do ponto de vista de perfil hormonal já que, conforme trabalho realizado por Pizzuto (2000), o tempo médio do trânsito gastro-intestinal do contraste administrado para jabutis é de 42 dias, com a variação de temperatura ambiente de 17,7 °C.

Estudos relacionados com bem-estar animal estão se tornando cada vez mais importantes e desta maneira, a utilização de estudos que utilizem métodos pouco invasivos e conseqüentemente menos estressantes são pré-requisitos. Durante o estresse, várias respostas endócrinas estão envolvidas para melhorar a condição corporal do animal. Os hormônios que aparecem inicialmente em situações estressantes são os glicocorticóides e catecolaminas (WINGFIELD e RAMENOFKY, 1999). Desta maneira, nos mamíferos pode-se dosar o cortisol presente no sangue e realizar análise através de radioimunoensaio (RIA) e enzima imunoensaio (ELISA) (MÖSTL e PALME, 2002).

Moore e Jessop (2003) estudaram a modulação adrenocortical relacionada ao estresse e reprodução em répteis e anfíbios onde obtiveram resultados bastante interessantes. Primeiro, verificaram que para muitos animais a relação entre estresse e reprodução está altamente correlacionada ao contexto e que embora alguns animais possam exibir uma resposta inibitória, outros não. Segundo, é evidente que durante a reprodução muitos anfíbios e répteis apresentem elevações concomitantes dos níveis plasmáticos de corticosterona com a não supressão do comportamento reprodutivo ou fisiologia, sendo possível que níveis elevados de corticosterona possam facilitar um comportamento específico e aspectos fisiológicos da reprodução. Sugerem também que o contexto comportamental, fisiológico e ambiental podem ser a chave para a compreensão do papel da corticosterona nas interações sociais.

Vários autores estudaram os níveis de corticosterona em répteis e anfíbios e observaram uma elevação dos níveis basais durante a estação reprodutiva quando comparado com os níveis fora da estação reprodutiva. Considerando os quelônios, como já comentado, Tartarugas de galápagos (*Geochelone nigra*; SCHRAMM et al., 1999), machos e fêmeas de

tartarugas verdes (*Chelonia mydas*; JESSOP et al., 2002) também exibem elevação dos níveis plasmáticos de corticosterona coincidindo com a reprodução.

Outros trabalhos ainda relacionam elevação de testosterona e corticosterona durante as estações reprodutivas (Schramm et al, 1999; JESSOP et al., 2002; MOORE et al., 2003). Existem muitos mecanismos fisiológicos que explicam a transição entre relações positivas e negativas da testosterona plasmática e corticosterona, relacionada a proteínas plasmáticas carreadoras em comum entre este dois hormônios e maior afinidade de receptores de mineralocorticóides em relação aos de glicocorticóides. A ligação com os receptores de glicocorticóide só ocorre quando todos os de mineralocorticóides já estiverem ocupados, assim como acontece em situações de estresse, desta maneira impedindo a ligação com a testosterona (MOORE et al., 2003).

A concentração plasmática de corticosterona em répteis tende a se elevar também por conta do tempo de contenção. Em trabalho realizado com tartarugas marinhas de vida livre *Caretta caretta* (GREGORY et al., 1996) que eram capturadas em redes e mantidas por até 6 horas cativas, observou-se que após 1 hora do início da captura houve aumento marcado dos níveis de corticosterona séricos com pico 3 horas após a contenção e queda dos níveis após 6 horas do início do experimento. Resultados diferentes foram observados na época do inverno em relação ao verão, sendo muito maiores no inverno que no verão.

Alguns autores que trabalharam com tartarugas de orelha vermelha (*Trachemys scripta elegans*) referem alterações significativas dos níveis de corticosterona após 30 e 60 minutos de contenção atingindo dosagens plasmáticas de aproximadamente 7 a 12 ng/mL, respectivamente (CASH; HOLBERTON; KNIGHT, 1997). O mesmo pode ser constatado por Gregory e Schmidt (2001) durante o estudo da resposta ao estresse de *Lepidochelys kempii* de vida livre, capturados por meio de redes.

Um outro fator associado à elevação dos níveis de corticosterona foi a temperatura ambiente, conforme observado em trabalho realizado com tartarugas verdes (*Chelonia mydas*; JESSOP et al., 2000) que sofriam estresse térmico após a postura e não conseguiam chegar ao mar. Não se observaram correlações negativas entre a testosterona e corticosterona plasmáticas, entre testosterona e temperatura corporal, entre progesterona e corticosterona, ou entre progesterona e temperatura corporal. Isto sugerindo uma função adrenocortical reduzida nos animais em reprodução mesmo quando submetidos aos agentes ambientais mais estressantes.

3 OBJETIVO

O principal objetivo desta pesquisa foi o acompanhamento clínico-laboratorial do ciclo reprodutivo de jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabuti-tinga (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766) servindo-se de métodos minimamente invasivos como imagens radiográficas, ultrassonográficas e alterações hormonais séricas em fêmeas híginas em idade reprodutiva.

4 MATERIAIS E MÉTODO

A seguir foram apresentados os materiais e métodos utilizados para a realização do estudo do ciclo reprodutivo das fêmeas de *G. carbonaria* e *G. denticulata*.

4.1 Animais

Foram utilizados 7 fêmeas adultas de *Geochelone carbonaria* e 5 fêmeas de *Geochelone denticulata* identificados individualmente com o número específico desenhado em esmalte na carapaça e mantidos em recinto comum, hígidas e em idade reprodutiva, apresentados no quadro 1.

projeto	carapaça	Espécie	Sexo	Microchip	cadastro ZooSP
C1	1	<i>G. carbonaria</i>	F	AVID 070.005.824	12591
C3	3	<i>G. carbonaria</i>	F	AVID 069.862.779	29228
C8	8	<i>G. carbonaria</i>	F	AVID 069.623.070	27729
C9	9	<i>G. carbonaria</i>	F	AVID 069.620.516	14927
C10	10	<i>G. carbonaria</i>	F	AVID 070.284.558	15616
C15	15	<i>G. carbonaria</i>	F	AVID 070.006.830	24237
C16	16	<i>G. carbonaria</i>	F	AVID 070.282.572	29283
D6	6	<i>G. denticulata</i>	F	AVID 070.083.119	22008
D11	11	<i>G. denticulata</i>	F	AVID 069.840.635	17063
D12	12	<i>G. denticulata</i>	F	AVID 070.070.012	22225
D22	22	<i>G. denticulata</i>	F	AVID 070.038.367	19595
D24	24	<i>G. denticulata</i>	F	AVID 070.050.002	20569

Quadro 1 - Identificação dos animais usados para a realização do projeto.

Os animais eram alimentados com uma dieta baseada em frutas da época, verduras e fontes de proteínas (peixe ou carne branca ou vermelha), três vezes na semana no período da primavera e verão e duas vezes na semana, no período de outono e inverno. Eram alimentados em grupo e o alimento, picado e misturado, disposto em bandejas.

Toda e qualquer colheita de material biológico para os já citados fins científicos somente foi feito mediante autorizações prévias fornecidas pelo IBAMA, conforme portaria

de nº 332/90 (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 2009), Comissão de Ética da Universidade de São Paulo e pela instituição mantenedora dos animais em estudo, Fundação Parque Zoológico de São Paulo.

Foram formados 4 grupos de animais que eram avaliados sempre com o mesmo intervalo de tempo (mensalmente); todos os grupos foram trabalhados em um único dia da semana a fim de minimizar os transtornos na rotina diária do zoológico. Todos eram transportados e mantidos em caixas plásticas, pela manhã, antes da alimentação e avaliados individualmente. Inicialmente todas eram pesadas e radiografadas. Em seguida, procedia-se a contenção física de cada animal para a colheita de sangue e exame ultrassonográfico; procedimento este que durava cerca de 20 a 40 minutos, dependendo do animal.

As variações médias de umidade do ar, índices pluviométricos, temperatura e fotoperíodo foram também acompanhados semanalmente, e fornecidos pela Secretaria da Agricultura e Abastecimento de São Paulo (localizada em frente à instituição mantenedora dos animais), já que não foi possível manter todos os animais sempre nas mesmas condições de temperatura, isto devido às variações dentro do recinto por conta das casinhas aquecidas.

4.2 Dosagem hormonal

Nas fêmeas foi feito o acompanhamento do ciclo reprodutivo através de colheitas seriadas de amostras de sangue para a dosagem de estrógeno, progesterona, testosterona e corticosterona.

4.2.1 Colheita de sangue

Para as colheitas de sangue (Figuras 1A, B, C e D), os animais foram fisicamente contidos, permanecendo sustentados pelo suporte. Estas foram feitas prioritariamente através de punção da veia jugular respeitando o volume máximo correspondente a 10% do volume total de sangue de cada animal (ou seja, 5 a 8 % do peso vivo) (WAPPEL e SCHULTE, 2004). Quando esta via não foi facilmente acessada, optou-se pelo plexo braquial (MADER,

2006), veia subcarapacial (MADER, 2006), veia marginocostal (PIMENTA e LOPEZ, 2007), veia da cauda (MADER, 2006) ou plexo occipital (MADER, 2006). As amostras foram armazenadas em tubos eppendorff, identificados individualmente e mantidas em freezer a -20°C para posterior processamento no Laboratório de Dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da USP, por meio de “kits” comerciais de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida.

A. Acesso pela veia jugular

B. Acesso pelo plexo braquial

C. Acesso pela veia caudal

D. Veia margino-costal

Figura 1A, B, C, D. Vias de colheita de sangue utilizadas no projeto.

Fonte: Teixeira, C. M. C. (2008). São Paulo.

4.2.2 Análises Hormonais por Radioimunoensaio (RIE)

Para dosagem da progesterona, estradiol, testosterona e corticosterona sérica utilizou-se a técnica de radioimunoensaio (RIE) em fase sólida, por meio de conjunto diagnóstico

comercial (COAT-A-COUNT, Siemens, Los Angeles, CA, USA) desenvolvido para avaliação quantitativa de progesterona (P_4), estradiol (E_2) e testosterona no soro humano, assim como corticosterona em ratos previamente validado para o uso em soro de animais do gênero *Geochelone* (ROSTAL et al., 1998; SCHRAMM; CASARES; LANCE, 1999). Para a dosagem de corticosterona também foi testado um outro conjunto diagnóstico comercial (MP Biomedicals, LLC, Orangeburg, NY, USA) ainda não validado para as espécies deste estudo.

Este conjunto diagnóstico utiliza como elemento traçador o hormônio marcado com ^{125}I e apresenta pouca reação cruzada, com outros hormônios de acordo com a tabela testada pelo fabricante e esses percentuais de reações-cruzadas dos conjuntos diagnósticos utilizados da Siemens® encontram-se no anexo 1.

O controle de qualidade dos ensaios de RIE foi realizado através da análise dos coeficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaio, porcentagem de ligação (B/B0) e dose mínima detectada, entre outros fatores empregados rotineiramente no Laboratório de Dosagens Hormonais.

4.3 Estudo ultrassonográfico

Como preparo para este exame, os animais tiveram seu corpo lavado com água a fim de se retirar grãos de areia que poderiam interferir com as imagens.

Utilizou-se o aparelho ultrassom da marca SonoSite 180 Vet, com microtransdutor convexo de frequência dupla 4 e 7,5 mHz (Fig. 2) adquirido com auxílio da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), enfatizando-se as estruturas ovarianas (folículos pré-vitelogênicos, vitelogênicos, atresícos) e a presença ou não de ovos com casca no oviduto.

Figura 2 - Aparelho de ultrassom com transdutor microconvexo de 4 a 7,5 Mhz (marca Sono Site, modelo 180 Vet). Fonte: Teixeira, C. M. C. (2008). São Paulo.

Para a realização da ultrassonografia, as fêmeas foram mantidas sobre um suporte metálico com ajuste de altura que as impedia de apoiar as patas na mesa e andar (Figura 3). Esta avaliação (Figura 4) foi feita através das janelas acústicas craniais (Figuras 5A e B e 6) e inguinais (Figs. 7, 8A e B) por período um pouco maior que 10 minutos, conforme descrito por Silverman e Janssen (1999). As estruturas ovarianas foram mensuradas seguindo uma escala interna ao aparelho durante o exame e as imagens foram gravadas digitalmente para posterior recuperação. As estruturas ovarianas foram quantificadas por tamanho seguindo a seguinte escala: < 1,0 cm, 1,0 a 1,99cm, 2,0 a 2,99cm, 3,0 a 3,99 cm e > 4,0cm.

Figura 3 - Contenção física do animal sobre suporte, no Zoológico de São Paulo. Fonte: Teixeira, C. M. C. (2008). São Paulo.

Figuras 4 - Visualização dos órgãos e medição das estruturas de interesse pela ultrassonografia servindo-se do aparelho SonoSite 180 Vet (FAPESP), Fundação Parque Zoológico de São Paulo.
Fonte: Hirata, S. B. (2008). São Paulo.

Figuras 5A e B. Ultrassonografia pelas janelas acústicas craniais em jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*), na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Fonte: Teixeira, C. M. C. São Paulo, 2008.

Figura 6. Radiografia dorso-ventral evidenciando o alcance do transdutor do aparelho de ultrassom posicionado na janela acústica cranial. Fonte: Teixeira, C. M. C. (2008). São Paulo.

Figura 7. Ultrassonografia pela janela acústica caudal em jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*), na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Fonte: Hirata, S. B (2008). São Paulo.

Figuras 8A e B – Posicionamento do animal para posterior realização da imagem radiográfica do transdutor de ultrassom posicionado na janela acústica caudal. Fonte: Teixeira, C. M. C. (2008). São Paulo.

4.4 Estudo radiográfico

As imagens radiográficas dorso-ventrais foram feitas com os animais em estação e em repouso, mantidos sobre o chassi contendo o filme radiográfico (Figura 9). Não foi necessária qualquer tipo de contenção em caixas de papelão, ou sobre algum suporte conforme recomendação descrita por Schramm et al. (1999). O equipamento utilizado foi o pertencente à Fundação Parque Zoológico de São Paulo e a calibragem feita considerando-se o peso e dimensões da carapaça do animal em estudo.

Figura 9 - Jabuti posicionado sobre chassi contendo filme radiográfico em sala de radiologia da Fundação Parque Zoológico de São Paulo (Fonte: Teixeira, C. M. C. São Paulo, 2008)
Fonte: Teixeira, C. M. C. (2008). São Paulo.

Os animais foram radiografados na Fundação Parque Zoológico de São Paulo em aparelho fixo e submetidos a exposições de 300 mA por 1/60 segundo. Foram utilizados filmes radiológicos de tamanho 30 x 40 cm, marca Kodak. Logo após a exposição, cada filme devidamente identificado foi revelado manualmente em sala escura (Figura 10).

Figura 10. Sala escura usada para a revelação manual dos filmes radiográficos na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Fonte: Teixeira, C. M. C. (2008). São Paulo.

Cada fêmea radiografada teve seus ovos mensurados com o auxílio de um paquímetro, mensurando-se os diâmetros maiores e menores de cada ovo, conforme exposto abaixo nas figuras 11A e B.

Figuras 11A e B. Medições dos ovos visualizados nas radiografias, com auxílio de paquímetro. Fonte: Leal, R. G. P. (2008). São Paulo.

4.4.1 Validação radiográfica

A fim de se estabelecer um coeficiente de correção para as mensurações obtidas a partir dos ovos completamente formados, realizou-se a validação desta técnica através da

medição comparativa com o paquímetro, da imagem radiográfica e de um objeto real, utilizando-se uma moeda de um real como referência.

4.5 Análise estatística

O cálculo das médias, desvios-padrões, erros padrões médios, mínimos e máximos foram analisados estatisticamente de maneira descritiva pelo programa StatView for Windows, versão 5.0.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 1998).

Os picos de estradiol sérico observados foram obtidos a partir da exclusão dos valores que excedessem a média total + 1,5 desvio-padrões conforme proposto por Brown, Terio e Graham (1996), enquanto que os picos de progesterona sérica foram obtidos considerando-se a mesma técnica mas a partir da média total + 2,0 desvio-padrões. Não foi necessária mais de uma etapa de exclusão de dados para a determinação destes valores de pico nas duas espécies estudadas. O critério de + 2,0 desvios-padrões foi também utilizado para a testosterona, porém já na primeira etapa nenhum valor excedeu tal limite, considerando-se portanto ausência de pico para este hormônio.

Para analisar os dados relacionados aos níveis séricos de corticosterona foi utilizado o teste t-Student e foi considerada diferença significativa quando “p” apresentou valores inferiores ou iguais a 0,05 (LITTLE e HILLS, 1978).

Para a comparação das variações de peso corporal e tamanho de ovos produzidos pelas duas espécies utilizou-se o Coeficiente de Correlação de Pearson, teste t-Student e análise de Covariância (ANCOVA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para os diversos parâmetros avaliados nos jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*) e jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*) estudados estão apresentados em Quadros numerados de 2 a 4, e as suas variações conforme o tempo de estudo estão ilustrados em gráficos correspondentes, numerados de 1 a 12, e figuras 12 a 15.

Todos os dados individuais obtidos estão apresentados nos apêndices A, B, C, D e E.

5.1 Parâmetros de qualidade dos ensaios hormonais

Os ensaios hormonais foram divididos de acordo com cada hormônio analisado. A sensibilidade mínima detectada para dosagem da progesterona sérica foi de 0,01ng/mL. O maior valor obtido no coeficiente de variação intra-ensaio baixo foi de 3,76% e para o controle intra-ensaio alto foi de 2,12%; sendo que o coeficiente de variação inter-ensaio foi inferior a 3,32% (Quadro 2).

HORMÔNIO: PROGESTERONA (Siemens)

Ensaio	CPM total	Cap Lig. B/B0	L.N.E (%)	Sensibilidade % (dose)	CV Intra Baixo	CV Intra Alto
1	33546	46%	0,48%	95,3(0,02)	2,99%	2,12%
2	33134,5	46%	0,44%	95,2(0,01)	3,76%	1,48%
CV Inter ensaio					3,32%	1,81%

Quadro 2 – Controle de qualidade obtido nos ensaios hormonais da progesterona sérica.

A sensibilidade mínima detectada para dosagem do estradiol sérico foi de 1,64pg/mL. O maior valor obtido no coeficiente de variação intra-ensaio baixo foi de 7,96% e para o controle intra-ensaio alto foi de 3,64%; sendo que o coeficiente de variação inter-ensaio foi inferior a 2,45% (Quadro 3).

HORMÔNIO: ESTRADIOL (Siemens)

	CPM	Cap Lig.	L.N.E	Sensibilidade	CV Intra	CV Intra
Ensaio	total	B/B0	(%)	% (dose)	Baixo	Alto
1	13420,8	46%	0,97%	93,3(2,43)	7,96%	3,64%
2	12479,3	45%	0,74%	94,5(1,64)	3,53%	1,15%
CV Inter ensaio					2,45%	1,41%

Quadro 3 – Controle de qualidade obtido nos ensaios hormonais do estradiol sérico.

A sensibilidade mínima detectada para dosagem da testosterona sérica foi de 1,23ng/dL. O maior valor obtido no coeficiente de variação intra-ensaio baixo foi de 5,04% e para o controle intra-ensaio alto foi de 1,62%; sendo que o coeficiente de variação inter-ensaio foi inferior a 3,64% (Quadro 4).

HORMÔNIO:TESTOSTERONA (Siemens)

	CPM	Cap Lig.	L.N.E	Sensibilidade	CV Intra	CV Intra
Ensaio	total	B/B0	(%)	% (dose)	Baixo	Alto
1	38838,8	42%	0,39%	89(1.23)	5,04%	0,37%
2	39138,8	41%	0,40%	88(2.05)	2,15%	1,62%
CV Inter ensaio					3,64%	0,98%

Quadro 4 – Controle de qualidade obtido nos ensaios hormonais da testosterona sérica

A sensibilidade mínima detectada para dosagem da corticosterona sérica foi de 2,00ng/dL. O valor obtido no coeficiente de variação intra-ensaio baixo foi de 2,66% e para o controle intra-ensaio alto foi de 0,71%.(Quadro 5).

HORMÔNIO: CORTICOSTERONA (MPB)

	CPM	Cap Lig.	L.N.E	Sensibilidade	CV Intra	CV Intra
Ensaio	total	B/B0	(%)	% (dose)	Baixo	Alto
1	24437,5	51%	1,70%	91(2,00)	2,66%	0,71%
CV Inter ensaio					2,66%	0,71%

Quadro 5 - Controle de qualidade obtido no ensaio hormonal da corticosterona sérica (MPB)

A sensibilidade mínima detectada para dosagem da corticosterona sérica foi de 10,00ng/dL. O valor obtido no coeficiente de variação intra-ensaio baixo foi de 2,80% e para o controle intra-ensaio alto foi de 0,13%.(Quadro 6).

HORMÔNIO CORTICOSTERONA (Siemens)

	CPM	Cap Lig.	L.N.E	Sensibilidade	CV Intra	CV Intra
Ensaio	total	B/B0	(%)	% (dose)	Baixo	Alto
1	30986,8	53%	0,60%	93,4(10,0)	2,80%	0,13%
CV Inter ensaio					2,80%	0,13%

Quadro 6 - Controle de qualidade obtido nos ensaios hormonais da corticosterona sérica

5.2 Avaliação das dosagens hormonais

A seguir serão apresentados os resultados relacionados à dosagem de progesterona, estradiol, testosterona e corticosterona obtidos no experimento. Vale ressaltar que os níveis de todos os hormônios dosados foram bem mais elevados nas fêmeas de *G. carbonaria* quando comparado com os níveis de *G. denticulata*.

Obs.: O sinal * sinaliza os valores de pico dos respectivos hormônios, sendo que os demais encontram-se basais considerando o critério de dois desvios-padrão acima da média.

Gráfico 1 – Concentrações séricas médias de progesterona (ng/mL) e estradiol (pg/mL) das fêmeas de *Geochelone carbonaria*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 2 – Concentrações séricas médias de testosterona (ng/dL) e respectivos erros padrões da média das fêmeas de *Geochelone carbonaria*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Conforme evidenciado no gráfico 1, a espécie *G. carbonaria* apresenta pico de progesterona no inverno (julho/2007), pelo critério de 2 desvios-padrões acima da média e pico de estradiol no início do verão (dezembro/2007), pelo critério de 1,5 desvios-padrões acima da média. Com relação à testosterona, foram verificadas oscilações ao longo do ano, mas sem qualquer evidência de formação de pico, pelo critério de 2 desvios-padrões acima da média.

Obs.: O sinal * sinaliza os valores de pico dos respectivos hormônios, sendo que os demais encontram-se basais considerando o critério de dois desvios-padrões acima da média.

Gráfico 3 – Concentrações séricas médias de progesterona (ng/mL) e estradiol (pg/mL) das fêmeas de *Geochelone denticulata*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 4 – Concentrações séricas de testosterona (ng/dL) e respectivos erros padrões da média das fêmeas de *Geochelone carbonaria*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Já a espécie *G. denticulata*, como exposto no gráfico 2, apresentou pico de progesterona no final do outono (maio/2007), pelo critério de 2 desvios-padrões acima da média e pico de estradiol no final do verão (fevereiro/2007), pelo critério de 1,5 desvios-padrões acima da média. Com relação à testosterona, foram verificadas oscilações ao longo do ano, mas sem qualquer evidência de formação de pico, pelo critério de 2 desvios-padrões acima da média.

Estes padrões de níveis séricos de progesterona e estradiol também foram evidenciados na maioria dos trabalhos consultados (CASARES, HUBEL e HONEGGER, 1997; ROSTAL et al., 1998; SCHRAMM et al., 1999; SHELBY et al., 2000; HENEN e HOFMEYER, 2003; HUOT-DAUBREMONT et al., 2003; AL-HABSI et al., 2006).

Os níveis séricos de testosterona observados em fêmeas de ambas as espécies não mostraram variações significativas ao longo do ano diferentemente do esperado obtido nos trabalhos desenvolvidos por Rostal et al. (1998) e Schramm et al. (1999) com tartarugas de Galápagos (*Geochelone nigra*) e Jessop et al. (2002) com *Chelonia mydas*, porém em concordância com o trabalho realizado por Shelby et al. (2000) com *Graptemys flavimaculata* e Huot-Daubremont et al. (2003) onde verificaram elevações de testosterona nas fêmeas no outono, mas sem alterações anuais muito evidentes, provavelmente indicando crescimento folicular nesta estação.

Gráfico 5 – Concentrações séricas de corticosterona (ng/mL) das fêmeas de *Geochelone carbonaria* e *Geochelone denticulata*, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Obs: Ocorreu diferença estatística significativa entre os animais *G. carbonaria* e *G. denticulata* ($p=0,02$), indicada por letras diferentes sobre a barra de dados apresentada neste gráfico.

Gráfico 6 – Médias anuais das concentrações séricas de corticosterona (ng/mL) das fêmeas de *Geochelone carbonaria* e *Geochelone denticulata*, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

No que diz respeito aos níveis séricos de corticosterona, estes não apresentaram variações significativas durante o ano, sendo que nenhum valor observado excedeu dois desvios padrão acima da média (gráfico 5), exceto a fêmea C15 cujo perfil apresentou um valor inicial extremamente elevado o que fez com que este animal fosse considerado individualmente (gráfico 7).

Porém, a média anual de corticosterona nas *G. denticulata* apresentou diferença estatística significativa ($p=0,02$) quando comparada com as médias das *G. carbonaria*. Esta diferença pode estar relacionada com a elevação dos níveis de corticosterona séricos no período de inverno para os animais *Geochelone denticulata* sugerindo uma possível condição de estresse associada às baixas de temperatura ambiente observadas neste período, conforme ilustra o gráfico 12. Por estes animais apresentarem distribuição geográfica mais restrita à região de florestas densas do norte do Brasil, isto sugere uma necessidade maior de umidade e temperatura para a manutenção de suas funções fisiológicas.

Possivelmente uma maior disponibilidade de áreas aquecidas no recinto da exposição da Fundação Parque Zoológico de São Paulo se faça necessária a fim de se minimizar os efeitos do estresse térmico nestes animais, o que pode vir a comprometer diretamente a eficiência reprodutiva das mesmas. Esta condição não se observa nas fêmeas da espécie *Geochelone carbonaria* por serem naturalmente mais adaptadas a regiões de temperaturas mais amenas.

Gráfico 7 – Concentrações séricas de corticosterona (ng/mL) para a fêmea C15, da espécie *Geochelone carbonaria*, mantida em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Porém quando se compararam os níveis médios de corticosterona durante o ano entre as duas espécies, observou-se que a *G. denticulata* apresentou valores superiores aos encontrados para a *G. carbonaria* ($p=0,02$), conforme gráfico 6.

Ainda em relação à corticosterona, o primeiro *kit* comercial usado para teste, já validado por ROSTAL et al. (1998) e SCHRAMM et al. (1999) para a espécie *Geochelone nigra* não mostrou nenhum valor detectável, optando-se pela técnica com o conjunto

comercial da MP Biomedicals que apesar de ainda não ter sido analiticamente validado para a espécie, revelou-se bastante promissor uma vez que permitiu a detecção de variações anuais estatisticamente significativas entre as duas espécies, o que a nosso ver, poderia ser considerado como um modo de validação biológica (influência do fator espécie).

5.3 Avaliação dos achados ultrassonográficos

Os resultados obtidos do estudo das estruturas ovarianas obtidas pelo exame ultrassonográfico para as duas espécies estudadas serão apresentados a seguir nas figuras numeradas de 12 a 15 e nos gráficos 8 e 9.

Figura 12. Ultrassonografia pela janela acústica cranial em jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*) onde se evidencia a presença de 6 folículos ovarianos.

Figura 13. Ultrassonografia pela janela acústica cranial em jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*) mantida na Fundação Parque Zoológico de São Paulo.

Figura 14. Ovo com casca fina em oviduto de *Geochelone carbonaria*. São Paulo, 2008.

Fonte: Teixeira, C. M. C. São Paulo, 2008.

Figura 15. Ultrassonografia pela janela acústica caudal evidenciando 1 ovo em oviduto em jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*), na Fundação Parque Zoológico de São Paulo.

Obs.: O sinal * sinaliza valor de pico de progesterona, os demais encontram-se basais considerando o critério de dois desvios-padrão acima da média.

Gráfico 8 - Número de folículos visualizados nas fêmeas de jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*) através de exames ultrassonográficos mensais e os níveis séricos de progesterona durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Obs.: O sinal * sinaliza valor de pico de progesterona, os demais encontram-se basais considerando o critério de dois desvios-padrão acima da média.

Gráfico 9 - Número de folículos visualizados das fêmeas de jabuti-tinga (*Geochelone denticulata*) através de exames ultrassonográficos mensais e os níveis séricos de progesterona durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Pela ultrassonografia foi possível verificar a vitelogênese nas fêmeas de *G. carbonaria* e *G. denticulata*. No entanto, devido às dimensões e capacidade do microtransdutor somente as *G. carbonaria* puderam ser examinadas com maior detalhamento. Esta técnica permitiu contar e mensurar uma pequena parte dos folículos em diferentes fases de desenvolvimento (estruturas a partir de 0,8 cm de diâmetro).

Embora fosse possível a visualização de muitas estruturas ovarianas, estas representam uma pequena parte de todas as estruturas em desenvolvimento. Desta maneira, pode-se estimar o recrutamento folicular pelo número de estruturas que podiam ser visualizadas com tamanhos semelhantes, principalmente ao se examinar a janela cranial com o transdutor posicionado logo abaixo da cabeça do animal.

Vitelos com diâmetros entre 3 e 4 cm eram ovulados pelas *G. carbonaria* enquanto que pelas *G. denticulata* eram um pouco maiores, entre 4 e 5 cm de diâmetros. Isto podia ser verificado nos ovos com casca fina, já que se visualizava a gema e a chalaza.

Para efeito de estudo de comparações entre as duas espécies, utilizou-se a classificação das estruturas foliculares em duas categorias, conforme a espécie:

G. carbonaria: < 1,99 cm – folículos em desenvolvimento

> 2 cm – folículos desenvolvidos

G. denticulata: < 2,99 cm - folículos em desenvolvimento

> 3 cm – folículos desenvolvidos

Relacionou-se o pico de progesterona com o pico de folículos em desenvolvimento. Na espécie *G. carbonaria*, este foi observado dois meses (julho/2007) antes do pico de folículos em desenvolvimento que aconteceu na primavera (setembro/2007), conforme evidenciado no gráfico 8.

Considerando a espécie *G. denticulata*, a exemplo do que acontece com a *G. carbonaria*, pode-se observar início de desenvolvimento folicular dois meses após o pico de progesterona, porém o pico de folículos em desenvolvimento só se verificou no início do verão, conforme indica o gráfico 9, sugerindo assim um certo “atraso” (ciclos incompletos durante o inverno) no desenvolvimento folicular, bem como uma aparente assincronia entre folículos em desenvolvimento e folículos desenvolvidos nesta espécie.

A partir dos dados obtidos também foi possível a verificação de picos de estrógeno nas duas espécies estudadas (gráficos 10 e 11), as duas coincidentes com as estações mais quentes do ano. A *G. carbonaria* apresentou pico no início do verão (dezembro/2008) e a *G. denticulata* no final deste (fevereiro/2008). Estes dados foram concordantes com todos os trabalhos aqui considerados (CASARES, HUBEL e HONEGGER, 1997; ROSTAL et al., 1998; SCHRAMM et al., 1999; SHELBY et al., 2000; HENEN e HOFMEYER, 2003; HUOT-DAUBREMONT et al., 2003; AL-HABSI et al., 2006), conforme evidenciado nos gráficos 10 e 11.

Obs.: O sinal * sinaliza valor de pico de estradiol, os demais encontram-se basais considerando o critério de dois desvios-padrão acima da média.

Gráfico 10 - Número de folículos visualizados nas fêmeas de jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*) através de exames ultrassonográficos mensais e os níveis séricos de estradiol durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Obs.: O sinal * sinaliza valor de pico de estradiol, os demais encontram-se basais considerando o critério de dois desvios-padrão acima da média.

Gráfico 11 - Número de folículos visualizados nas fêmeas de jabuti-tinga (*Geochelone denticulata*) através de exames ultrassonográficos mensais e os níveis séricos de estradiol durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

5.4 Avaliações dos achados radiográficos

Os dados relativos aos achados radiográficos estão dispostos no quadro 7.

Meses do experimento													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
C1	6	5							4	4	3	3	
C3	1										2	2	
C8	4	5		5			4	5	5	5	5	6	4
C9	6	5						4		3	3	3	3
C10	8	6	6	6	5	4	2	2	2	7	7	5	
C15	5	6	4	2	1				3	3	3	3	4
C16	5	5	5	5	5	4	3	3	3	6	3	5	5
D6	6		7	7		6	6	6	6	6	6		
D11	6	6	6	6	6	5	2						
D12			4										
D22			4	4	4	4	4						
D24													

Quadro 7 – Dinâmica da população de ovos dos jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*) e jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*) acompanhados durante o experimento. Em cinza estão representados os períodos nos quais se verificaram ovos pelo exame radiográfico, onde os números representam a quantidade de ovos encontrados pelas imagens radiográficas realizadas mensalmente por 13 meses.

O número dos ovos formados variou conforme a espécie, sendo observadas posturas que aconteciam a partir de 1 a 5 ovos nos *Geochelone carbonaria* (embora com a formação de até 8 ovos em oviduto) e de 2 a 7 ovos nos *Geochelone denticulata* (com até 7 ovos nos

ovidutos), conforme evidenciado no quadro 5. Não foi possível estabelecer se o exame ultrassonográfico induziu a postura em alguns animais, já que a maioria aceitava tranqüilamente o exame após 2 ou 3 tentativas (quadro 5).

As fêmeas de *G. carbonaria* se mostraram mais eficientes na produção de ovos que as *G. denticulata* nas condições de criação da Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Os diâmetros dos ovos das *G. carbonaria* e *G. denticulata* variaram, respectivamente, entre 4,05 e 5,7 cm ($4,60 \pm 0,19$ cm) e entre 4,5 e 6,3 cm ($5,29 \pm 1,6$ cm).

5.5 Avaliação das variações de peso corporal

Os resultados obtidos da pesagem dos animais do estudo estão apresentados nos quadros 8 e 9.

Meses	Animais						
	C1	C3	C8	C9	C10	C15	C16
Abr/07	7,50	5,09	6,20	5,55	6,05	2,85	4,35
Mai/07	7,25	4,95	6,10	5,50	5,70	2,80	4,25
Jun/07	7,35	5,05	5,90	5,40	5,75	2,75	4,30
Jul/07	6,95	4,95	5,70	5,25	5,45	2,65	4,15
Ago/07	7,05	4,95	5,85	5,30	5,60	2,75	4,30
Set/07	7,20	5,35	6,15	5,40	5,80	2,75	4,30
Out/07	7,30	5,35	6,35	5,40	5,55	3,00	4,45
Nov/07	7,30	5,55	6,25	5,50	5,50	2,90	4,40
Dez/07	7,25	5,15	6,20	5,30	5,40	2,90	4,40
Jan/08	7,15	5,15	6,25	5,30	5,40	2,90	4,50
Fev/08	7,30	5,15	6,20	5,50	5,35	2,90	4,35
Mar/08	7,45	5,25	6,25	5,50	5,25	2,90	4,25
Abr/08	7,40	5,00	6,20	5,65	5,30	2,95	4,40

Quadro 8 - Pesos das fêmeas de jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*) expressos em quilogramas (kg) e avaliados durante o experimento.

Meses	Animais				
	D6	D11	D12	D22	D24
Abr/07	10,40	19,45	7,35	16,05	25,95
Mai/07	10,90	19,50	7,70	16,55	26,00
Jun/07	10,55	19,35	7,80	16,15	25,45
Jul/07	10,85	19,50	7,60	16,45	25,45
Ago/07	10,30	19,35	7,30	15,95	26,05
Set/07	10,80	20,45	7,70	16,15	26,45
Out/07	10,45	19,50	7,65	15,85	26,00
Nov/07	10,45	18,30	7,55	15,15	26,15
Dez/07	10,55	17,90	7,65	15,45	26,00
Jan/08	10,50	17,70	7,40	15,35	23,60
Fev/08	10,50	17,15	7,55	16,25	26,15
Mar/08	10,25	17,80	7,55	15,85	25,95
Abr/08	10,25	18,00	7,65	16,20	25,80

Quadro 9 – Pesos das fêmeas de jabuti-tinga (*Geochelone denticulata*) expressos em quilogramas (kg) e avaliados durante o experimento.

Durante o acompanhamento anual dos animais não pudemos verificar qualquer alteração significativa do peso corporal, conforme exposto nos quadros 6 e 7.

Mesmo ocorrendo a postura de ovos relativamente grandes não foi possível verificar diminuição do peso. Mas verificamos que na maioria das fêmeas houve um mecanismo de adaptação à perda de peso pela postura compensado pelo aumento da ingestão de alimentos, isto verificado através do exame ultrassonográfico de acompanhamento mensal onde era evidente a quantidade de ingesta no estômago e em alças intestinais. Algumas fêmeas apresentavam um aumento do número de folículos em desenvolvimento.

A fim de se buscar relações entre o peso do animal e tamanho dos ovos, algumas outras análises foram realizadas. Ao se calcularem os coeficientes de correlação de Pearson (“r”) para as variáveis tamanho médio do ovo (TMO = diâmetro médio em cm) em função do peso médio do animal (PMA = peso médio em kg) de acordo com as espécies estudadas, obtiveram-se os seguintes resultados: para a espécie *G. carbonaria*, $r = -0,23$ ($p = 0,47$); e para a espécie *G. denticulata*, $r = 0,62$ ($p = 0,03$), ou seja, uma correlação estatisticamente significativa de média intensidade para a espécie *G. denticulata* e uma correlação, embora não significativa, atingindo um valor negativo de baixa intensidade para a espécie *G. carbonaria*.

Explorando-se estes resultados de outra forma, observou-se que o tamanho médio absoluto (TMA) dos ovos das duas espécies apresentou diferença significativa ($p < 0,0001$), sendo maior para espécie *G. denticulata* (5,73 cm) do que para a espécie *G. carbonaria* (4,56

cm). Entretanto, quando comparados de maneira relativa, ou seja, por meio de uma análise de covariância (ANCOVA), tendo como covariável o peso dos animais, tal diferença deixa de existir ($p = 0,18$ para interação espécie X peso), sugerindo assim uma ausência de proporcionalidade entre os ovos das duas espécies.

De fato, admitindo-se que o peso médio dos animais reflita ainda que de modo parcial o tamanho médio de suas estruturas corpóreas, então teríamos que a um PMA de 5,24 kg, observado para a espécie *G. carbonaria*; comparado a um PMA de 15,73 kg, obtido para a espécie *G. denticulata*, corresponderia um TMO teórico de 1,91 cm, frente ao valor real medido de 4,56 cm, ou seja, cerca de 2,4 vezes maior do que seria proporcionalmente esperado. Vale ressaltar que o peso *per se*, não é em geral a medida mais adequada a este tipo de comparação, porém mesmo assim, chama atenção a magnitude da desproporcionalidade ora em questão.

Esta diferença marcada entre as duas espécies se reflete na clínica, já que mais frequentemente chegam na clínica de silvestres fêmeas com retenção de ovos da espécie *G. carbonaria*, mantidos em condições inadequadas de manejo alimentar (osteodistrofias ou deficiência de proteína) ou que estejam sendo mantidos em piso que impeça o comportamento de cavar do animal para a realização da postura.

5.6 Avaliação das variações da temperatura ambiente

Gráfico 12. Temperatura ambiente absoluta mínima, máxima e média durante os meses da pesquisa, conforme dados fornecidos pelo Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas – Ciiagro. São Paulo, 2008.

As variações de temperatura ao longo do período de abril de 2007 a abril de 2008 em São Paulo não apresentaram qualquer pico (considerando-se o critério de dois desvio padrões acima da média) e pode-se observar temperaturas médias que variaram de 17,3 (julho/2007) a 24 ° C (dezembro/2007) (quadro 12).

5.7 Comentários gerais

Durante a execução deste projeto de pesquisa, várias foram as dificuldades que surgiram, muitas delas devido a relativa escassez de informações na literatura. Entretanto, na tentativa de resolvê-las, poderíamos elencar alguns comentários interessantes. Não foi possível, por exemplo, padronizar a via de acesso venosa. Houve grande variação entre as vias de acesso para colheita sendo a jugular melhor aceita pelos jabutis-piranga e para os jabutis-tinga a melhor foi pelo plexo braquial. A colheita realizada pela veia da cauda se mostrou a mais dolorida para os animais. No que tange à realização das radiografias, não foi necessária qualquer contenção destes animais a não ser pela manutenção da sala de radiologia com as luzes apagadas logo após o correto posicionamento do animal sobre o chassi. A radiologia permitiu sobretudo a visualização dos ovos formados, desde o início da deposição de cálcio. A melhor maneira de contenção para a colheita de sangue e realização da ultrassonografia foi sobre suporte que impedisse que os animais em estudo encostassem as patas na mesa de procedimentos. Ainda quanto à realização do ultrassom, este se mostrou bastante eficiente para a verificação dos órgãos (coração, fígado, estômago, alças intestinais, rins, bexiga) assim como a verificação de estruturas ovarianas, vitelo e ovos em oviduto. Os ovos que estavam recentemente formados, ou seja, com pequena deposição de cálcio na casca, puderam ter a chalaza e gema perfeitamente visualizadas durante o exame ultrassonográfico através da região inguinal direita e esquerda. Em raras exceções podiam ser visualizados caudalmente ao fígado, durante o exame pela janela cranial. Finalmente, gostaríamos de destacar que os animais se permitiram examinar facilmente pelo ultrassom após a segunda ou terceira manipulação, desde que fosse respeitado o tempo de relaxamento de cada indivíduo sem forçá-lo com tração das patas e/ou cabeça. Eles gentilmente permitiam o exame, assim que fossem “acariciados” sobre a carapaça, o que causava visualmente um leve incômodo no animal, semelhante a “cócegas”.

6 CONCLUSÕES

Considerando-se as atividades desenvolvidas durante o período de observação, foi possível concluir que:

1) a maioria dos animais avaliados no Zoológico de São Paulo, de março/2007 até abril/2008, não apresentou uma estação reprodutiva definida conforme a estação do ano, pluviosidade ou alterações de temperatura ambiente. A maioria das fêmeas estudadas realizou postura em fases de curto período, enquanto que outras, retiveram seus ovos mesmo mantidas no mesmo recinto e nas mesmas condições de manejo ou condições climáticas.

Embora realizando postura, as fêmeas de ambas as espécies não mostraram qualquer alteração de peso ao longo do ano.

2) pela radiografia seriada foi possível acompanhar a deposição de cálcio na casca dos ovos, postura e novo preparo de ovos para a postura seguinte, bem como quantificar os ovos e mensurá-los, comparando as duas espécies. As fêmeas de *G. carbonaria*, embora bem menores em tamanho e peso que as *G. denticulata*, apresentaram ovos 2,4 vezes maiores proporcionalmente ao peso corporal quando comparados às mesmas.

3) pela ultrassonografia foi possível identificar folículos ovarianos de tamanhos diversos evidenciando a ciclicidade do processo reprodutivo nestas espécies. Foi também possível evidenciar tanto folículos em desenvolvimento (principalmente pelas janelas acústicas cranial) quanto vitelos e ovos no oviduto (em ambas as janelas acústicas direita e esquerda caudais). Devido à pequena possibilidade de movimentação do transdutor pelas janelas acústicas caudais, não foi possível a visualização da totalidade dos ovos ou vitelos em oviduto. Neste caso, o estudo radiográfico se mostrou mais eficiente.

4) não foram verificadas alterações significativas nos perfis séricos longitudinais de testosterona e corticosterona ao longo do ano em nenhuma das espécies estudadas.

5) observou-se diferença estatisticamente significativa entre as médias anuais da corticosterona sérica das duas espécies, tendo sido mais elevado para as *G. denticulata*.

6) observou-se um pico de progesterona sérica no mês de julho seguido de um pico de folículos em desenvolvimento dois meses após para a espécie *G. carbonária*; e no mês de maio para a espécie *G. denticulata*, porém para esta última com pico significativo de folículos em desenvolvimento apenas nos meses de janeiro e fevereiro subsequentes.

7) observou-se um pico de estrógenos séricos em ambas as espécies durante a estação de verão; no caso das *G. denticulata*, coincidentemente com o pico de folículos em desenvolvimento.

REFERÊNCIA

- AL-HABSI, A. A.; ALKINDI, A. Y. A.; MAHMOUD, I. Y.; OWENS, D. W.; KHAN, T.; AL-ABRI, A. Plasma hormone levels in the green turtles *Chelonia mydas* during peak period of nesting at Ras Al-Hadd-Oman. **Journal of Endocrinology**, v. 191, p. 9–14, 2006.
- BAROUDI, R. **Elementos da zoologia**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1970. p. 125-152.
- BARROS, A. **Zoologia**. 16. ed. São Paulo: Nobel, 1971. v. 2, p. 361-370.
- BETKOWSKI, S. E. **Estudo dos níveis de progesterona e estradiol séricos e acompanhamento das características ultrassonográficas de ovário e oviduto de cascavéis (*Crotalus durissus terrificus*) mantidas em cativeiro, em um período de 12 meses**. 2006. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.
- BOYER, T. H.; BOYER, D. M. Turtles, tortoises and terrapins. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999. p. 61–78.
- BROWN, J. L.; TERIO, K. A.; GRAHAM, L. H. Fecal androgen metabolite analysis for non invasive monitoring of testicular steroidogenic activity in felids. **Zoo Biology**, v.15, p. 424-34, 1996.
- BURKE, V. J.; FRAZER, N. B.; GIBBONS, J. W. Conservation of the turtles: the chelonian dilemma. In: ANNUAL SYMPOSIUM ON SEA TURTLE BIOLOGY AND CONSERVATION, 13., 1993, Jekyll Island. Proceedings... Jekyll Island: Department of Commerce. National Oceanic and Atmospheric Administration, 1993.
- CARVALHO, R. C. Aspectos morfológicos da medula espinal do jabuti de "patas vermelhas" *Geochelone carbonaria* (Spix, 1824). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 31., 2004b, São Luis. [Anais...] São Luis. 2004.
- CARVALHO, R. C. Morfologia do pênis de jabutis-de-patas-vermelhas (*Geochelone carbonaria* SPIX, 1824). **Revista Brasileira de Reprodução Animal Belo Horizonte**, v. 27, n. 2, p. 229-230, abr./jun., 2003a.
- CARVALHO, R. C. **Topografia vértebro-medular e anestesia espinhal em jabuti das “patas vermelhas” *Geochelone carbonaria* (SPIX, 1824)**. 2004. 126 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004a.
- CASARES, M; RUBEL, A.; HONEGGER, R. E. Observations on the female reproductive cycle of captive giant tortoises (*Geochelone spp.*) using ultrasound scanning. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 28, n. 3, 1997. p. 267-73.

CASH, W B; HOLBERTON, R L & KNIGHT, S S Corticosterone secretion in response to capture and handling in free-living red-eared slider turtles. **General and Comparative Endocrinology**, 408, 427-433, 1997

COUTINHO, J. M. S. Sur les tortues de l'Amazone. **Bulletin de la Société Imperiale Zoologique d'Acclimatation**, v. 5, n. 2, 1868. p. 147-166.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens – medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006.

FARIA, T. N. **Descrição da origem, trajeto e número das principais artérias do jabuti (*Geochelone carbonaria* Spix, 1824)**. 2000. 42 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000a.

FARIA, N. T. Irrigação dos órgãos celomáticos do jabuti (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824). In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA VETERINÁRIA-SBMV, 2000, Águas de Lindóia. **Resumos...**, 2000b. p. 2.

FARIA, T. N. Origens e ramificações das artérias aortas esquerda e dorsal do jabuti (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 155-159, 2001c.

FARIA, T. N. **Topografia e morfologia do sistema urinário de jabuti "*Geochelone carbonaria*" (SPIX, 1824)**. 2003. 86 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

FERNANDES, V. **Zoologia**. 7. ed. São Paulo: Pedagógica e universitária, 1981.

FRANCISCO, L. R. **Répteis do Brasil: manutenção em cativeiro**. São José dos Pinhais: Amaro, 1997. 208 p.

FRYE, F. L. Reproduction in reptiles. In: FRYE, F. L. **Reptile care: an atlas of diseases and treatments**. Neptune city: T.F.H. Publications, 1991, v. 2, p. 345-389.

GANS, C.; CREWS, D. (Ed.) **Hormones, brain and behavior: biology of the reptilia**, Chicago: University of Chicago Press. 1992. V, 18, 564 p.

GIBBONS, J. W. Reproductive patterns of reptiles and amphibians: considerations for captive breeding and conservation. In: Murphy, J. B.; Adler, K. e Collins, J. T. **Captive management and conservation of amphibians and reptiles**. Society for the Study of Amphibians and Reptiles: Ithaca. 1994, v. 2, p. 119-123.

GREGORY, L. F. GROSS, T. S.; BOLTEN, A. B.; BJORNDAL, K. A.; GUILLETTE JR., L. J. Plasma Corticosterone Concentrations Associated with Acute Captivity Stress in Wild Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 104, p. 312–320, 1996.

R GREGORY, L. F.; SCHMIDT, J. Stress Responses and Sexing of Wild Kemp's Ridley Sea Turtles (*Lepidochelys kempii*) in the Northeastern Gulf of Mexico. **General and Comparative Endocrinology**, v. 124, p. 66–74, 2001.

HENEN, B. T.; HOFMEYER, M. D. Viewing chelonian reproductive ecology through acoustic windows: cranial and inguinal perspectives. **Journal of Experimental Zoology**, v. 297A, n. 1, p. 88-104, 2003.

HUOT-DAUBREMONT, C.; BRADSHAW, S. D.; BRADSHAW, F. J.; KUCHLING, G.; GRENOT, C. J. Variation of plasma sex steroids concentrations in wild and captive populations of Hermann's tortoise (*Testudo hermanni hermanni*) in Southern France. **General and Comparative endocrinology**, v. 130, p. 299-307, 2003.

JANEIRO-CINQUINI, T. R. F. Variação anual do sistema reprodutor de fêmeas de *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae). Iheringia, **Série de Zoologie**, v. 94, nº 3. Porto Alegre, 2004.

JESSOP, T. S.; HAMANN, M.; READ, M. A.; LIMPUS, C. J. Evidence for a Hormonal Tactic Maximizing Green Turtle Reproduction in Response to a Pervasive Ecological Stressor. **General and Comparative Endocrinology**, v. 118, p. 407-417, 2000.

KIK, M. J. L. Ultrasonographic diagnosis of pregnancy in some species of reptiles. In: EUROPEAN ASSOCIATION OF ZOO AND WILDLIFE VETERINARIANS (EAZWV); SCIENTIFIC MEETING AND THE EUROPEAN WILDLIFE DISEASE ASSOCIATION (EWDA); 4., 2002, Heidelberg [Proceedings...] 2002. v. 8, n. 12, 2002.

KUCHLING, G. Assessment of ovarian follicles and oviductal eggs by ultrassound scanning in live freshwater turtles. *Chelodina oblonga*. **Herpetologica**, v. 45, p. 89-94, 1989.

LITTLE, T M; HILLS, F J **Agricultural experimentation: Design and Analysis**. New York: John Wiley & Sons, 1978. 350 p.

MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders, 2006. 1242 p.

MARIANA, A. N. B. Irrigação arterial da glândula tireóide do jabuti *Geochelone denticulata*. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANATOMIA, 2002, São Paulo. **Resumo...** 2002, p.80.

MAUTINO, M.; PAGE, C. D. Biology and medicine of turtles and tortoises. **Veterinary Clinics of North America: Small animal practice**, v. 23, n. 6, 1993. p. 1251-1270.

MOLL, E. O. Reproductive cycles and adaptation. In: HARLESS, M.; MORLOCK, H. (Eds.) **Turtles perspectives and research**. New York: John Wiley & Sons, 1979.

MOORE, I. T.; JESSOP, T. S. Stress, reproduction and adrenocortical modulation in amphibians and reptiles. **Hormones and Behavior**, v. 43, p. 39-47, 2003.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 67-74, 2002.

O'MALLEY, B. **Clinical Anatomy and physiology of exotic species – structure and function of mammals, birds, reptiles, and amphibians**. Edinburg: Elsevier Saunders, 2005.

ORR, R. T. **Biologia dos vertebrados**. 5. ed. São Paulo: Roca, 1986. 505 p.

PIMENTA, D. C. F.; LOPEZ, R. P. G. Venopunção em jabutis (*Geochelone sp*): uma nova opção. In: ANAIS DO CONGRESSO “TODOS PELA CONSERVAÇÃO”, 1.; CONGRESSO DA SOCIEDADE DE ZOOLOGICOS DO BRASIL, 31.; CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE PARQUES ZOOLOGICOS Y ACUÁRIOS, 14.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 16, 2007, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: ALPZA, SZB, ABRASAS, 2007.

PIZZUTTO, C. S. Anatomia radiográfica e determinação do tempo do trânsito gastrointestinal em jabuti (*Geochelone carbonaria*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., CONGRESSO PAULISTA DE VETERINÁRIA, 5.; CONFERÊNCIA ANUAL DA SPMV, 55.; EXPOVET, 6. 2000, Águas de Lindóia. **Resumos...**, n. 9. Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2000. p. 4.

POUGH, F. H. **Herpetology**. New Jersey: Prentice Hall, 1997. p. 75.

POUGH, F. H.; HEISER, B.; MCFARLAND, W. N. **A vida dos vertebrados**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 356-384.

PRITCHARD, P. C. H. **Encyclopedia of turtles**. New Jersey: TFH Publications, 1979. p. 326-330.

ROSTAL, D. C.; ROBECK, T. R.; OWENS, D. W.; KRAEMER, D. C. Ultrasound imaging of ovaries and eggs in Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 21, n. 1, p. 27-35, 1990.

ROSTAL, D. C.; ROBECK, T. R.; GRUMBIES, J. S.; BURCHFIELD, P. M.; OWENS, D. W. Seasonal reproductive cycle of the Galápagos tortoise (*Geochelone nigra*) in captivity. **Zoo biology**, v. 17, n. 6, 1998. p. 505-517.

RUBEL, Z. A., ISENDUGEL, E., WOLZEKAMP, E. **Atlas of Diagnostic Radiology of Exotics Animals**, Hannover: W. B. Saunders, 1991.

SCHRAMM, B. G.; CASARES, M.; LANCE, V. A. Steroid levels and reproductive cycle of the Galápagos Tortoise, *Geochelone nigra*, living under seminatural conditions on Santa Cruz Island (Galápagos). **General and Comparative Endocrinology**, v. 114, p. 108-120, 1999.

SHELBY, J. A.; MENDONÇA, M. T.; HORNE, B. D.; SEIGEL, R. A. Seasonal variation in reproductive steroids of male and female yellow-blotched map turtles, *Graptemys flavimaculata*. **General and comparative endocrinology**, v. 119, p.43-51, 2000.

SILVERMAN, S.; JANSSEN, D. L. Diagnostic Imaging. In: MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders, 1999. p. 258-264.

STORER, T. I.; USINGER, R. L.; STEBBINS, R. C.; NYBAKKEN, J. W. **Zoologia geral**. 6. ed. São Paulo: Companhia Editora nacional, 2000. v. 8, p. 642-654.

VANZOLINI, P. E. A note on the reproduction of the *Geochelone carbonaria* e *G. denticulata* (Testudinae, Testudinidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, n. 4, p. 593-608, 1999.

VILLEE, C. A.; WALKER JÚNIOR, W. F.; BARNERS, R. D. **Zoologia geral**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. p. 547-557.

WAPPEL, S. M.; SCHULTE, M. S. Turtle care and husbandry. **Veterinary Clinics of Exotics Animals**, v. 7, p. 447-472, 2004.

WINGFIELD, J. C.; RAMENOFISKY, M. Hormones and the behavioral ecology of stress. In: BALM, P. H. M. (Ed.). **Stress physiology in animals**. Sheffield: Sheffield Academic Press, 1999. p. 1-51.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, Portaria n.º 332, de 13 de março de 1990. 1990. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>>. Acesso em: 01/02/2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, Répteis Ameaçados de Extinção no Brasil: Compilação das Listas Internacionais, Nacionais e Regionais de Espécies Ameaçadas. 2001. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>>. Acesso em: 01/02/2009.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Dados individuais dos ovos mensurados pelo estudo radiográfico

✓ Fêmeas *Geochelone carbonaria*

Nota 1 - Valores dos diâmetros maiores ($>\emptyset$) e menores dos ovos ($<\emptyset$), obtidos com auxílio de paquímetro e expressos em centímetros (cm), durante o exame radiográfico de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*).

Animal C1				
Meses	No. ovos	$>\emptyset$ (cm)	$<\emptyset$ (cm)	$\emptyset$ médio (cm)
Abr/07	6	5,18	5,70	5,44
		4,88	5,27	5,08
		5,57	5,24	5,41
		4,90	5,56	5,23
		4,94	5,58	5,26
		5,00	4,98	4,99
Mai/07	6	5,18	5,70	5,44
		4,88	5,27	5,08
		5,57	5,24	5,41
		4,90	5,56	5,23
		4,94	5,58	5,26
		5,00	4,98	4,99
Jun/07	5	4,76	5,02	4,89
		4,98	5,63	5,31
		5,52	4,96	5,24
		4,96	5,55	5,26
		4,80	5,46	5,13
Jul/07	0			
Ago/07	0			
Set/07	0			
Out/07	0			
Nov/07	0			
Dez/07	0			
Jan/08	4	5,69	5,36	5,53
		5,43	4,77	5,10
		5,54	5,02	5,28
		5,84	4,70	5,27
Fev/08	4	5,90	4,75	5,33
		5,71	5,02	5,37
		5,30	4,73	5,02
		5,55	5,10	5,33
Mar/08	3	4,42	4,07	4,25
		4,90	4,34	4,62
		4,70	4,34	4,52
Abr/08	3	5,58	4,73	5,16

		5,87	5,06	5,47
		5,62	4,73	5,18

Animal C3				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	1	4,25	4,29	4,27
Mai/07	0			
Jun/07	0			
Jul/07	0			
Ago/07	0			
Set/07	0			
Out/07	0			
Nov/07	0			
Dez/07	0			
Jan/08	0			
Fev/08	2	4,16	4,04	4,10
		4,25	4,20	4,23
Mar/08	2	4,30	4,29	4,30
		4,32	4,04	4,18
Abr/08	0			

Animal C8				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	4	4,94	4,14	4,54
		4,26	4,21	4,24
		4,51	4,77	4,64
		4,75	4,61	4,68
Mai/07	5	4,50	4,55	4,53
		4,82	4,58	4,70
		4,60	4,87	4,74
		4,60	4,50	4,55
		4,54	4,38	4,46
Jun/07	0			
Jul/07	5	4,85	4,85	4,85
		4,43	4,39	4,41
		4,52	4,68	4,60
		5,06	4,38	4,72
		4,66	4,50	4,58
Ago/07	0			
Set/07	0			
Out/07	4	4,85	4,46	4,66
		4,69	4,42	4,56

		5,04	4,26	4,65
		4,54	4,53	4,54
Nov/07	5	4,87	4,65	4,76
		4,89	4,38	4,64
		4,83	4,57	4,70
		4,70	4,51	4,61
		2,20	2,20	2,20
Dez/07	5	5,37	4,70	5,04
		4,94	4,75	4,85
		5,15	5,06	5,11
		4,73	4,59	4,66
		5,00	4,59	4,80
Jan/08	5	5,43	4,68	5,06
		5,38	4,73	5,06
		5,12	4,53	4,83
		5,15	4,59	4,87
		5,19	5,00	5,10
Fev/08	5	4,82	4,73	4,78
		4,83	4,80	4,82
		4,88	4,55	4,72
		4,70	4,41	4,56
		4,89	4,89	4,89
Mar/08	6	4,84	4,72	4,78
		4,69	4,42	4,56
		4,55	4,35	4,45
		4,57	4,50	4,54
		4,89	4,52	4,71
		4,86	4,50	4,68
Abr/08	4	5,00	4,75	4,88
		5,05	4,47	4,76
		4,75	4,43	4,59
		4,85	4,62	4,74

Animal C9				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	6	4,57	5,16	4,87
		4,80	5,14	4,97
		4,80	5,07	4,94
		4,90	5,43	5,17
		4,57	4,89	4,73
		5,00	5,35	5,18
Mai/07	5	4,84	4,37	4,61

		4,72	5,38	5,05
		4,62	5,18	4,90
		5,35	4,80	5,08
		4,80	5,68	5,24
Jun/07	0			
Jul/07	0			
Ago/07	0			
Set/07	0			
Out/07	0			
Nov/07	4	5,36	4,86	5,11
		5,24	4,99	5,12
		5,17	5,16	5,17
		5,13	4,84	4,99
Dez/07	0			
Jan/08	3	5,07	4,86	4,97
		5,05	4,80	4,93
		5,08	4,79	4,94
Fev/08	3	5,23	4,89	5,06
		5,15	4,89	5,02
		5,10	4,87	4,99
Mar/08	3	5,64	5,00	5,32
		5,30	4,77	5,04
		7,91	5,15	6,53
Abr/08	3	7,96	5,20	6,58
		5,14	4,84	4,99
		5,97	5,54	5,76

Animal C10				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	8	4,17	4,17	4,17
		3,85	4,47	4,16
		4,40	4,60	4,50
		4,16	4,50	4,33
		4,38	4,20	4,29
		3,98	4,50	4,24
		4,30	4,22	4,26
		4,28	4,35	4,32
Mai/07	6	4,22	4,36	4,29
		4,15	4,52	4,34
		4,30	3,96	4,13
		4,45	4,45	4,45
		4,06	4,37	4,22

		4,74	4,16	4,45
Jun/07	6	4,90	4,26	4,58
		4,48	4,13	4,31
		4,40	4,06	4,23
		4,20	4,33	4,27
		4,22	4,43	4,33
		4,43	4,43	4,43
Jul/07	6	4,19	4,41	4,30
		4,45	4,38	4,42
		4,12	4,30	4,21
		4,05	4,32	4,19
		4,28	4,17	4,23
		4,16	4,92	4,54
Ago/07	5	4,20	4,48	4,34
		4,12	4,46	4,29
		4,09	4,42	4,26
		4,34	4,35	4,35
		3,99	4,26	4,13
Set/07	4	4,40	4,14	4,27
		4,32	4,07	4,20
		4,04	4,38	4,21
		4,26	4,52	4,39
Out/07	2	4,11	4,02	4,07
		4,30	4,94	4,62
Nov/07	2	4,16	4,13	4,15
		4,33	4,14	4,24
Dez/07	2	4,38	4,08	4,23
		4,27	4,26	4,27
Jan/08	7	4,25	3,92	4,09
		4,80	3,89	4,35
		4,30	4,27	4,29
		4,44	4,41	4,43
		4,39	4,05	4,22
		4,75	4,23	4,49
		4,24	4,09	4,17
Fev/08	7	4,14	4,14	4,14
		4,21	4,04	4,13
		4,81	4,01	4,41
		4,46	4,23	4,35
		4,44	3,85	4,15
		4,30	3,96	4,13
		4,45	4,20	4,33
Mar/08	5	4,26	4,20	4,23

		4,43	4,30	4,37
		4,82	3,86	4,34
		4,71	3,96	4,34
		4,58	4,36	4,47
Abr/08	0			

Animal C15				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	5	4,26	4,32	4,29
		4,14	4,40	4,27
		4,64	4,64	4,64
		4,32	4,26	4,29
		4,44	4,35	4,40
Mai/07	6	4,99	4,29	4,64
		4,47	4,00	4,24
		4,49	5,29	4,89
		4,99	4,37	4,68
		4,17	5,29	4,73
		4,15	5,04	4,60
Jun/07	4	4,99	4,29	4,64
		4,47	4,00	4,24
		4,99	4,37	4,68
		4,15	5,04	4,60
Jul/07	2	5,19	4,47	4,83
		5,55	4,00	4,78
Ago/07	1	4,39	5,56	4,98
Set/07	0			
Out/07	0			
Nov/07	0			
Dez/07	3	4,74	4,39	4,57
		4,94	4,28	4,61
		4,72	4,09	4,41
Jan/08	3	4,42	4,07	4,25
		4,90	4,34	4,62
		4,70	4,34	4,52
Fev/08	3	4,74	4,42	4,58
		4,76	4,05	4,41
		4,35	4,13	4,24
Mar/08	3	4,76	4,39	4,58
		4,88	4,07	4,48
		4,72	4,03	4,38
Abr/08	4	4,75	4,38	4,57

		5,30	4,56	4,93
		4,96	4,25	4,61
		4,65	4,06	4,36

Animal C16				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	5	4,20	4,29	4,25
		4,24	4,34	4,29
		4,49	4,40	4,45
		4,65	4,48	4,57
		4,13	4,32	4,23
Mai/07	5	4,30	4,20	4,25
		4,40	4,20	4,30
		4,47	4,65	4,56
		4,37	4,50	4,44
		4,24	4,30	4,27
Jun/07	5	4,20	4,18	4,19
		4,34	4,43	4,39
		4,54	4,54	4,54
		4,40	4,46	4,43
		4,47	4,26	4,37
Jul/07	5	4,20	4,18	4,19
		4,34	4,43	4,39
		4,54	4,54	4,54
		4,40	4,46	4,43
		4,47	4,26	4,37
Ago/07	5	4,24	4,48	4,36
		4,43	4,24	4,34
		4,36	4,55	4,46
		4,31	4,48	4,40
		4,33	4,16	4,25
Set/07	4	4,16	4,35	4,26
		4,34	4,42	4,38
		4,28	4,42	4,35
		4,33	4,42	4,38
Out/07	3	4,32	4,29	4,31
		4,44	4,43	4,44
		4,29	4,24	4,27
Nov/07	3	4,49	4,15	4,32
		4,49	4,43	4,46
		4,42	4,28	4,35
Dez/07	3	4,46	4,28	4,37

		4,48	4,40	4,44
		4,39	4,27	4,33
Jan/08	6	4,49	4,25	4,37
		4,62	4,35	4,49
		4,56	4,53	4,55
		4,53	4,30	4,42
		4,55	4,20	4,38
		4,35	4,35	4,35
Fev/08	3	4,45	4,40	4,43
		4,94	4,33	4,64
		4,50	4,50	4,50
Mar/08	5	4,44	4,34	4,39
		4,80	4,52	4,66
		4,43	4,43	4,43
		4,86	4,64	4,75
		4,89	4,16	4,53
Abr/08	5	4,46	4,43	4,45
		4,76	4,46	4,61
		4,40	4,45	4,43
		4,87	4,69	4,78
		4,83	4,27	4,55

✓ Fêmeas *Geochelone denticulata*

Nota 2 - Valores dos diâmetros dos ovos ($\emptyset$), maiores ($>\emptyset$) e menores ($<\emptyset$), obtidos com auxílio de paquímetro e expressos em centímetros (cm), durante o exame radiográfico de jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*)

Animal D6				
Meses	No. ovos	$>\emptyset$ (cm)	$<\emptyset$ (cm)	$\emptyset$ médio (cm)
Abr/07	6	5,47	5,64	5,56
		5,42	5,35	5,39
		5,32	5,31	5,32
		5,48	5,33	5,41
		5,27	5,18	5,23
		5,30	5,20	5,25
Mai/07	0			
Jun/07	7	5,32	5,45	5,39
		5,75	5,75	5,75
		6,00	5,69	5,85
		5,57	5,57	5,57
		5,57	5,58	5,58
		5,35	5,69	5,52
		5,70	5,80	5,75

Jul/07	7	5,68	5,64	5,66
		5,45	5,38	5,42
		5,50	5,65	5,58
		5,55	5,82	5,69
		5,59	5,67	5,63
		5,65	5,47	5,56
		5,61	5,45	5,53
Ago/07	0			
Set/07	6	5,32	5,27	5,30
		5,19	5,19	5,19
		5,55	5,50	5,53
		5,60	5,55	5,58
		5,67	5,94	5,81
		5,62	5,62	5,62
Out/07	6	5,94	5,86	5,90
		5,62	5,51	5,57
		5,72	5,72	5,72
		5,38	5,68	5,53
		5,30	5,28	5,29
		5,57	5,50	5,54
Nov/07	6	5,75	5,45	5,60
		6,06	5,83	5,95
		5,75	5,62	5,69
		5,77	5,70	5,74
		5,31	5,06	5,19
		5,47	5,36	5,42
Dez/07	6	5,45	5,44	5,45
		5,24	5,13	5,19
		5,70	5,54	5,62
		5,60	5,35	5,48
		5,86	5,67	5,77
		5,78	5,59	5,69
Jan/08	6	5,84	5,74	5,79
		5,95	5,67	5,81
		5,72	5,68	5,70
		5,66	5,40	5,53
		5,34	5,16	5,25
		5,48	5,48	5,48
Fev/08	6	5,53	5,42	5,48
		5,18	5,16	5,17
		5,59	5,55	5,57
		5,84	5,76	5,80
		5,89	5,55	5,72

		6,05	5,70	5,88
Mar/08	0			
Abr/08	0			

Animal D11				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	6	6,28	6,19	6,24
		6,18	6,08	6,13
		6,52	5,09	5,81
		5,08	5,08	5,08
		6,24	6,38	6,31
		6,38	6,27	6,33
Mai/07	6	6,30	5,98	6,14
		6,07	6,40	6,24
		6,06	6,70	6,38
		6,09	6,20	6,15
		6,04	6,63	6,34
		6,30	6,30	6,30
Jun/07	6	6,33	6,33	6,33
		6,51	6,44	6,48
		6,56	6,14	6,35
		6,33	6,28	6,31
		6,04	6,39	6,22
		6,16	5,90	6,03
Jul/07	6	5,92	6,26	6,09
		6,00	6,34	6,17
		5,98	6,35	6,17
		6,30	6,39	6,35
		6,54	6,26	6,40
		5,95	6,36	6,16
Ago/07	6	6,14	6,93	6,54
		6,22	6,43	6,33
		6,12	6,59	6,36
		6,22	6,09	6,16
		6,12	6,39	6,26
		6,37	6,46	6,42
Set/07	5	6,15	6,07	6,11
		6,30	6,18	6,24
		6,38	6,38	6,38
Out/07		6,58	6,29	6,44
		6,42	6,67	6,55
Nov/07	2	5,98	5,35	5,67

		6,38	6,14	6,26
Dez/07	0			
Jan/08	0			
Fev/08	0			
Mar/08	0			
Abr/08	0			

Animal D12				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	0			
Mai/07	0			
Jun/07	4	5,05	4,26	4,66
		4,02	4,50	4,26
		4,94	4,32	4,63
		5,16	4,10	4,63
Jul/07	0			
Ago/07	0			
Set/07	0			
Out/07	0			
Nov/07	0			
Dez/07	0			
Jan/08	0			
Fev/08	0			
Mar/08	0			
Abr/08	0			

Animal D22				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)		Ø médio (cm)
Abr/07	0			
Mai/07	0			
Jun/07	4	4,57	4,64	4,61
		5,51	5,42	5,47
		5,54	5,64	5,59
		6,16	6,16	6,16
Jul/07	4	5,97	6,08	6,03
		5,63	5,66	5,65
		5,58	5,63	5,61
		5,45	5,52	5,49
Ago/07	4	5,50	5,75	5,63
		5,57	5,68	5,63
		6,13	6,18	6,16
		5,47	5,47	5,47

Set/07	4	5,65	5,78	5,72
		5,51	5,47	5,49
		5,67	5,56	5,62
		6,20	6,06	6,13
Out/07	4	5,75	5,56	5,66
		5,76	5,57	5,67
		6,14	6,00	6,07
		5,55	5,50	5,53
Nov/07	0			
Dez/07	0			
Jan/08	0			
Fev/08	0			
Mar/08	0			
Abr/08	0			

Animal D24				
Meses	No. ovos	>Ø (cm)	<Ø (cm)	Ø médio (cm)
Abr/07	0			
Mai/07	0			
Jun/07	0			
Jul/07	0			
Ago/07	0			
Set/07	0			
Out/07	0			
Nov/07	0			
Dez/07	0			
Jan/08	0			
Fev/08	0			
Mar/08	0			
Abr/08	0			

APÊNDICE B - Perfis das variações das estruturas ovarianas obtidas pelo exame ultrassonográfico

Fêmeas *Geochelone carbonaria*

- ✓ Observações obtidas no exame ultrassonográfico de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*). O valor n representa o número de estruturas ovarianas observadas pela ultrassonografia. Ao lado desta coluna estão os valores médios do diâmetro das estruturas ovarianas avaliadas. O valor NR representa a região ou animal que não se deixou examinar no dia especificado. São Paulo, 2008.

Meses do Experimento	Animal C1							
	Diâmetro das estruturas ovarianas							
	< 1cm		1-1,99 cm		2– 2,99 cm		3– 3,99 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	N	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	NR	-	NR	-	NR	-	NR	-
Mai/07	0	-	0	-	0	0	0	0
Jun/07	0	-	0	-	3	2,76	2	3,33
Jul/07	NR	-	NR	-	NR	-	NR	-
Ago/07	0	-	0	-	2	2,8	2	3,2
Set/07	0	-	11	1,915	2	2,235	10	3,352
Out/07	0	-	-	-	4	2,595	4	3,63
Nov/07	0	-	4	1,67	6	2,57	7	3,24
Dez/07	0	-	2	1,785	3	2,87	5	3,282
Jan/08	0	-	0	-	8	2,62	6	3,445
Fev/08	0	-	0	-	5	2,75	10	3,27
Mar/08	0	-	2	1,825	6	2,76	5	3,362
Abr/08	0	-	0	-	7	2,74	3	3,47

Meses do Experimento	Animal C3							
	Diâmetro das estruturas ovarianas							
	< 1cm		1-1,99 cm		2– 2,99 cm		3– 3,99 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	N	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	0	-	2	2,54	2	3,12
Mai/07	0	-	0	-	2	2,6	2	3,5
Jun/07	0	-	0	-	2	2,35	0	-
Jul/07	0	-	0	-	3	2,73	1	3,12
Ago/07	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Set/07	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Out/07	0	-	0	-	3	2,54	5	3,61
Nov/07	0	-	0	-	0	-	0	-
Dez/07	0	-	0	-	0	-	0	-
Jan/08	0	-	0	-	1	2,35	0	-
Fev/08	0	-	0	-	1	2,51	1	3,265
Mar/08	0	-	0	-	10	2,65	1	3,06
Abr/08	0	-	0	-	0	-	0	-

Meses do Experimento	Animal C8							
	Diâmetro das estruturas ovarianas							
	< 1cm		1-1,99 cm		2– 2,99 cm		3– 3,99 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	0	-	2	2,69	0	-
Mai/07	0	-	0	-	0	-	0	-
Jun/07	0	-	0	-	0	-	1	3,98
Jul/07	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Ago/07	0	-	0	-	1	2,8	0	-
Set/07	0	-	0	-	2	2,47	0	-
Out/07	0	-	0	-	0	-	0	-
Nov/07	0	-	2	1,675	7	2,45	0	-
Dez/07	0	-	0	-	6	2,51	4	3,39
Jan/08	0	-	0	-	6	2,67	6	3,65
Fev/08	0	-	0	-	5	2,694	2	3,265
Mar/08	0	-	0	-	1	2,67	5	3,46
Abr/08	0	-	0	-	10	2,62	2	3,3

Meses do Experimento	Animal C9							
	Diâmetro das estruturas ovarianas							
	< 1cm		1-1,99 cm		2– 2,99 cm		3– 3,99 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	1	1,91	1	2,82	0	-
Mai/07	0	-	1	1,79	0	-	1	3,03
Jun/07	0	-	1	1,17	8	2,51	1	3,36
Jul/07	0	-	4	1,75	6	2,32	0	-
Ago/07	0	-	5	1,6	11	2,4	0	-
Set/07	0	-	4	1,68	10	2,38	0	-
Out/07	0	-	0	-	0	-	0	-
Nov/07	0	-	1	1,99	13	2,49	1	3,05
Dez/07	0	-	2	1,57	6	2,61	1	3,08
Jan/08	0	-	0	-	9	2,63	4	3,2
Fev/08	0	-	0	-	7	2,7	6	3,34
Mar/08	0	-	0	-	4	2,53	3	3,24
Abr/08	0	-	0	-	3	2,9	6	3,17

Meses do Experimento	Animal C10							
	Diâmetro das estruturas ovarianas							
	< 1cm		1-1,99 cm		2– 2,99 cm		3– 3,99 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	4	1,68	14	2,39	0	-
Mai/07	0	-	0	-	1	2,1	0	-
Jun/07	0	-	1	1,9	3	2,43	1	3,53
Jul/07	0	-	0	-	0	-	1	3,06
Ago/07	0	-	0	-	0	-	0	-
Set/07	0	-	0	-	0	-	0	-
Out/07	0	-	3	1,83	4	2,38	0	-
Nov/07	0	-	0	-	1	2,175	1	3,625
Dez/07	0	-	2	1,725	5	2,45	2	3,67
Jan/08	0	-	2	1,725	3	2,27	0	-
Fev/08	0	-	1	1,92	8	2,6	0	-
Mar/08	0	-	0	-	2	2,47	0	-
Abr/08	0	-	2	1,35	2	2,47	1	3,01

Meses do Experimento	Animal C15							
	Diâmetro das estruturas ovarianas							
	< 1cm		1-1,99 cm		2– 2,99 cm		3– 3,99 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	0	-	2	2,61	1	3,07
Mai/07	0	-	0	-	3	2,3	0	-
Jun/07	0	-	0	-	5	2,58	1	3,16
Jul/07	0	-	0	-	4	2,65	4	3,01
Ago/07	0	-	0	-	1	2,7	0	-
Set/07	0	-	0	-	8	2,54	0	-
Out/07	0	-	5	1,58	13	2,45	0	-
Nov/07	0	-	4	1,66	13	2,55	1	3,23
Dez/07	0	-	0	-	10	2,436	2	3,2
Jan/08	0	-	0	-	5	2,656	2	3,24
Fev/08	0	-	0	-	6	2,79	1	3,2
Mar/08	0	-	0	-	1	2,69	8	3,23
Abr/08	0	-	0	-	1	2,69	9	3,3

Meses do Experimento	Animal C16							
	Diâmetro das estruturas ovarianas							
	< 1cm		1-1,99 cm		2– 2,99 cm		3– 3,99 cm	
	N	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	0	-	4	2,45	0	-
Mai/07	0	-	0	-	1	2,89	0	-
Jun/07	0	-	0	-	5	2,64	0	-
Jul/07	0	-	0	-	2	2,51	3	3,35
Ago/07	0	-	2	1,59	9	2,5	7	3,3
Set/07	1	0,88	4	1,405	3	2,58	1	3,34
Out/07	0	-	8	1,638	13	2,43	0	-
Nov/07	0	-	0	-	10	2,682	1	3,19
Dez/07	0	-	3	1,4	10	2,582	5	3,128
Jan/08	0	-	0	-	5	2,774	4	3,35
Fev/08	0	-	4	1,4	6	2,79	3	3,31
Mar/08	0	-	0	-	4	2,67	4	3,28
Abr/08	0	-	0	-	0	-	2	3,74

Fêmeas *Geochelone denticulata*

- ✓ Observações obtidas no exame ultrassonográfico de jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*). O valor n representa o número de estruturas observadas pela ultrassonografia. Ao lado desta coluna estão os valores médios do diâmetro das estruturas avaliadas. O valor NR representa a região ou animal que não se deixou examinar no dia especificado. São Paulo, 2008.

Meses do Experimento	Animal D6									
	Diâmetro das estruturas ovarianas									
	< 1cm		1-1,99 cm		2- 2,99 cm		3- 3,99 cm		> 4 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	N	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	0	-	1	2,24	1	3,13	0	-
Mai/07	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Jun/07	0	-	2	1,75	1	2,52	2	3,35	2	5,8
Jul/07	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Ago/07	0	-	0	-	1	3,5	1	3,9	0	-
Set/07	0	-	0	-	0	-	2	3,74	0	-
Out/07	0	-	0	-	0	-	8	3,66	1	4,45
Nov/07	0	-	2	1,53	2	2,4	2	3,38	1	4,0
Dez/07	0	-	0	-	0	-	4	3,67	1	4,86
Jan/08	0	-	0	-	1	2,32	5	3,436	0	-
Fev/08	0	-	0	-	1	2,53	2	3,805	2	4,675
Mar/08	0	-	0	-	1	2,93	3	3,77	0	-
Abr/08	0	-	1	1,13	2	2,625	3	3,22	0	-

Meses do Experimento	Animal D11									
	Diâmetro das estruturas ovarianas									
	< 1cm		1-1,99 cm		2- 2,99 cm		3- 3,99 cm		> 4 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	N	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	1	1,625	0	-	8	3,4	0	-
Mai/07	0	-	0	-	1	2,5	2	3,39	0	-
Jun/07	0	-	0	-	1	2,75	2	3,17	0	-
Jul/07	0	-	0	-	3	2,67	4	3,12	0	-
Ago/07	0	-	2	1,37	0	-	6	3,34	0	-
Set/07	0	-	0	-	0	-	6	3,534	1	4,15
Out/07	0	-	0	-	1	2,25	4	3,53	0	-
Nov/07	0	-	0	-	1	2,36	7	3,569	1	4,28
Dez/07	0	-	0	-	2	2,615	1	3,75	0	-
Jan/08	0	-	0	-	3	2,593	0	-	0	-
Fev/08	2	0,77	8	1,609	9	2,367	4	3,547	0	-
Mar/08	0	-	1	1,30	3	2,636	2	3,355	0	-
Abr/08	0	-	0	-	1	2,89	0	-	0	-

Meses do Experimento	Animal D12									
	Diâmetro das estruturas ovarianas									
	< 1cm		1-1,99 cm		2- 2,99 cm		3- 3,99 cm		> 4 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	N	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	0	-	0	-	1	3,97	0	-
Mai/07	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Jun/07	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Jul/07	0	-	0	-	4	2,633	5	3,457	0	-
Ago/07	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Set/07	0	-	0	-	0	-	1	3,97	0	-
Out/07	0	-	0	-	0	-	2	3,5325	0	-
Nov/07	0	-	0	-	2	2,435	1	3,41	0	-
Dez/07	0	-	0	-	6	2,8	1	3,04	0	-
Jan/08	2	0,725	2	1,575	8	2,511	4	3,407	0	-
Fev/08	0	-	0	-	2	2,825	3	3,216	0	-
Mar/08	0	-	0	-	0	-	6	3,626	0	-
Abr/08	0	-	2	1,52	1	2,88	5	3,566	3	4,526

Meses do Experimento	Animal D22									
	Diâmetro das estruturas ovarianas									
	< 1cm		1-1,99 cm		2- 2,99 cm		3- 3,99 cm		> 4 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	N	X (cm)	n	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Mai/07	0	-	1	1,64	2	2,63	4	3,5	0	-
Jun/07	0	-	1	1,82	3	2,34	1	3,48	1	4,13
Jul/07	0	-	1	1,99	2	2,81	2	3,19	1	4
Ago/07	0	-	0	-	2	2,9	2	3,4	3	4,4
Set/07	0	-	0	-	2	2,96	5	3,584	1	4,185
Out/07	0	-	1	1,32	0	-	1	3,97	1	4,5
Nov/07	0	-	0	-	0	-	1	3,99	0	-
Dez/07	0	-	0	-	1	2,47	2	3,135	1	4,22
Jan/08	0	-	5	1,494	7	2,778	3	3,163	0	-
Fev/08	0	-	1	1,945	5	2,621	0	-	0	-
Mar/08	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Abr/08	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-

Meses do Experimento	Animal D24									
	Diâmetro das estruturas ovarianas									
	< 1cm		1-1,99 cm		2- 2,99 cm		3- 3,99 cm		> 4 cm	
	n	X (cm)	n	X (cm)	N	X (cm)	N	X (cm)	n	X (cm)
Abr/07	0	-	0	-	2	2,42	3	3,58	0	-
Mai/07	0	-	0	-	2	2,42	3	3,68	0	-
Jun/07	0	-	1	1,57	1	2,08	1	3,28	0	-
Jul/07	0	-	2	1,8	4	2,48	2	3,52	1	4,1
Ago/07	0	-	0	-	3	2,4	2	3,6	0	-
Set/07	0	-	0	-	4	2,46	0	-	0	-
Out/07	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Nov/07	0	-	0	-	0	-	2	3,305	0	-
Dez/07	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Jan/08	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Fev/08	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Mar/08	0	-	0	-	0	-	1	3,02	0	-
Abr/08	0	-	1	1,85	1	2,58	0	-	0	-

APÊNDICE B – Dosagens hormonais realizadas nos animais estudados

- ✓ Concentrações séricas de progesterona (ng/mL) das fêmeas de *Geochelone carbonaria*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

	Animais						
meses	c1	c3	c8	c9	c10	c15	c16
Abr/07	0.37	0.21	1.17	1.25	1.24	0.9	0.35
Mai/07	-	2.56	0.65	0.79	0.73	0.42	0.54
Jun/07	3.38	0.44	0.6	1.24	0.67	0.38	1.25
Jul/07	0.66	0.52	0.11	0.31	0.17	0.21	0.14
Ago/07	-	-	0.74	0.14	0.26	0.31	0.38
Set/07	0.21	0.49	1.12	0.26	0.54	0.09	0.05
Out/07	0.41	0.34	0.57	1.01	0.28	0.16	0.29
Nov/07	0.25	0.42	0.74	0.34	1	1.04	<0.01
Dez/07	0.37	0.26	0.48	1.28	1.35	0.37	0.65
Jan/08	0.69	0.62	0.5	0.53	0.89	1.23	1.25
Fev/08	0.4	0.42	0.45	0.62	0.67	0.75	0.24
Mar/08	0.55	<0.01	0.38	0.9	1.23	0.35	0.6
Abr/08	0.79	0.37	0.46	0.85	0.56	1.12	0.94

- ✓ Concentrações séricas de estradiol (pg/mL) das fêmeas de *Geochelone carbonaria*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

	Animais						
meses	c1	c3	c8	c9	c10	c15	c16
Abr/07	397.96	374.71	563.78	568.15	436.25	668.52	670.65
Mai/07	-	502.03	345.92	421.29	339.91	434.84	438.83
Jun/07	576.49	185.57	639.43	589.21	749.58	620.27	327.62
Jul/07	568.92	555.2	503.33	1531.9	602.48	1306.9	481.2
Ago/07	-	410.01	604.03	738.91	824.91	1809.8	482.63
Set/07	673.28	618.37	690.07	1449.5	571.12	2536.7	1154.1
Out/07	796.46	1036.8	547.91	1799.8	981.64	1578.1	1238.7
Nov/07	815.27	1207.3	648.87	988.48	1334.6	3600	2184.2
Dez/07	1393.3	-	738.17	1552.9	2777.8	2249.8	2486.3
Jan/08	1246.7	1550.4	774.84	1018.1	1076.2	1670.9	1802
Fev/08	853.55	1481.8	576.3	804.71	<1.903	854.03	474.17
Mar/08	< 1.903	1021.9	473.98	657.62	569.87	761.76	786.57
Abr/08	437.61	420.69	394.18	1053.6	463.6	623.88	479.99

- ✓ Concentrações séricas de testosterona (ng/dL) das fêmeas de *Geochelone carbonaria*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

	Animais						
meses	c1	c3	c8	c9	c10	c15	c16
Abr/07	122.74	28.51	187.58	108.49	166.9	49.66	-
Mai/07	-	81.12	52.71	<5.4837	41.92	42.81	84.99
Jun/07	139.97	-	32.83	60.03	326.84	-	398.3
Jul/07	49.17	20.36	85.36	<5.4837	50.51	132.76	39.73
Ago/07	-	-	383.48	-	100.9	35.26	47.24
Set/07	50.05	26.49	250.41	132.71	86.2	28.88	56.09
Out/07	95.07	<5.4837	47.64	177.65	158.94	42.14	61.44
Nov/07	22.41	<5.4837	-	147.7	464.39	186.86	-
Dez/07	88.59	-	267.77	212.09	87.96	-	43.55
Jan/08	-	-	117.91	96.88	227.41	144.52	367.66
Fev/08	122.14	32.84	-	114.35	294.88	195.01	-
Mar/08	133.85	318.7	102.32	18.19	107.73	71.59	287.8
Abr/08	180.65	213.52	62.97	197.31	176.99	169.2	366.11

- ✓ Concentrações séricas de progesterona (ng/mL) das fêmeas de *Geochelone denticulata*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

	Animais				
meses	D6	D11	d12	D22	d24
Abr/07	0.14	0.24	<0.01	0.56	1.42
Mai/07	4.3			0.07	1.08
Jun/07	0.18	0.37	<0.01	0.13	0.99
Jul/07	0.51	0.19	<0.01	0.25	0.86
Ago/07	0.26	0.3	<0.01	0.11	0.51
Set/07	0.26		0.02	0.04	1.19
Out/07	0.68		<0.01	0.02	0.68
Nov/07	0.6	0.08	<0.01	2.37	0.16
Dez/07	0.48	0.05	<0.01	0.15	1.74
Jan/08	0.05	<0.01	0.04	<0.01	0.93
Fev/08	0.02	0.05	0.02	0.36	1.16
Mar/08	0.1	0.11	0.3	0.04	0.76
Abr/08	0.2	0.47	0.45	0.2	0.65

- ✓ Concentrações séricas de estradiol (pg/mL) das fêmeas de *Geochelone denticulata*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

meses	Animais				
	D6	D11	d12	D22	d24
Abr/07	170.37	99.8	89.79	68.2	142.93
Mai/07	241.1	49.01	16.59	<1.9031	132.17
Jun/07	74.56	57.97	33.7	16.66	143.27
Jul/07	95.57	52.92	<1.9031	29.43	160.03
Ago/07	96.55	45.98	<1.9031	15.75	60.9
Set/07	63.34	<1.9031	71.61	28.93	99.64
Out/07	75.09		33.36	24.81	76.26
Nov/07	108.5	34.05	61.43	24.78	82.35
Dez/07	58.62	41.53	20.73	61.23	52.51
Jan/08	25.68	93	67.55	63.01	59.3
Fev/08	20.89	453.91	105.69	86.89	88.46
Mar/08	34.12	137.91	100	78.9	118.9
Abr/08	47.81	123.67	20.52	88.46	142.85

- ✓ Concentrações séricas de testosterona (ng/dL) das fêmeas de *Geochelone carbonaria*, mantidas em cativeiro, durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

meses	Animais				
	D6	D11	d12	D22	d24
Abr/07	181.68	86.34	<5.4837	291.36	148.56
Mai/07	255.99			<5.4837	107.65
Jun/07	56.16	124.56	<5.4837	92.68	99.61
Jul/07	115.69	57.69	<5.4837	66.24	167.36
Ago/07	159.06		<5.4837		105.12
Set/07	58.98		<5.4837	<5.4837	222.68
Out/07	256.83		<5.4837	<5.4837	131.01
Nov/07	232.68		22.32	<5.4837	281.67
Dez/07	124.6	<5.4837	15.75	21	275.82
Jan/08	<5.4837	33.17	<5.4837	23.55	121.52
Fev/08	<5.4837	64.17	53.71	85.05	159.28
Mar/08	41.37	111.69	144.94	125.02	95.57
Abr/08	63.55	244.17	<5.4837	152.27	42.9

APÊNDICE C – Análise estatística descritiva realizada através do programa StatView (SAS, 1998)

✓ Dosagem de Progesterona nas fêmeas de *Geochelone carbonaria*

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Dev.	Std. Error	Count	Minimum	Maximum	# Missing
Column 1	.784	.461	.174	7	.210	1.250	0
Column 2	.948	.801	.327	6	.420	2.560	1
Column 4	.303	.210	.079	7	.110	.660	0
Column 3	1.137	1.050	.397	7	.380	3.380	0
Column 5	.366	.227	.101	5	.140	.740	2
Column 6	.394	.370	.140	7	.050	1.120	0
Column 7	.437	.283	.107	7	.160	1.010	0
Column 8	.543	.392	.148	7	.010	1.040	0
Column 9	.680	.451	.170	7	.260	1.350	0
Column 10	.816	.317	.120	7	.500	1.250	0
Column 11	.507	.179	.068	7	.240	.750	0
Column 12	.574	.397	.150	7	.010	1.230	0
Column 13	.727	.273	.103	7	.370	1.120	0

✓ Dosagem de Estradiol nas fêmeas de *Geochelone carbonaria*

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Dev.	Std. Error	Count	Minimum	Maximum	# Missing
Column 2	413.803	61.607	25.151	6	339.910	502.030	1
Column 1	525.717	123.678	46.746	7	374.710	670.650	0
Column 3	526.881	197.285	74.567	7	185.570	749.580	0
Column 4	792.847	434.790	164.335	7	481.200	1531.900	0
Column 5	811.715	512.727	209.320	6	410.010	1809.800	1
Column 6	1099.020	713.091	269.523	7	571.120	2536.700	0
Column 7	1139.916	436.144	164.847	7	547.910	1799.800	0
Column 8	1539.817	1035.615	391.426	7	648.870	3600.000	0
Column 9	1866.378	769.016	313.950	6	738.170	2777.800	1
Column 10	1305.591	378.647	143.115	7	774.840	1802.000	0
Column 11	720.923	450.935	170.437	7	1.903	1481.800	0
Column 12	610.515	320.424	121.109	7	1.903	1021.900	0
Column 13	553.364	232.734	87.965	7	394.180	1053.600	0

✓ Dosagem de Testosterona nas fêmeas de *Geochelone carbonaria*

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Dev.	Std. Error	Count	Minimum	Maximum	# Missing
Column 1	110.647	62.769	25.625	6	28.510	187.580	1
Column 2	51.506	29.275	11.952	6	5.484	84.990	1
Column 3	191.594	162.941	72.869	5	32.830	398.300	2
Column 4	54.768	42.636	16.115	7	5.484	132.760	0
Column 5	141.720	163.681	81.840	4	35.260	383.480	3
Column 6	90.119	79.671	30.113	7	26.490	250.410	0
Column 7	84.052	63.583	24.032	7	5.484	177.650	0
Column 8	165.369	184.518	82.519	5	5.484	464.390	2
Column 9	139.992	95.100	42.530	5	43.550	267.770	2
Column 10	190.876	110.562	49.445	5	96.880	367.660	2
Column 11	151.844	98.454	44.030	5	32.840	294.880	2
Column 12	148.597	112.010	42.336	7	18.190	318.700	0
Column 13	195.250	89.679	33.896	7	62.970	366.110	0

✓ Dosagem de Progesterona nas fêmeas de *Geochelone denticulata*

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Dev.	Std. Error	Count	Minimum	Maximum	# Missing
Column 1	.474	.567	.253	5	.010	1.420	0
Column 2	1.817	2.209	1.275	3	.070	4.300	2
Column 3	.336	.388	.173	5	.010	.990	0
Column 4	.364	.330	.148	5	.010	.860	0
Column 5	.238	.191	.086	5	.010	.510	0
Column 6	.378	.552	.276	4	.020	1.190	1
Column 7	.348	.384	.192	4	.010	.680	1
Column 8	.644	.992	.444	5	.010	2.370	0
Column 9	.486	.725	.324	5	.010	1.740	0
Column 10	.208	.404	.181	5	.010	.930	0
Column 11	.322	.490	.219	5	.020	1.160	0
Column 12	.262	.295	.132	5	.040	.760	0
Column 13	.394	.193	.087	5	.200	.650	0

✓ Dosagem de Estradiol nas fêmeas de *Geochelone denticulata***Descriptive Statistics**

	Mean	Std. Dev.	Std. Error	Count	Minimum	Maximum	# Missing
Column 1	114.218	41.532	18.574	5	68.200	170.370	0
Column 2	88.155	99.276	44.398	5	1.903	241.100	0
Column 3	65.232	48.947	21.890	5	16.660	143.270	0
Column 4	67.971	61.874	27.671	5	1.903	160.030	0
Column 5	44.217	37.487	16.765	5	1.903	96.550	0
Column 6	53.085	38.140	17.057	5	1.903	99.640	0
Column 7	52.380	27.128	13.564	4	24.810	76.260	1
Column 8	62.222	34.435	15.400	5	24.780	108.500	0
Column 9	46.924	16.492	7.375	5	20.730	61.230	0
Column 10	61.708	24.077	10.768	5	25.680	93.000	0
Column 11	151.168	172.306	77.058	5	20.890	453.910	0
Column 12	93.966	39.993	17.885	5	34.120	137.910	0
Column 13	84.662	50.976	22.797	5	20.520	142.850	0

✓ Dosagem de Testosterona nas fêmeas de *Geochelone denticulata***Descriptive Statistics**

	Mean	Std. Dev.	Std. Error	Count	Minimum	Maximum	# Missing
Column 1	142.685	106.839	47.780	5	5.484	291.360	0
Column 2	123.041	125.960	72.723	3	5.484	255.990	2
Column 3	75.699	46.259	20.687	5	5.484	124.560	0
Column 4	82.493	61.470	27.490	5	5.484	167.360	0
Column 5	89.888	77.913	44.983	3	5.484	159.060	2
Column 6	73.157	102.823	51.411	4	5.484	222.680	1
Column 7	99.702	120.310	60.155	4	5.484	256.830	1
Column 8	135.538	142.037	71.019	4	5.484	281.670	1
Column 9	88.531	115.252	51.542	5	5.484	275.820	0
Column 10	37.841	48.276	21.590	5	5.484	121.520	0
Column 11	73.539	56.117	25.096	5	5.484	159.280	0
Column 12	103.718	39.275	17.565	5	41.370	144.940	0
Column 13	101.675	96.210	43.026	5	5.484	244.170	0

APÊNDICE D - Observações relativas à análise individual das fêmeas estudadas:

Fêmea C1

Gráfico 11 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea C1 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 12 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea C1 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea C3

Gráfico 15 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea C3 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 16 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea C3 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea C8

Gráfico 19 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea C8 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 20 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea C8 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea C9

Gráfico 23 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea C9 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 24 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea C9 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

abril de 2008.

Fêmea C10

Gráfico 27 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea C10 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 28 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea C10 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea C15

Gráfico 31 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea C15 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 32 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea C15 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea C16

Gráfico 35 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea C16 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 36 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea C16 (*Geochelone carbonaria*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea D6

Gráfico 39 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea D6 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 40 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea D6 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea D11

Gráfico 43 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea D11 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 44 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea D11 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea D12

Gráfico 47 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea D12 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 48 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea D12 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea D22

Gráfico 51 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea D22 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 52 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea D22 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Fêmea D24

Gráfico 55 – Concentrações séricas de estradiol e testosterona da fêmea D24 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

Gráfico 56 – Concentrações séricas de progesterona e estradiol da fêmea D24 (*Geochelone denticulata*), mantida em cativeiro durante o período de abril de 2007 a abril de 2008.

APÊNDICE E - Variações da temperatura ambiente

- ✓ Quadro representativo das temperaturas mínimas, máximas e absolutas no período da pesquisa. Dados fornecidos pelo Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas - Ciiagro (<http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>) 2008.

Mês	t max	t max abs	t min	t min abs	t média
abr/07	27,3	32,3	18,7	14	23,0
mai/07	23,2	29,8	14,4	8,5	18,8
jun/07	25,2	29,6	14,1	6,6	19,7
jul/07	22,0	28,9	12,6	6,4	17,3
ago/07	25,4	31,9	14,4	9,3	19,9
set/07	29,2	30,8	15,8	13,7	22,5
Out/07	27,8	31,5	17,1	15,8	22,6
Nov/07	26,2	29,8	16,9	15,3	21,6
Dez/07	28,7	31,3	19,3	18,1	24,0
Jan/08	26,2	27,8	18,4	17,5	22,3
Fev/08	26,8	28,6	18,8	18,0	22,7
Mar/08	26,2	27,5	17,7	16,5	21,9
Abr/08	25,7	27,5	17,8	16,6	19,5

ANEXO

Anexo A – Padroes de qualidade

Percentual de reações cruzadas dos conjuntos comerciais para Radioimunoensaio para progesterona da marca DPC®

Progesterona Coat a Count DPC®	
% de reação cruzada	Esteróide
100	Progesterona
9,0	5 α Pregnanediona
3,4	17 α Hidroxiprogesterona
3,2	5 β Pregnanediona
2,2	11-Deoxicorticosterona
0,9	Corticosterona
0,1	Pregnenolona
0,05	5 β -pregnane-3 α -ol-20-one
0,05	5-pregnane-3 β -ol-20-one-sulfato

Percentual de reações cruzadas dos conjuntos comerciais para Radioimunoensaio para estradiol da marca DPC® e para estradiol da marca DSL®

Estradiol Coat a Count DPC®	
% de reação cruzada	Esteróide
100	Estradiol 17 β
10,0	Estrona
0,80	Equilina
0,58	Sulfato de estrona