



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA



**Validação da idade estimada por osteocronologia em *Podocnemis expansa*
(Chelonia/Podocnemidae) de criadouros comerciais na Região Metropolitana de
Manaus.**

Bolsista: Laís Cássia Monteiro de Souza Barreto, CNPq

Manaus
2009



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA



RELATÓRIO FINAL
PIB-B/047/2008

**Validação da idade estimada por osteocronologia em *Podocnemis expansa*
(Chelonia/Podocnemidae) de criadouros comerciais na Região Metropolitana de
Manaus.**

Bolsista Laís Cássia Monteiro de Souza Barreto

Orientador Prof. Dr. Ronis Da Silveira

Manaus
2009

RESUMO

A osteocronologia visa determinar a idade dos indivíduos em função dos anéis de crescimento (*skeleton growth marks*, SGMs) registrados nos ossos dos vertebrados. Este estudo objetivou estudar a relação entre o tamanho e a idade em tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) mantidas em criadouros comerciais na Região Metropolitana de Manaus. Os objetivos específicos foram os seguintes: (1) definir qual a porção e qual osso longo que melhor retrata a formação dos anéis de crescimento (SGMs) para a espécie em condições de cativeiro; (2) Estimar a idade de machos e fêmeas por osteocronologia; (3) Validar as idades estimadas com a idade real dos indivíduos; (4) Relacionar o tamanho dos indivíduos com a idade real e o sexo; (5) Relacionar o número de SGMs com os anéis de crescimento formados nas escamas epidérmicas que revestem o casco da tartaruga. Foi verificado que o melhor osso a ser analisado é o úmero, na região central da diáfise do osso, pois é a parte onde as linhas de crescimento são mais visíveis pela técnica de osteocronologia. Os indivíduos maiores apresentaram mais linhas de crescimento, mas a relação entre o número de anéis e o tamanho dos quelônios não foi clara, muito em função do tamanho amostral pequeno. O estudo evidenciou a sobreposição das linhas de crescimento mais antigas em indivíduos de *P. expansa* de comprimento da carapaça $\geq 61,3$ cm. Não foi possível atingir os demais objetivos devido ao fato dos criadores comerciais não terem ciência da idade real dos indivíduos do seu plantel, como originalmente supomos no início deste estudo. O estabelecimento e adequação do protocolo para estudos de osteocronologia em *P. expansa* durante o presente estudo poderão subsidiar estudos similares futuros com a espécie em cativeiro ou em vida livre.

Palavras-chave: Osteocronologia; tartaruga-da-amazônia; ranching.

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Núcleo de Estudo e Pesquisa em Ciência da Informação e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida no instituto de Ciências Biológicas como sendo parte do Programa de Iniciação Científica PIBIC.

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO.....	6
1.1 <i>Podocnemis expansa</i>	6
1.2 Osteocronologia.....	7
1.3 Criadouros.....	.8
2. OBJETIVOS.....	9
2.1 Objetivo geral.....	9
2.2 Objetivos específicos.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Origem, tamanho da amostra e morfometria dos quelônios.....	10
3.2 Preparação do material.....	10
3.3 Osteocronologia	10
4.0 RESULTADOS.....	12
5.0 DISCUSSÃO.....	17
6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	19
7.0 CRONOGRAMA DE ATIVIDADES.....	21

1. INTRODUÇÃO

A ordem Testudines abrange répteis marinhos, terrestres, e dulcícolas que surgiram há 200 milhões de anos, na Era Mesozóica, e desenvolveram um sistema de proteção e defesa diferenciado (ORR, 1986). A maioria das espécies viventes apresenta o corpo envolvido por duas conchas ósseas, uma carapaça dorsal e um plastrão ventral, que estão ligados lateralmente por uma ponte óssea. As suas mandíbulas são desenvolvidas, assumindo a forma de um bico córneo. A língua não é extensível, não possui dentes, o pescoço geralmente é retrátil e com oito vértebras cervicais. Os membros basicamente pendáctilos. São ovíparos e não apresentam cuidado parental e podem ser encontrados nas regiões tropicais e temperadas do mundo (ORR, 1986).

Os quelônios da sub-ordem Pleurodira, retraem lateralmente o pescoço, e dentre as famílias que a compõe encontra-se a família Podocnemididae, que possui três gêneros de quelônios de água doce, onde está inserido o gênero *Podocnemis*, sendo este o mais importante economicamente na Amazônia brasileira (MITTERMIER, 1978). Esse gênero possui seis espécies, quatro destas ocorrem na Amazônia brasileira: *Podocnemis expansa*, *Podocnemis unifilis*, *Podocnemis erythrocephala* e *Podocnemis sextuberculata*. A maior e a mais consumida é a tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*) podendo chegar até 120 cm de comprimento total e 60 kg (VOGT, 2004).

1.1- *Podocnemis expansa*

Esta espécie pode ser facilmente identificada, pois na parte superior da cabeça existem duas manchas em forma de pontos, de cor mais escura (RUEDA-ALMONACID *et al.*, 2007; Fig. 1).



Fig. 1: Exemplar de *P. expansa*.

As fêmeas possuem comportamento gregário na época de desova (Fig. 2). Iniciam a migração para os rios no começo da vazante a procura de praias nas quais sobem geralmente à noite. Por apresentarem este comportamento são mais suscetíveis a captura e coleta dos ovos do que as demais espécies de quelônios na Amazônia, sendo esta uma importante atividade etnozoológica (GILMORE, 1986).



Fig. 2: Tabuleiro de desova de *P. expansa* no Rio Guaporé.

Apesar da *P. expansa* ser intensamente explorada para a subsistência e o comércio desde os tempos pré-cabralinos, o nosso conhecimento sobre a biologia da espécie é limitado (VOGT, 2004); e as bases técnico-científicas para a cadeia produtiva da espécie são limitadas (ANDRADE, 2004).

1.2- Osteocronologia

A idade em vertebrados geralmente é estimada por estudos de marcação-recaptura ou de osteocronologia (HUTTON, 1987). Ambas as técnicas são custosas, pois a primeira implica em um longo esforço de campo para se obter algumas recapturas (geralmente inferior a 3% dos indivíduos marcados). Por sua vez, a osteocronologia necessita de muito mais infra-estrutura e material na sua execução.

Não bastassem os empecilhos logísticos, outro complicador é que os modelos de determinação de idade (gerados em campo ou no laboratório) só podem ter a sua acurácia ratificados se existirem indivíduos de idade conhecida na amostragem, ou externos a esta, para validação dos resultados (TUCKER, 1997; SNOVER & HOHN, 2004).

Modelos de determinação da idade em vertebrados amazônicos, com indivíduos de idade conhecida, são raros (DA SILVEIRA *et al.*, em preparação). Uma

oportunidade singular é ter animais de idade conhecida, como a modelagem da relação tamanho/idade da espécie *P. expansa* mantidas em criadouros comerciais nos estados amazônicos, e em Goiás (ANDRADE, 2004).

A osteocronologia consiste em determinar a idade do indivíduo em função dos anéis de crescimento presentes nos ossos (CASTANET, 1994). Alguns estudos com osteocronologia comprovam que os anéis de crescimento são anuais (CASTANET *et al.*, 1990). Em répteis, a formação óssea é laminar, não ocorre remodelação ontogênica expressiva nas camadas já depositadas, sendo possível a contagem destes anéis adequada para representar a idade dos indivíduos (CHINSAMY & DODSON, 1995).

Os anéis de crescimento são mais evidentes nos ossos longos (úmero, fêmur, tíbia e fíbula), pois sofrem calcificação mais intensa (BOTHÁ & CHINSAMY, 2000). A osteocronologia foi usada em diversos estudos para atribuir idade em tartarugas marinhas, baseadas em marcas do crescimento no úmero (ZUG *et al.*, 1986; ZUG *et al.*, 2000).

1.3 Criadouros

O Governo Federal estimulou, fomentou e promoveu, desde 1993, o manejo comercial de *P. expansa*. A modalidade de manejo oficialmente adotada é conhecida como *ranching* (VERDADE, 2004), que no caso brasileiro foi implementado mediante a proteção ostensiva das praias de desova (tabuleiros) para posterior doação dos filhotes recém-eclodidos para produtores particulares, devidamente autorizados pelo IBAMA.

No Estado do Amazonas, a grande fonte de filhotes foi a Reserva Biológica do Abufari, um dos tipos de unidade de conservação mais restritivas no Brasil, segundo o Sistema Nacional de Unidades de Conservação - SNUC (Lei 9.985 de 18/julho/2000). Os objetivos deste programa são nobres, de interesse público, e buscam a segurança alimentar dos cidadãos e a conservação da espécie (Portaria IBAMA 142/92; ANDRADE, 2004).

Em 2003, estimou-se que somente no Estado do Amazonas deveriam existir 400.000 cabeças de *P. expansa*, distribuídas no plantel de 69 criadouros comerciais (ANDRADE, 2004). O potencial de estudos biológicos com estas populações cativas é singular no mundo, podendo ser melhor explorado para subsidiar políticas públicas de conservação e aproveitamento econômico da *P. expansa* na Amazônia brasileira.

2. OBJETIVOS

2.1- Geral: Realizar estudo de osteocronologia como modelo efetivo de estimativa de idade de *P. expansa* em criadouros comerciais, objetivando subsidiar outros estudos com a espécie em populações cativas ou de vida livre, onde geralmente a idade dos indivíduos é desconhecida.

2.2- Específicos:

- 1) Definir qual a porção e qual osso longo (fêmur ou úmero) que melhor retrata a formação dos anéis de crescimento (*skeleton growth marks*, SGMs) para a espécie em condições de cativeiro;
- 2) Estimar a idade de machos e de fêmeas por osteocronologia;
- 3) Validar as idades estimadas com a idade real dos indivíduos;
- 4) Relacionar o tamanho dos indivíduos com a idade real e o sexo;
- 5) Relacionar o número de SGMs com os anéis de crescimento formados nas escamas epidérmicas que revestem o casco da tartaruga-da-amazônia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Origem, tamanho da amostra e morfometria dos quelônios.

Dezoito exemplares de *P. expansa* foram doados por dois criadouros comerciais implantados nos municípios de Iranduba e Manacapuru. Os criadouros escolhidos foram aqueles que apresentaram maior sucesso no crescimento dos filhotes, e possuem nos seus plantéis indivíduos de várias idades e tamanhos. Vale destacar que a grande maioria dos criadouros amazonenses não obteve sucesso no manejo para a comercialização.

Todos os criadouros amostrados mantêm os animais em lagos escavados e/ou formados por barragem de igarapé. Outras formas de criação (como a manutenção em tanques de fibra de vidro) não foram incluídas, visando diminuir a variância do universo amostral. Os indivíduos foram abatidos pela equipe técnica do projeto Bajaquel (Licenças: SISBIO-IBAMA #11919-1; oficialmente dispensado do CEP/UFAM). O comprimento linear da carapaça foi mensurado com paquímetro graduado em centímetros.

3.2 Preparação do material.

Os ossos longos (fêmur e úmero) foram separados da musculatura, com o uso de bisturis, no mesmo momento em que foram realizados os abates, separados em sacos de plástico com formol 10% e etiquetados cuidadosamente para que não houvesse perda dos dados.

Após esse processo, o material foi retirado do formol e lavado em água corrente por no mínimo 24 h. Em seguida foi verificada a necessidade de uma nova raspagem dos ossos, para que fossem retirados alguns resquícios de carne ainda contida nos mesmo. Após a limpeza completa do material, este foi posto para secagem.

3.3 Osteocronologia

As etapas descritas a seguir foram desenvolvidas no Laboratório de Mamíferos Aquáticos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), sob a supervisão da Dra. Vera M. da Silva.

Cada osso foi dividido em cinco partes iguais para que fosse possível identificar qual área seria melhor para a contagem dos anéis de crescimento. Para padronizar o estudo utilizaram-se somente os ossos do lado direito dos indivíduos amostrados. Determinados ossos (fêmur e úmeros) não puderam passar por essa etapa por serem muito irregulares e não se adaptarem à máquina de cortes. Essas partes foram classificadas por número, e os ossos etiquetados: secção I, secção II, secção III, secção IV, secção V (Fig. 4).

Devido à dificuldade ocasionada pelo tamanho de alguns indivíduos, os ossos foram fragmentados primeiramente com uma serra manual, para que em seguida fossem cortados com o uso de uma máquina artesanal que possui uma serra diamantada para que não ocorram ranhuras nos ossos, usando secções transversais de 0,6-0,8mm (ZUG & BALAZS, 2000).

A seguir, os ossos longos foram desmineralizados com RDO e cortados em micrótomo de congelação, na espessura de 19 a 20 micrômetros. Os cortes foram imersos em Borato de Sódio a 1% e corados com Hematoxilina de Harris, para melhor visualização da formação dos anéis. Após a coloração, os cortes foram banhados com Glicerina para completa desidratação, seguido pela montagem em lâmina e lamínula, e selados com Entellan.

No geral, os anéis/linhas de crescimento (*skeleton growth marks*, SGMs) são reconhecidos como uma faixa mais clara e larga, seguida por uma faixa mais estreita e escura (ERIMIS *et al.*, 2002).

A contagem das SGMs foram feitas com microscópio estereomicroscópio. As estruturas ósseas e as técnicas foram descritas e aplicadas em muitos estudos com salamandras, anuros, crocodilianos, quelônios e serpentes (GIBBONS, 1976; HUTTON, 1987; BOTHA & CHINSAMY, 2000; ERIMIS *et al.*, 2002).

Para a análise foram realizadas duas contagens das lâminas, para cada indivíduo amostrado. Por ser um osso com forma irregular dificulta a contagem de anéis de crescimento, sendo assim, alguns cortes precisaram ser fotografados para que não houvesse dúvidas na contagem dos anéis de crescimento.

4. RESULTADOS

Consegui processar somente nove dos 18 exemplares de tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) previstos no projeto original. Isto ocorreu em função de várias intercorrências, incluindo problemas de mal funcionamento de alguns equipamentos essenciais para o desenvolvimento do estudo, e a necessidade inesperada de refinar a técnica histológica de coloração; além da minha parca habilidade de identificar nas lâminas finalizadas os anéis de crescimento ósseo.

A seleção do osso longo (fêmur ou úmero) mais adequado para a osteocronologia da espécie-alvo foi decidida mediante análise macroscópica das estruturas ósseas, levando em consideração o tamanho, o formato mais regular e a melhor adaptação da peça anatômica à máquina de corte ósseo. Após esta avaliação prévia, considerei o úmero como sendo o melhor osso a ser estudado histologicamente para os objetivos deste estudo.

O úmero direito de oito exemplares de *P. expansa* foi submetido a todas as etapas do procedimento padrão, incluindo a remoção dos tecidos moles, cortes em seções menores, desmineralização, corte com micrótomo, coloração e preparação das lâminas. Não houve tempo hábil para a finalização deste protocolo em um dos indivíduos, o qual será processado no próximo mês.

A melhor região do úmero para contagem dos anéis de crescimento nas lâminas histológicas foi na altura do corte III (Fig. 3), pois as demais regiões continham osso esponjoso em abundância, dificultando a visualização dos anéis de crescimento. A região escolhida corresponde ao centro da diáfise do úmero, caracterizada por uma composição óssea mais densa, com mais material calcificado e também onde o canal medular é de menor calibre, apresentando uma deposição óssea mais acurada dos anéis de crescimento (Fig. 3).

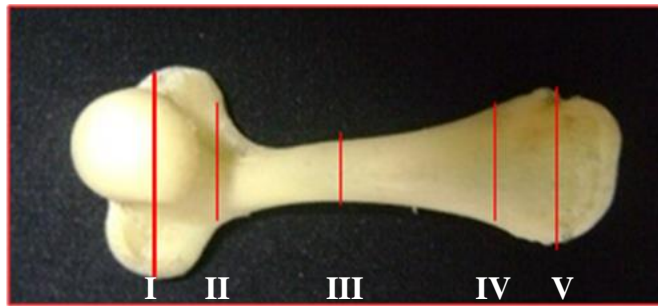


Fig. 3. - Cortes transversais (I a V) em diferentes regiões do úmero direito de *P. expansa*, realizados para a preparação de lâmina histológica para a contagem em microscópio óptico dos anéis de crescimento ósseo. A secção III corresponde ao centro da diáfise e a escolhida para a contagem dos anéis de crescimento ósseo.

Adequação de protocolo. -Este estudo foi o primeiro esforço de osteocronologia em *P. expansa* e, dessa forma, ainda não se havia estabelecido o tipo de corante e de tempo de imersão mais adequados para a visualização dos anéis de crescimento ósseo na espécie-alvo. Sendo assim, inicialmente utilizei a hematoxilina de Mayer como corante, o qual geralmente é adequado para osteocronologia em mamíferos aquáticos. No entanto, este reagente não corou satisfatoriamente o tecido ósseo e dessa forma não possibilitou uma visualização adequada dos anéis de crescimento.

A concentração e o tempo de imersão dos cortes preparados com cada um dos corantes (hematoxilina de Mayer e de Harris) também precisaram ser testados por várias vezes, até encontrar um protocolo onde fosse possível a melhor visualização dos anéis de crescimento ósseo. Os tempos de imersão foram de 2, 5, 8, 10 e 15 minutos. As baterias de concentração de glicerina testadas foram as seguintes: 50% e 100%; 50%, 75% e 100% e 25%, 50%, 75% e 100%; sendo que o tempo de permanência do material em cada concentração foi de 10 minutos.

Após as diversas combinações possíveis, constatei que o melhor protocolo seria o de 15 minutos de imersão em hematoxilina de Harris, seguido de bateria de glicerina com concentrações de 50%, 75% e 100%.

Adequação de protocolo. - realizei várias contagens dos anéis de crescimento de um mesmo corte para obter um padrão de contagem dos anéis, inclusive com o uso de microfotografia dos cortes, minimizando as chances de erros nas contagens (Tabela 1).

Tabela 1: Número, código e origem do indivíduo, estágio de processamento histológico, comprimento linear da carapaça (CC, em centímetros), número de cortes do úmero preparados em lâmina, número de contagens (Cont.) de linhas crescimento por corte.

Num.	Código	Criador	Estágio	CC	Nº	Cont.
1	8410	1	Finalizado	28,6	8	5
2	8411	1	Finalizado	37,6	8	4
3	8412	1	Finalizado	33,9	6	8
4	8413	1	Finalizado	34,8	12	6
5	8414	1	Finalizado	32,5	10	5
6	8415	1	Finalizado	40,9	8	6
7	8417	2	Finalizado	46,0	10	4
8	1218470	2	Finalizado	61,3	5	6
9	1218472	2	Em processo	63,9	-	-

Um exemplo de como o anel de crescimento ósseo se apresenta após o tratamento histológico pode ser visualizado na Figura 4.

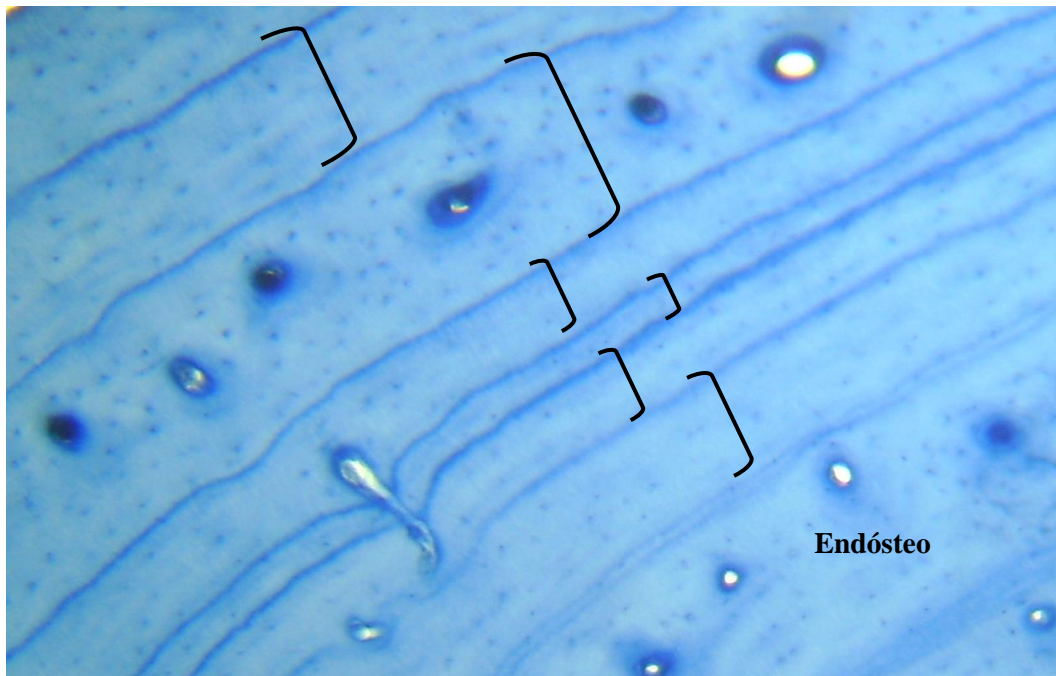


Fig. 4.- Corte histológico no centro da diáfise do úmero de indivíduo de *P. expansa* (#PE8417). Cada anel de crescimento (destacado pelo colchete) é composto por uma faixa mais larga, seguida de uma faixa mais estreita e visivelmente mais escura. O endósteo representa a região mais interna do osso.

O número de anéis de crescimento ósseo tendeu a aumentar com o tamanho da *P. expansa* de ambos os sexos. No entanto, esta relação não foi muito clara, principalmente em função do tamanho amostral pequeno e da variação relativamente alta do número de anéis em indivíduos de tamanhos similares (Fig. 5). O número pequeno de anéis de crescimento no maior indivíduo amostrado indicou uma possível sobreposição dos anéis de crescimento mais iniciais, limitando a eficácia da técnica para estimar a idade dos indivíduos *P. expansa* mais velhos.

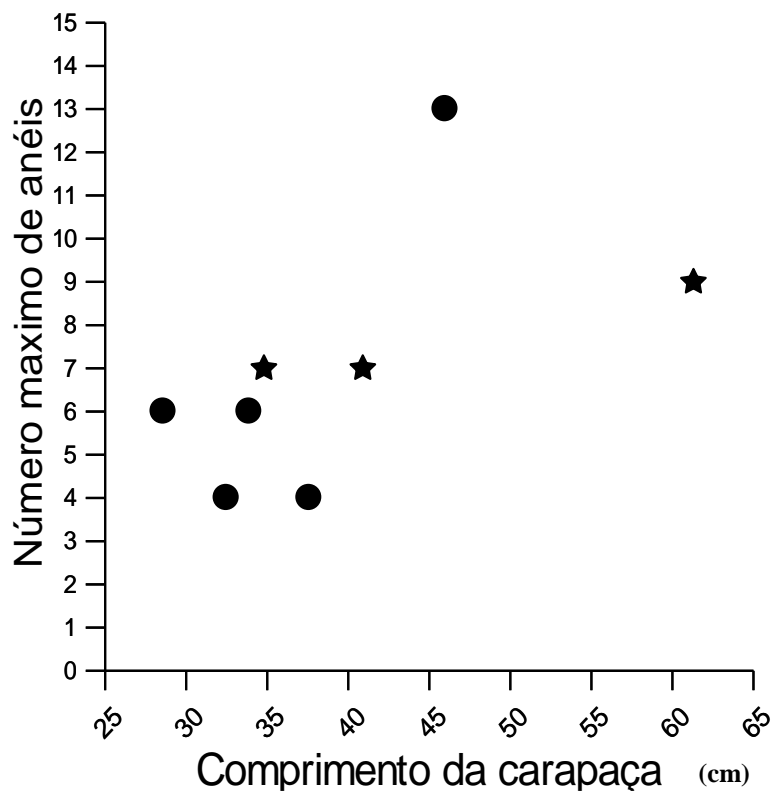


Fig. 5: Número máximo de anéis de crescimento presentes no centro da diáfise do úmero em relação ao comprimento da carapaça de oito indivíduos de *P. expansa*. Circulo representa macho e estrela fêmea.

Os objetivos 3 e 4 foram não alcançados devido ao fato dos criadouros comerciais não terem conseguido estimar a idade de seus quelônios como originalmente imaginamos durante a elaboração do projeto. O objetivo 5 não foi realizado em função da falta de tempo hábil para tal, uma vez que grande parte do meu esforço de trabalho concentrou-se na adequação da técnica histológica de osteocronologia.

5. DISCUSSÃO

A constatação de que a estrutura de formação óssea do úmero é adequada para a visualização dos anéis de crescimento, corrobora com o encontrado por outros autores que utilizaram este osso longo em estudos de osteocronologia com *Caretta caretta*, uma espécie de quelônio marinho (ZUG, *et al.*, 1986; PARHAM & ZUG, 1997). No entanto, a parte do úmero mais indicada para o corte em *P. expansa* é mais distal do que a sugerida para as espécies marinhas (*Lepidochelys kempii*, *Caretta caretta*) (ZUG, *et al.* 1986, PARHAM & ZUG, 1997), muito em função da morfologia e da anatomia dispare dos membros destes grupos (ORR, 1986). A adequação do protocolo desenvolvida neste projeto para a análise osteocronológica desta espécie poderá ser útil para outros autores estudando *P. expansa* em criadouros comerciais ou em vida livre.

Os indivíduos de *P. expansa* que crescem nos criadouros comerciais não sofrem o efeito do pulso de inundação que as populações de vida livre estão anualmente sujeitas nos seus ambientes naturais (SIOLI, 1984). Mesmo assim, os oito espécimes histologicamente analisados apresentaram anéis de crescimento regulares. No entanto, não foi possível interpretar que variação sazonal (ou não) esses anéis representam. Existe a possibilidade dos ciclos de crescimento mais rápido ou mais lento registrado no úmero da *P. expansa* em cativeiro seja em resposta às variações sazonais da precipitação, podendo este tópico ser objeto de estudo posterior a este.

Devido ao número pequeno de indivíduos amostrados, não foi possível analisar estatisticamente a relação entre o número de anéis de crescimento e a idade dos indivíduos. Porém, a constatação de que quanto maior o tamanho do indivíduo maior foi o número de anéis presentes nos ossos, e também a possível sobreposição dos anéis de crescimento mais antigos evidenciou que a técnica foi satisfatoriamente empregada, uma vez que estes resultados eram biologicamente esperados. Este estudo evidenciou que esta técnica tende a subestimar a idade das fêmeas de comprimento da carapaça $\geq 61,3$ cm. Este fato torna-se um obstáculo aos estudos de determinação de idade em espécies de vida longa, como a *P. expansa*, e dessa forma os anéis de crescimento não ficam totalmente preservados nas estruturas ósseas em indivíduos de idade avançada.

Muitos autores concluíram (ou assumiram) que cada anel de crescimento ósseo equivale a um ano de vida em várias espécies de mamíferos (KLEVEZAL, 1996), anfíbios e répteis (ZUG & RAND, 1987, CHINSAMY *et. al.* 1995). No entanto, em

indivíduos de *P. expansa* mantidos em cativeiro essa relação não foi evidente. Outros estudos a serem realizados com populações naturais de tartaruga-da-amazônia poderão registrar anéis de crescimento em seus ossos longos em função do pulso de inundação que grandemente afeta a ecologia deste grande quelônio de água doce da América do Sul (VOGT, 2008).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, P. C. A. Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas. Projeto Diagnóstico da Criação de Animais Silvestres no Estado do Amazonas. I Seminário de Criação e Manejo de Quelônios da Amazônia Ocidental. Andrade, P. C. M (Ed.). 1ª Edição. FAPEAM/SDS. Manaus/AM. 447. 2004.
- BOTHA, J.; CHINSAMY, A. Frowth patterns deduced from the bone histology of the cynodonts *Diademodon* and *Cynognathus*. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 20(4):705-711. 2000.
- CASTANET, J.; SMIRINA, E.; Introducion to the skeletochronology method in amphibians and reptilia. *Ann. Sci. Nat. Zool.* 11:191-196. 1990.
- CASTANET, J. Age estimation and longevity in reptiles. *Gerontology*. 40:174-192, 1994.
- CHINSAMY, A.; DODSON, P. Inside a dinosaur bone. *America Scientist*. 83:174-180. 1995.
- CHINSAMY, A.; HANRAHAN S.A.; NETO R.M.; SEELY M. Skeletochronological assessment of age in *Angolosaurus skoogi*, a cordylid lizard living in an aseasonal environment. *Jornal of Herpetology*. 29:457-460. 1995.
- GIBBONS, J. W. Ageing phenomena in reptiles. In: Elias, M. F.; ELEFOTHERION, B. E. (Ed.) *Special Review of Experimental Aging Research*. 453-475. 1976.
- GILMORE, R.M. Fauna e etnozoologia da América do Sul. In: Ribeiro B.G.E. (Ed.) *Suma Etnológica Brasileira*. Vozes, Petropolis. 189-233. 1986.
- HUTTON, M. J. Techniques for aging wild crocodilians. In: Webb, G. J. W.; Manolis, S. C.; Whitehead P. J. (Eds.). *Wildlife and Management: Crocodiles and Alligators*. Surrey Beatty & Sons Pty Limited. 211-216. 1987.
- KLEVESAL, G.A. Recording structures of mammals: determination of age and reconstruction of life history. A. A. Balkema, Brookfield, VT. 1996.
- MITTERMEIER, R. A. South America's River Turtles. *Saving Then by Use*. *Oryx*, 14: 222-230. 1978.
- ORR, R. T. *Biologia dos Vertebrados*. 5ª Edição. São Paulo: Editora Roca Ltda., 1986.
- PARHAM J.F., ZUG G.R. (1997) Age and growth of loggerhead sea turtles *Caretta caretta* of coastal Georgia: an assessment of skeletochronological age-estimates. *Bull Mar Sci* 61:287-304. 1997.
- RUEDA-ALMONACID, J. V.; CARR, J. L.; MITTERMEIER, R. A.; RODRÍGUEZ-MAHECHA, J. V.; MAST, R. B.; VOGT, R. C.; RHODIN, A. G. J.; OSSA-VELASQUEZ, J. DE LA; RUEDA, J. N.; MITTERMEIER, C. (Eds.) *Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos del trópico*. *Conservation Internacional*. 467. 2007.
- SIOLI, H. 1984. The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: Sioli, H. (Ed.). *The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin*. *Monographiae Biologicae*. Junk, Dordrecht. 127-165.
- SNOVER, M. L.; HOHN, A. Validation and interpretation of annual skeletal marks in loggerhead (*Caretta caretta*) and Kemp's ridley (*Lepidochelys kempii*) sea turtles. *Fishery Bulletin*. 102(4): 682-692. 2004.
- TUCKER, A. D. Validation of skeletochonology to determine age of freshwater crocodiles (*Crocodylus johnstoni*). *Marine Freshwater Research*. 48: 343-351. 1997.

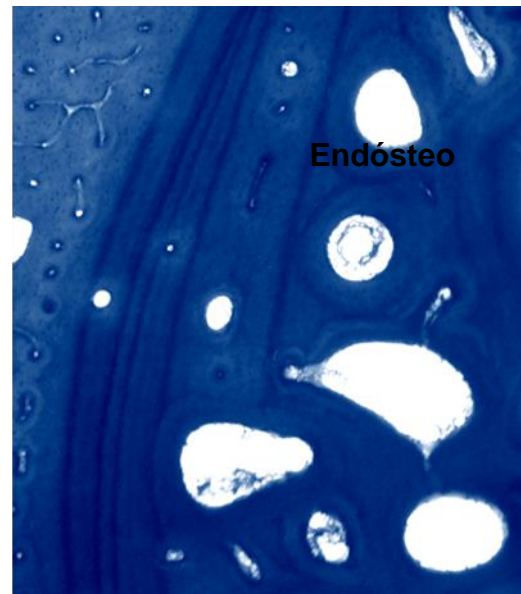
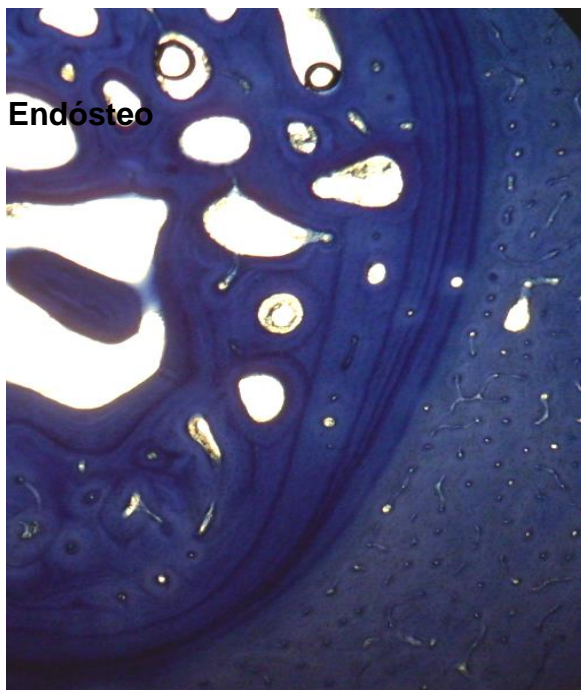
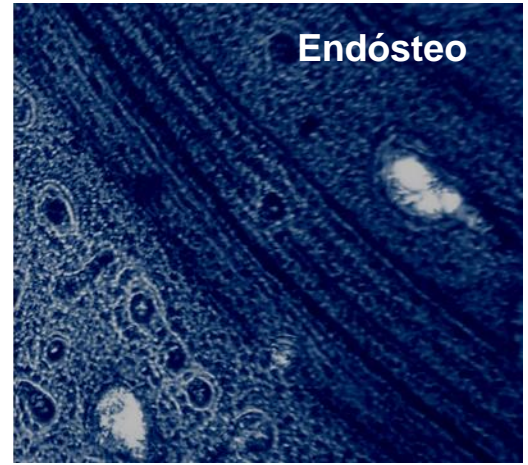
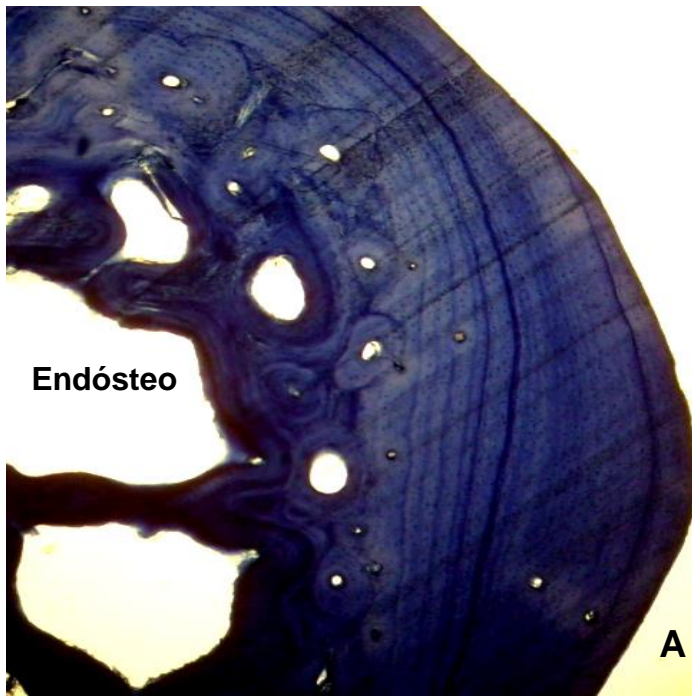
- VERDADE, L. M. A exploração da fauna silvestre no Brasil: jacarés, sistemas e recursos humanos. *Biota Neotropica*. 4(2): 1-12. 2004.
- VOGT, R. C. Tartarugas da Amazônia. Gráfica Bíblos, 2008.
- VOGT, R. C. Tartaruga Fluvial Gigante Sul-Americana (*Podocnemis expansa* Schweigger, 1812) (Pelomedusidae). In: Cintra, R. (Ed.) *Ecologia e Conservação de Algumas Espécies de Plantas e Animais da Amazônia*. EDUA. Manaus/AM. 1: 237-244. 2004.
- ZUG GR, BALAZS GH, WETHERALL JA, PARKER DM, MURAKAWA SKK Age and growth in Hawaiian green sea turtles (*Chelonia mydas*): an analysis based on skeletochronology. *Fish Bull (Wash DC)*. 100:117–127. 2002.
- ZUG GR, BALAZS GH. Estimating Age in Hawaiian Green Sea Turtles by Skeletochronology. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC. 436: 127-128. 2000.
- ZUG GR, RAND A.S. Estimation of age in nesting female Iguana iguana: testing skeletochronology in tropical lizard. *Amphib-Reptilia*. 8:237-250. 1987.
- ZUG GR, WYNN AH, RUCKDESCHEL C. Age Determination of Loggerhead Sea Turtles, *Caretta caretta*, by Incremental Growth Marks in the Skeleton. *Smithsonian Contributions to Zoology*. 427: 1-34. 1986.

7. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES.

Nº	Descrição	Ago 2008	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2009	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Levant. bibliográfico	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	Coleta de dados	X		X									
3	Piloto técnica de osteocronologia						X						
4	Análise osteocronologia						X	X					
5	Análise dados/redação							X	X	X	X		
6	Elaboração do Resumo e Relatório Final												X
7	Preparação da Apresentação Final												X

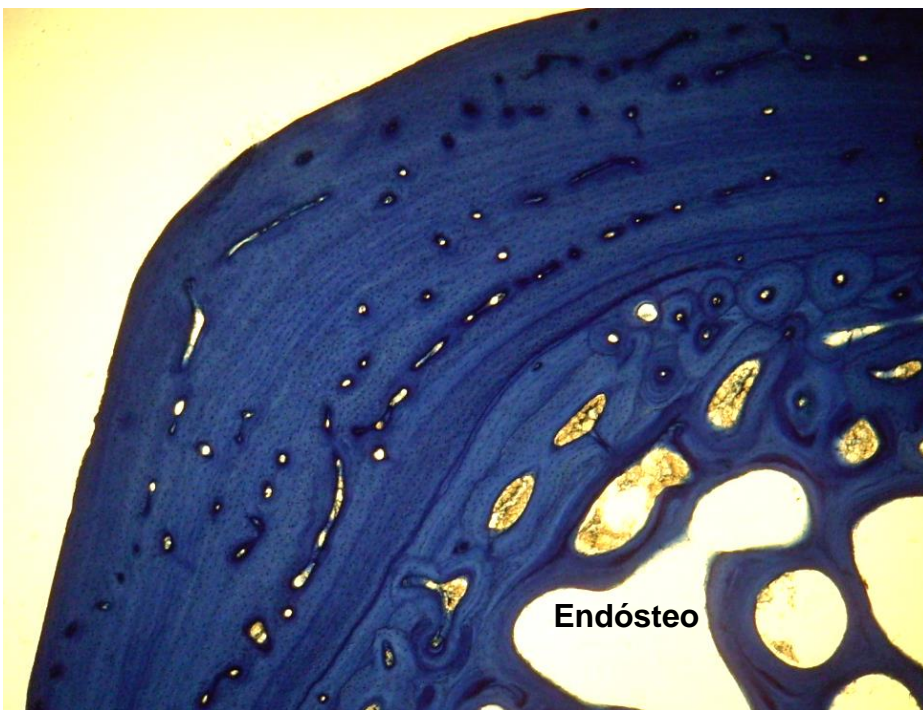
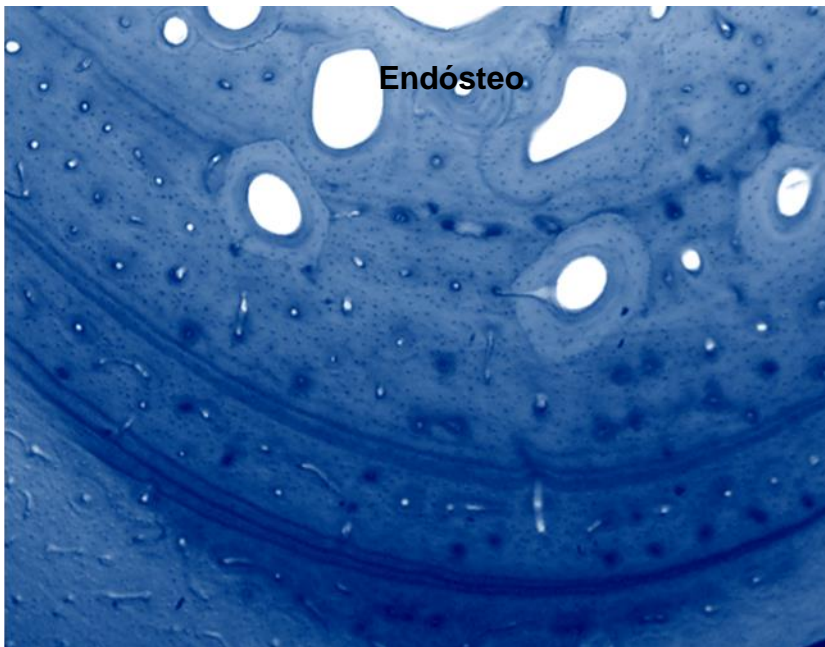
Manaus, 20 de agosto de 2009.

LAÍS CÁSSIA MONTEIRO DE SOUZA BARRETO
Bolsista – CNPq

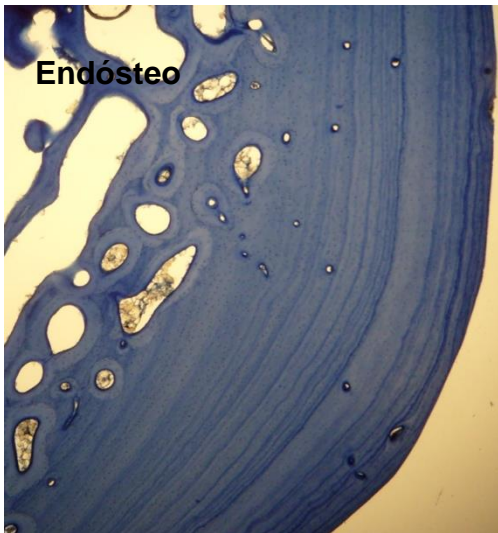


Apêndice-

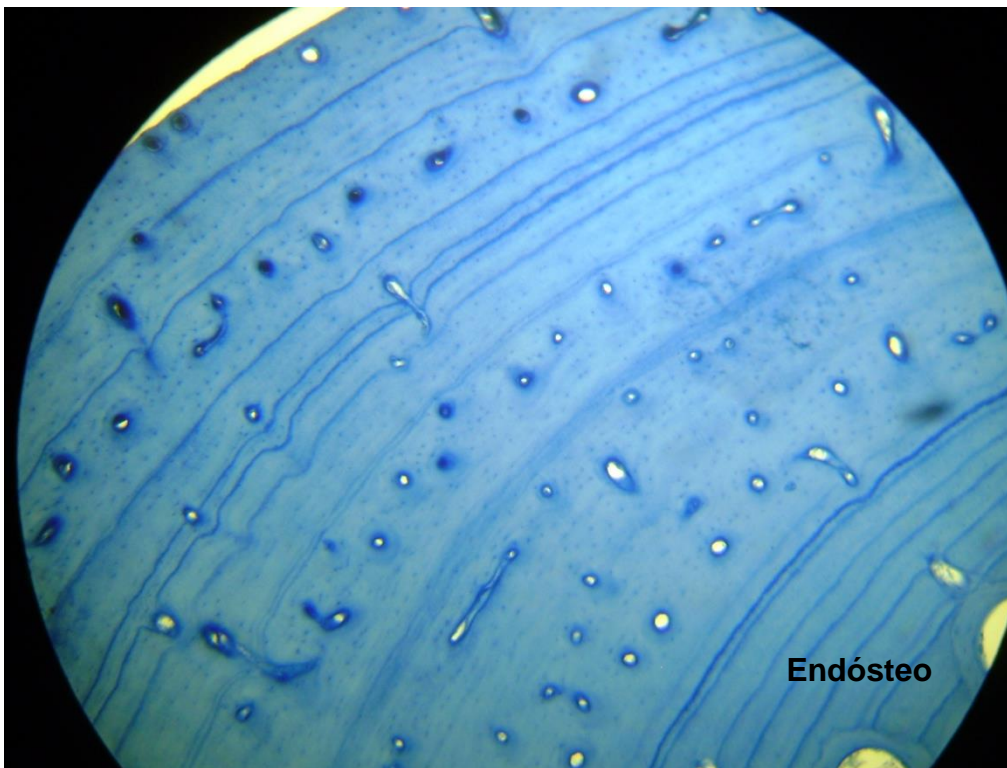
Imagens de corte histológico do úmero de *Podocnemis expansa* visualizadas em microscópio óptico. Figura A indivíduo 8410, B indivíduo 8411, C indivíduo 8412, D indivíduo 8413.



Lâminas histológicas do úmero de *Podocnemis expansa* visualizadas em microscópio óptico. Figura E indivíduo 8414, F indivíduo 8415.

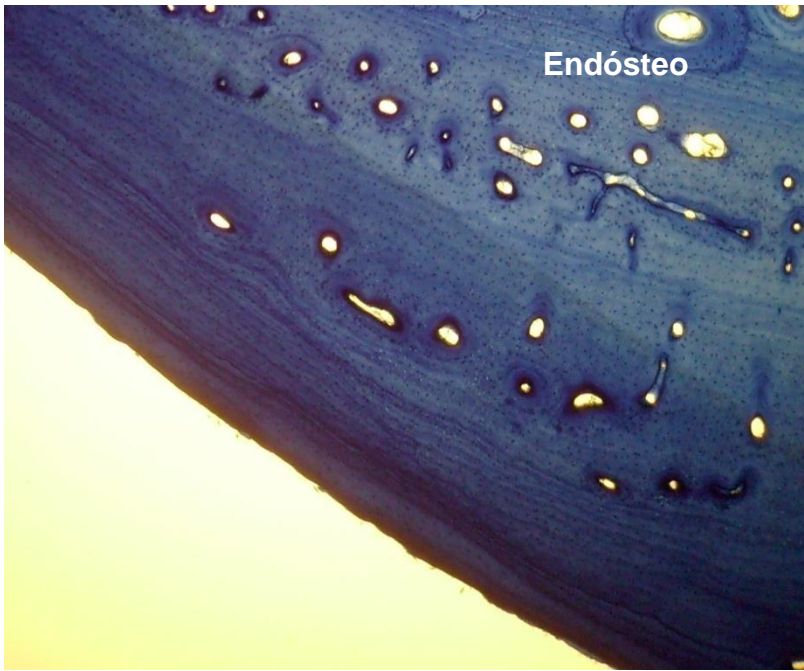


G



H

Cortes histológicos e número de p visualizadas em lupa (figura G) e microscópio óptico (figura H) do indivíduo 8117.



Lâmina histológica do úmero direito do indivíduo 1218470.