



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO - PROPPG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL - PPGCA
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ANA LUCELHA DOS SANTOS SILVA

**EXPOSIÇÃO DO MALATHION NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE
TARTARUGA-DA-AMAZÔNIA (*Podocnemis expansa*): EFEITOS SOBRE O
ESTRESSE OXIDATIVO E NÍVEIS DE METAIS E METALOIDES**

MOSSORÓ

2026

ANA LUCELHA DOS SANTOS SILVA

**EXPOSIÇÃO DO MALATHION NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE
TARTARUGA-DA-AMAZÔNIA (*Podocnemis expansa*): EFEITOS SOBRE O
ESTRESSE OXIDATIVO E NÍVEIS DE METAIS E METALOIDES**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Morfofisiologia Animal

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Bezerra
de Moura

Co-orientadora: Dra. Rachel Ann Hauser
Davis

MOSSORÓ

2026

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

S586e Silva, Ana Lucelha dos Santos.
Exposição do malathion no desenvolvimento
embrionário de tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis
expansa*): efeitos sobre o estresse oxidativo e
níveis de metais e metaloides. / Ana Lucelha dos
Santos Silva. - 2026.
84 f. : il.

Orientador: Carlos Eduardo Bezerra de Moura.
Coorientadora: Rachel Ann Hauser-Davis.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
, 2026.

1. Ecotoxicologia. 2. Embrião. 3. Quelônios
amazônicos. 4. Pesticida. I. Moura, Carlos Eduardo
Bezerra de, orient. II. Hauser-Davis, Rachel Ann,
co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ANA LUCELHA DOS SANTOS SILVA

**EXPOSIÇÃO DO MALATHION NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE
TARTARUGA-DA-AMAZÔNIA (*Podocnemis expansa*): EFEITOS SOBRE O
ESTRESSE OXIDATIVO E NÍVEIS DE METAIS E METALÓIDES**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Morfofisiologia Animal

Defendida em: 24/ 02/ 2026.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Eduardo Bezerra de Moura
(UFERSA)
Presidente

Prof^ª. Dr^ª. Cibele dos Santos Borges (UFERSA)
Membro Examinador

Prof^ª. Dr^ª. Marcela dos Santos Magalhães (UFAM)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me sustentar e me conceder força, saúde e perseverança ao longo dessa caminhada, especialmente nos momentos em que pensei em desistir.

À minha família por ser meu porto seguro, por me acolher nos momentos que mais precisei, em especial minha mãe, Ana Celia dos Santos Silva, e meu irmão, João Lucas dos Santos Alves. Vocês são, literalmente, a sensação familiar que me faz continuar e persistir.

Gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Eduardo Bezerra de Moura, pela paciência, apoio, conselhos, ensinamentos e por acreditar em mim, mesmo diante das dificuldades e limitações encontradas ao longo do estudo.

Assim como às mulheres incríveis que tive o prazer de conhecer e trabalhar, Prof^a. Dr^a. Marcela dos Santos Magalhães e Dr^a. Rachel Ann Hauser-Davis, pelas contribuições e por toda a atenção dedicada. O apoio e orientação de vocês foi fundamental para a realização desta dissertação.

Agradeço à Prof^a. Cibele dos Santos Borges, por mais uma vez estar presente e pelas valiosas contribuições que certamente enriqueceram esta pesquisa.

Ao meu parceiro de vida, Alan William da Silva Medeiros, agradeço muito por toda paciência, amor, apoio, incentivo e compreensão. Você foi essencial nessa jornada, obrigada por estar sempre presente e acreditar em mim, até quando nem eu mesma acredito.

À minha amiga, Myllena Valença Dorgon, que tive a sorte de dividir novas experiências e aventuras durante a temporada no Rio de Janeiro. O seu apoio e amizade foram essenciais durante essa etapa.

Aos amigos presentes desde a graduação, Livia Horrana, Renata Gleysiane, Rhana Beatriz Mendonça, Mateus Limério, Henrique Calixto, Gustavo Bryan, João Artur e Carlos Alberto, que estiveram presentes de alguma forma durante essa jornada, sempre torcendo por mim, oferecendo apoio, palavras de incentivo e leveza nos momentos mais difíceis.

Agradeço aos meus amigos de laboratório, que dividiram essa etapa comigo e me ajudaram sempre que precisei, muito obrigada Layla Ianca e Guilherme Ramon.

À Axia Energia e ao CPPMQA pela disponibilização dos ovos. À Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFERSA e a todos os que fazem parte do Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental do Instituto Oswaldo Cruz, pela oportunidade de realização do mestrado e pelo suporte institucional.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa de mestrado, fundamental para a realização deste trabalho.

Às tartaruguinhas que fizeram parte desta pesquisa. Que o conhecimento gerado a partir de vocês retorne em forma de proteção e cuidado.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho.

*Esforçai-vos, e ele fortalecerá o vosso coração,
vós todos que esperais no Senhor.*

Salmos 31:24

RESUMO

Os sistemas de água doce da Amazônia vêm sendo impactados por contaminantes químicos, incluindo pesticidas organofosforados. Quelônios como *Podocnemis expansa* podem atuar como bioindicadores, mas os efeitos da exposição embrionária a esses pesticidas no equilíbrio redox e nos perfis de metais e metaloides são limitados. O presente estudo buscou avaliar o impacto do malathion na expressão de biomarcadores de estresse oxidativo e nos níveis de metais e metaloides durante o desenvolvimento embrionário da tartaruga-da-Amazônia. Ovos foram incubados artificialmente sob condições controladas e distribuídos em um grupo controle e três tratamentos nominais com malathion (T1: 0,53 $\mu\text{g L}^{-1}$; T2: 5,3 $\mu\text{g L}^{-1}$; T3: 53 $\mu\text{g L}^{-1}$) durante todo o período de incubação. Embriões foram amostrados aos 40 e 50 dias de desenvolvimento, e os filhotes foram avaliados após a eclosão (controle vs. tratamento mais alto devido às limitações de amostra). Foram determinados os níveis hepáticos de glutathiona reduzida (GSH), capacidade antioxidante total (CAOT; ensaio TEAC) e carbonilação proteica, e quantificadas as concentrações totais de metais e metaloides por ICP-MS em tecidos selecionados. Devido ao tamanho limitado das amostras, os resultados foram avaliados descritivamente (medianas e intervalos interquartis). Ao longo dos estágios de desenvolvimento, os biomarcadores redox hepáticos apresentaram padrões dependentes do estágio e da exposição. Os valores de GSH apresentaram maior dispersão em embriões de 40 dias dos grupos expostos e uma tendência de aumento com o desenvolvimento, com maiores medianas em embriões de 50 dias e filhotes expostos ao tratamento T3, assim como na carbonilação proteica. A CAOT foi menor em embriões de 50 dias do grupo T3, enquanto filhotes do mesmo grupo apresentaram valores mais elevados. A distribuição de metais e metaloides foi específica por tecido e frequentemente exibiu medianas e/ou dispersão elevadas no tratamento intermediário aos 50 dias (50dT2) em múltiplos tecidos, enquanto filhotes do grupo T3 apresentaram maior acúmulo nominal de elementos essenciais selecionados (Cu/Se/Zn) em tecidos metabolicamente ativos e em mineralização. Embora seja um estudo descritivo, com tamanho amostral limitado, não permitindo inferências conclusivas sobre toxicidade, os achados sugerem respostas fisiológicas associadas à exposição ao malathion durante fases iniciais do desenvolvimento, reforçando a necessidade de estudos futuros com delineamentos experimentais mais robustos e confirmação analítica da exposição.

Palavras-chave: Ecotoxicologia, embrião, quelônios amazônicos, pesticida.

ABSTRACT

Amazonian freshwater systems have been increasingly impacted by chemical contaminants, including organophosphate pesticides. Chelonians such as *Podocnemis expansa* may act as bioindicators; however, the effects of embryonic exposure to these pesticides on redox balance and metal and metalloid profiles remain limited. The present study aimed to evaluate the impact of malathion on the expression of oxidative stress biomarkers and on metal and metalloid levels during the embryonic development of the Amazon river turtle. Eggs were artificially incubated under controlled conditions and assigned to a control group and three nominal malathion treatments (T1: 0.53 $\mu\text{g L}^{-1}$; T2: 5.3 $\mu\text{g L}^{-1}$; T3: 53 $\mu\text{g L}^{-1}$) throughout the entire incubation period. Embryos were sampled at 40 and 50 days of development, and hatchlings were evaluated after hatching (control vs. highest treatment due to sample limitations). Hepatic levels of reduced glutathione (GSH), total antioxidant capacity (TAC; TEAC assay), and protein carbonylation were determined, and total concentrations of metals and metalloids were quantified by ICP-MS in selected tissues. Due to the limited sample size, results were assessed descriptively (medians and interquartile ranges). Across developmental stages, hepatic redox biomarkers exhibited stage- and exposure-dependent patterns. GSH values showed greater dispersion in 40-day embryos from exposed groups and a tendency to increase with development, with higher medians in 50-day embryos and hatchlings exposed to T3, as well as in protein carbonylation levels. TAC was lower in 50-day embryos from the T3 group, whereas hatchlings from the same group presented higher values. The distribution of metals and metalloids was tissue-specific and frequently showed elevated medians and/or dispersion in the intermediate treatment at 50 days (50dT2) across multiple tissues, while T3 hatchlings exhibited nominally higher accumulation of selected essential elements (Cu/Se/Zn) in metabolically active and mineralizing tissues. Although this is a descriptive study with a limited sample size, precluding definitive inferences regarding toxicity, the findings suggest physiological responses associated with malathion exposure during early developmental stages, reinforcing the need for future studies with more robust experimental designs and analytical confirmation of exposure.

Keywords: Ecotoxicology, embryo, Amazonian chelonians, pesticide.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Figura 1. Espécies da família Podocnemididae. (A) *Podocnemis expansa*; (B) *Podocnemis unifilis*; (C) *Podocnemis sextuberculata*; (D) *Podocnemis erythrocephala*; (E) *Peltocephalus dumerilianus*. Fonte: Fotografias de autores diversos, disponíveis em BioDiversity4All (2024).....19

CAPÍTULO 2 – EMBRYONIC EXPOSURE TO MALATHION ALTERS OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS AND METAL(LOID) LEVELS IN THE AMAZON RIVER TURTLE (*Podocnemis expansa*)

Figura 1. Concentração de glutathione reduzida (GSH) ($\mu\text{mol g}^{-1}$) em tecido hepático de *Podocnemis expansa* submetidos a diferentes grupos experimentais. Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).....52

Figura 2. Níveis de carbonilação proteica ($\mu\text{mol L}^{-1}$) em *Podocnemis expansa* como biomarcador de dano oxidativo. Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).....53

Figura 3. Capacidade Antioxidante Total (CAOT) em amostras de *Podocnemis expansa* durante o desenvolvimento embrionário e pós-eclosão. Os valores estão expressos em mM/g de proteína (PTN). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).....54

Figura 4. Distribuição das concentrações (mg kg^{-1}) de metais e metaloides em músculo de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Cobre (Cu); (B) Manganês (Mn); (C) Rubídio (Rb); (D) Selênio (Se); (E) Titânio (Ti); (F) Zinco (Zn). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes;

C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).....56

Figura 5. Distribuição das concentrações (mg kg^{-1}) de metais e metaloides em fígado de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Arsênio (As); (B) Cádmio (Cd); (C) Cobre (Cu); (D) Ferro (Fe); (E) Manganês (Mn); (F) Selênio (Se). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).....57

Figura 6. Distribuição das concentrações (mg kg^{-1}) de metais e metaloides em carapaça de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Arsênio (As); (B) Bário (Ba); (C) Cobre (Cu); (D) Rubídio (Rb); (E) Selênio (Se); (F) Zinco (Zn). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).....59

Figura 7. Distribuição das concentrações (mg kg^{-1}) de metais e metaloides em unha de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Arsênio (As); (B) Bário (Ba); (C) Cádmio (Cd); (D) Manganês (Mn); (E) Rubídio (Rb); (F) Estrôncio (Sr)Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).....60

Figura 8. Distribuição das concentrações (mg kg^{-1}) de metais e metaloides em olho de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Arsênio (As); (B) Bário (Ba); (C) Cádmio (Cd); (D) Selênio (Se); (E) Titânio (Ti); (F) Zinco (Zn). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).....61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)
AChE	Acetilcolinesterase
Al	Alumínio
As	Arsênio
Ba	Bário
BSA	Albumina sérica bovina
CAOT	Capacidade Antioxidante Total
CAT	Catalase
CEUA	Comissão de Ético de Uso de Animais
Cd	Cádmio
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTNB	5,5'-Ditiobis(2-nitrobenzoico)
DNPH	2,4-Dinitrofenilhidrazina
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Fe	Ferro
FISPQ	Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos
GSH	Glutathione reduzida
GPx	Glutathione peroxidase
Hg	Mercúrio
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IUCN	International Union for Conservation of Nature
LAPSA	Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental
MAL	Malathion
MDA	Malondialdeído
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
Pb	Chumbo

PBS	Solução salina tamponada com fosfato (Phosphate Buffered Saline)
Rb	Rubídio
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
Se	Selênio
SISBIO	Sistema de Informação e Autorização da Biodiversidade
SNC	Sistema Nervoso Central
Sr	Estrôncio
SOD	Superóxido dismutase
TAC	Total Antioxidant Capacity
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TOCP	Tri-orto-cresil fosfato
Ti	Titânio
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
Zn	Zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau Celsius
g	Gramma(s)
km²	Quilômetro quadrado
L	Litro
mL	Mililitro
min	Minuto(s)
mol L⁻¹	Mol por litro
mmol L⁻¹	Milimol por litro
µg L⁻¹	Micrograma por litro
µL	Microlitro
ng L⁻¹	Nanograma por litro
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
rpm	Rotações por minuto
v/v	Volume/volume
%	Porcentagem
'	Minuto (coordenadas geográficas)
''	Segundo (coordenadas geográficas)

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Quelônios: diversidade, evolução e características gerais.....	17
2.2 Quelônios no Brasil e na Amazônia.....	17
2.3 Família Podocnemididae.....	17
2.4 Ameaças antrópicas aos quelônios amazônicos.....	20
2.5 Contaminação ambiental em ecossistemas aquáticos amazônicos.....	20
2.6 Malathion: uso, exposição e efeitos tóxicos.....	22
2.7 Estresse oxidativo como mecanismo de toxicidade.....	23
2.8 Metais e metaloides no desenvolvimento embrionário.....	24
3 JUSTIFICATIVA.....	27
4 HIPÓTESES CIENTÍFICAS.....	28
5 OBJETIVOS.....	29
5.1 Objetivo Geral.....	29
5.2 Objetivos Específicos.....	29
REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 2 – EMBRYONIC EXPOSURE TO MALATHION ALTERS OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS AND METAL(LOID) LEVELS IN THE AMAZON RIVER TURTLE (<i>Podocnemis expansa</i>).....	43
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
ANEXO A - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO NA REVISTA.....	77
ANEXO B - AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA SISBIO.....	78
ANEXO C - CERTIFICADO CEUA/UFAM.....	83

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

Baseado na demanda mundial de *commodities*, o sistema agrícola brasileiro se arranja de forma que pode levar ao uso extensivo de agrotóxicos e fertilizantes em grande escala (Delgado et al., 1996; Gomes & Barizon, 2014; Oliveira, 2016; de Azeredo Morgado et al., 2023). Geralmente, esses compostos químicos são amplamente utilizados objetivando o controle de vetores de doenças, bem como pragas urbanas e domésticas (Fernandes et al., 2020; Rico et al., 2022). No entanto, o uso intensivo e, muitas vezes, descontrolado desses insumos químicos se torna um problema considerando que cerca de 10-30%, quando aplicados, atingem os solos, enquanto 50-75% daqueles pulverizados não atingem organismos-alvo, sendo absorvidos pelo ambiente (Ribeiro et al., 2005; de Azeredo Morgado et al., 2023). Assim, tais compostos podem infiltrar-se no solo e subsolo, atingindo águas subterrâneas, enquanto outra parte infiltra-se em cursos de água (Hildebrandt et al., 2008; Aparicio et al., 2013; de Azeredo Morgado et al., 2023).

Nesse contexto, a complexa rede hidrológica da região amazônica, dominada pelo Rio Amazonas e seus numerosos afluentes, desempenha um papel crucial no transporte de escoamentos agrícolas, incluindo resíduos de pesticidas, desde o centro das atividades agroindustriais até as áreas mais remotas da floresta tropical (Rico et al., 2022; Cezarette et al., 2024). Além disso, o bioma amazônico, de importância global, abriga uma vasta diversidade de organismos aquáticos e terrestres, incluindo variadas espécies de répteis, grupo este que apresenta alto potencial de exposição a contaminantes ambientais (Hopkins, 2000; Mesak et al., 2019; Rico et al., 2022). Ademais, mesmo diante do declínio populacional global observado para diversas espécies, os répteis permanecem entre os vertebrados menos estudados quanto aos efeitos de poluentes sobre sua biologia, fisiologia e desenvolvimento (Hopkins, 2000; Mesak et al., 2019).

Entre os répteis, os quelônios representam um grupo de grande relevância ecológica, destacando-se a espécie *Podocnemis expansa*, conhecida como tartaruga-da-amazônia, que apresenta papel ecológico essencial para os ecossistemas aquáticos e que podem ser particularmente atingida por alterações ambientais decorrentes de atividades antrópicas (Eisemberg et al., 2016; Mesak et al., 2019). A exposição desses animais a esse contaminantes pode ocorrer tanto pela ingestão da água e alimentos contaminados, quanto pela via dérmica, considerando o seu hábito semi-aquático, com impactos sistêmicos, afetando tanto o

desenvolvimento dos indivíduos expostos quanto a dinâmica de populações (Mesak et al., 2019).

Dentre os contaminantes ambientais, destaca-se o malathion, um dos pesticidas organofosforados mais utilizados atualmente. Embora seja considerado de toxicidade relativamente baixa em comparação a outros compostos da mesma classe, seu uso generalizado pode resultar em exposição excessivamente proveniente de diferentes vias ambientais (Ozsoy et al., 2016; dos Santos et al., 2016; Navarrete-Meneses et al., 2017; Bogen e Singhal, 2017; Badr, 2020). De fato, evidências indicam que o risco advindo da exposição ao malathion pode ser superior ao esperado, uma vez que sua toxicidade está fortemente correlacionada aos seus metabólitos, resultantes da oxidação deste pesticida (Baiomy et al., 2015; Badr, 2020).

Os mecanismos tóxicos do malathion envolvem a inibição de certas enzimas, como a acetilcolinesterase (AChE), o desenvolvimento de estresse oxidativo, indução de respostas inflamatórias, promoção de apoptose, genotoxicidade e imunomodulação (Nicholas et al., 1979; Geng et al., 2015; Guyton et al., 2015; Ince et al., 2017; Badr, 2020). Considerando a identificação deste pesticida em diferentes fontes aquáticas da região Amazônica, sendo, inclusive, relatado por Rico et al. (2022), como o composto com a maior concentração total em um córrego urbano da cidade de Manaus, com concentração máxima de 535 ng L⁻¹, e os diversos relatos ecotoxicológicos sobre a sua teratogenicidade e até a mortalidade de diferentes embriões de animais expostos a este composto, incluindo organismos ovíparos (Wytenbach e Thompson, 1985; Pourmirza, 2000; Ducolomb et al., 2009; Cook, Paradise e Lom, 2009), faz-se necessário o estudo do impacto desse pesticida em espécies expostas da região.

Adicionalmente, deve-se considerar os possíveis efeitos do malathion sobre elementos que desempenham papéis essenciais no desenvolvimento ou na função dos órgãos fetais e neonatais, como diversos metais e metaloides (Ashworth e Antipatis, 2001; Souza et al., 2018). Metais e metaloides abrangem tanto elementos essenciais, como ferro (Fe), selênio (Se) e zinco (Zn), necessários em pequenas quantidades em organismos vivos, quanto elementos não essenciais, como cádmio (Cd), cromo (Cr), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), os quais podem apresentar toxicidade mesmo em baixas concentrações (Filimonova et al., 2016; Morão et al., 2024).

Embora os pesticidas organofosforados sejam compostos orgânicos, geralmente sem metais tóxicos em sua composição (Perezgasga et al., 2012; De Castro et al., 2017), metais e metaloides são frequentemente encontrados acumulados nos solos e rios da Amazônia

(Arrifano et al., 2018, Lopes et al., 2021; Bispo et al., 2024). Dessa forma, a interação dos dois é facilitada no ambiente aquático, podendo resultar em efeitos tóxicos mais pronunciados quando comparados à exposição isolada a cada contaminante (Wallace e Djordjevic, 2020). Dessa forma, a avaliação integrada da exposição a pesticidas e metais durante o desenvolvimento embrionário torna-se fundamental para a compreensão dos riscos ecotoxicológicos, considerando que tanto os excessos quanto as deficiências dos micronutrientes essenciais supracitados refletem efeitos diretos no crescimento e na sobrevivência de organismos vivos, bem como no desenvolvimento molecular, celular, imunológico e morfológico dos animais expostos (Ashworth e Antipatis, 2001).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Quelônios: diversidade, evolução e características gerais

A ordem Testudines ou Chelonia abrange os répteis conhecidos como tartarugas, cágados ou jabutis, bem como bichos de cascos, este último como são conhecidos popularmente na Amazônia (Ferrara et al., 2017). Anatomicamente, os quelônios possuem características únicas, com particularidades que permitiram que esses animais habitassem os mais diversos espaços, desde ecossistemas marinhos e águas continentais, até regiões terrestres tropicais e temperadas (Lovich et al., 2018). Os testudines estão presentes nos ecossistemas há cerca de 220 milhões de anos e, apesar das adaptações durante o processo de evolução global, destacam-se pelas poucas modificações morfológicas (Ferrara et al., 2017; Stanford et al., 2020). Seguida da extinção de muitas espécies pertencentes à esta ordem, atualmente são reconhecidas 356 espécies, distribuídas em 14 família vivas (Turtle Taxonomy Working Group, 2017, 2021; Rhodin et al., 2018; Lovich et al., 2018).

2.2 Quelônios no Brasil e na Amazônia

O Brasil é um país com alta biodiversidade animal, presente no ranking mundial dos cinco países de maior riqueza de quelônios, 36 espécies, sendo cinco destas, tartarugas marinhas e as outras 31, quelônios continentais. Neste sentido, destaca-se a Amazônia Brasileira, com um total de 20 espécies continentais conhecidas, sendo apenas duas terrestres, e as demais, aquáticas ou semiaquáticas, distribuídas em cinco famílias: duas pertencentes à subordem Pleurodira (Podocnemididae e Chelidae), que retraem o pescoço lateralmente, e três pertencentes à subordem Cryptodira (Kinosternidae, Geoemydidae e Testudinidae), que retraem o pescoço para trás em forma de um “S” vertical (Pough et al., 1998; Vogt, 2008; van Dijk et al., 2014; Ferrara et al., 2016; Ferrara et al., 2017). As espécies pertencentes à subordem Pleurodira, anatomicamente, apresentam especializações vertebrais que as permitem dobrar o pescoço em plano horizontal repousando lateralmente a cabeça em frente de um dos membros torácicos, além de possuírem escudos plastrais e pelve fundida (Gaffney et al., 2011; Pérez-García, 2016).

2.3 Família Podocnemididae

A família Podocnemididae abrange oito espécies sobreviventes, a saber: *Erymnochelys madagascariensis* (Grandidier, 1867), *Peltocephalus dumerilianus* (Schweigger, 1812), *Podocnemis erythrocephala* (Spix, 1824), *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812),

Podocnemis lewyana (Duméril, 1852), *Podocnemis sextuberculata* (Cornalia, 1849), *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) e *Podocnemis vogli* (Müller, 1935), encontradas na América do Sul e em Madagascar (Gaffney et al., 2011; Siqueira, 2014). Na região amazônica estão presentes cinco espécies pertencentes a esta família, compreendendo o gênero *Podocnemis*, englobado as espécies *P. expansa*, a tartaruga-da-Amazônia; *P. unifilis*, o tracajá; *P. sextuberculata*, o iaçá ou pitiú; *P. erythrocephala*, a irapuça, e a única do gênero *Peltocephalus*, *Peltocephalus dumerilianus*, conhecida como cabeçudo (Ferrara et al., 2017).

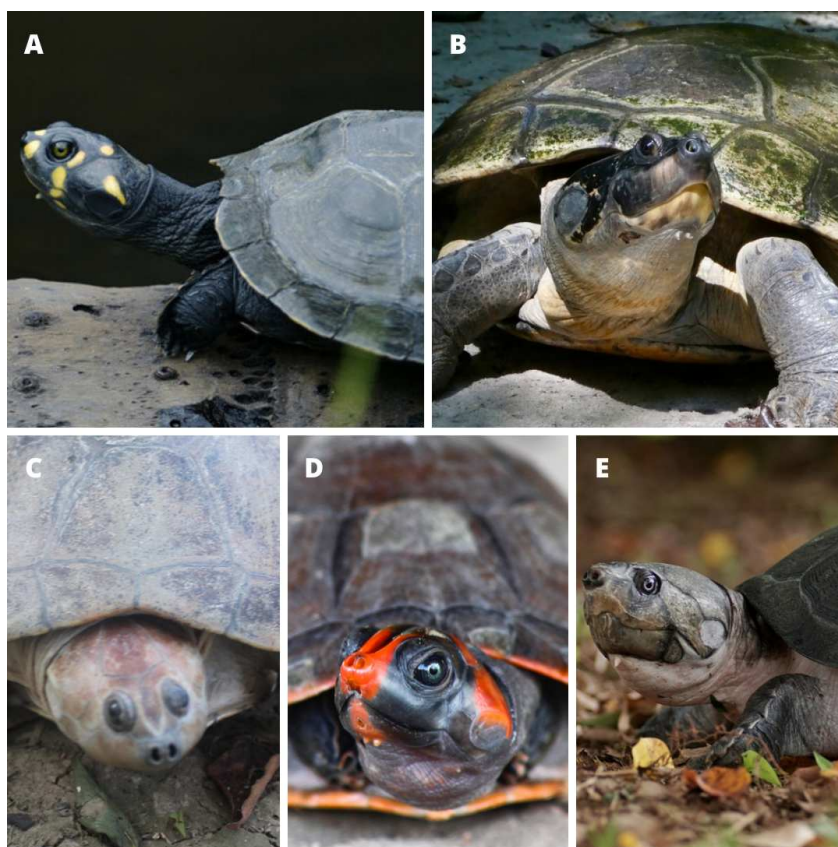


Figura 1. Espécies da família Podocnemididae. (A) *Podocnemis unifilis*; (B) *Podocnemis expansa*; (C) *Podocnemis sextuberculata*; (D) *Podocnemis erythrocephala*; (E) *Peltocephalus dumerilianus*. Fonte: Fotografias de autores diversos, disponíveis em BioDiversity4All (2024).

A espécie alvo deste estudo, *P. expansa* (Schweigger 1812), apresenta ampla distribuição nos sistemas hidrográficos da bacia Amazônica e na bacia do Orinoco, ocorrendo em todos os estados do Norte do Brasil, constituído pelo Acre, Pará, Amazonas, Tocantins, Rondônia, Roraima e Amapá, assim como no Nordeste, no estado do Maranhão e Centro Oeste, nos estados de Mato Grosso e Goiás (Vogt, 2008; Ferrara et al., 2017). A

tartaruga-da-amazônia é considerada o maior quelônio de água doce da América do Sul e a maior espécie de seu gênero, apresentando como medidas a carapaça com comprimento médio de 70 cm (65-79 cm) e pesando em média 25 kg (15-45 kg), onde as fêmeas são maiores que os machos (Ferrara et al., 2017). Apresenta dimorfismo sexual, quando adultos, em que os machos possuem a cauda mais comprida e larga que as fêmeas e cabeça desta apresenta coloração marrom escuro, enquanto a dos machos apresenta manchas amarelas (Ferrara et al., 2017). A época reprodutiva ocorre durante a estação seca, com variações de acordo com a localidade e o ciclo de inundação dos rios, onde as tartarugas migram à procura das áreas de desova, os tabuleiros que são as praias arenosas (Cantarelli et al., 2014).

A determinação do sexo dos indivíduos, assim como em outras espécies do gênero *Podocnemis*, se dá pela temperatura de incubação dos ovos, em que temperaturas em torno de 30,5°C, induzem a uma maior proporção de machos e temperaturas mais altas, atingindo 34,5°C, levam a uma maior proporção de fêmeas (Bonach et al., 2011, Ferrara et al., 2017). A desova ocorre anualmente onde, em média, 100 ovos de formato esférico medindo cerca de 36 e 49 mm de diâmetro e pesando entre 24 e 35g são postos (Ferrara et al., 2017).

O desenvolvimento embrionário de *P. expansa* varia de região para região e pode ocorrer ao longo de um período de incubação de aproximadamente 58 a 64 dias (Magalhães et al., 2017). A descrição embrionária feita por Magalhães et al. (2017) se baseia na sequência de aparecimento de estruturas como olhos, processo mandibular, membros, carapaça e plastrão, com estágios definidos de desenvolvimento morfológico ao longo do tempo, as quais aparecem em uma ordem relativamente conservada para quelônios. Comparado com o padrão de desenvolvimento de outras tartarugas, *P. expansa* apresenta certos eventos morfológicos mais precoces e algumas características únicas, como morfologia craniofacial e padrões particulares de escudos do casco. Esse estadiamento detalhado auxilia na compreensão da evolução embrionária da espécie, tanto para fins comparativos quanto para estratégias de manejo e conservação de ninhos (Magalhães et al., 2017).

De acordo com os critérios da Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), das 356 espécies de quelônios, 127 espécies estão Criticamente em Perigo (Rhodin et al., 2018). Segundo o status de conservação publicado na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da International Union for Conservation of Nature (IUCN, 2025), a *P. expansa* encontra-se listada como sendo de Baixo Risco: Dependente da Conservação. Contudo, apesar da sua classificação e das vantagens devido a capacidade de adaptação das espécies deste grupo, os quelônios possuem certa vulnerabilidade em meio às rápidas mudanças ambientais motivadas pelos seres humanos devido a certos aspectos do seu

desenvolvimento, como demora para atingir a maturidade, período reprodutivo longo e longevidade extrema (Shaffer et al., 2017).

2.4 Ameaças antrópicas aos quelônios amazônicos

Diversos fatores antrópicos têm contribuído significativamente para o rápido declínio das populações de quelônios documentadas mundialmente, incluindo a perda e degradação de habitat, considerando a construção de usinas hidrelétricas e mudanças climáticas, além da coleta excessiva de tartarugas e seus ovos para o consumo alimentar por humanos e o comércio internacional de animais de estimação e de medicamentos tradicionais (Andrade et al., 2015; Rhodin et al., 2018).

Entre essas ameaças, destaca-se a exploração direta, caracterizada pela pressão de caça e pesca sobre as populações naturais. Embora essa prática possua caráter histórico e milenar na região Amazônica, sendo tradicionalmente associada à subsistência e ao sustento alimentar e econômico de populações ribeirinhas e indígenas, o aumento da pressão antrópica, aliado à redução dos estoques naturais, tem contribuído para a intensificação do impacto sobre diversas espécies de quelônios (Caputo, Canestrelli e Boitani, 2005; Rebêlo et al., 2005; Félix-Silva et al., 2019). Além disso, a crescente regulamentação, ao longo da bacia amazônica, em função da implantação de empreendimentos hidrelétricos têm resultado em consequências diretas e indiretas sobre as populações aquáticas. Entre os principais efeitos estão declínios populacionais, a interrupção do fluxo gênico e a redução da variabilidade genética, especialmente em espécies migratórias (Pezzuti et al., 2016; Ferrara et al., 2017; Félix-Silva et al., 2019). Soma-se a isso a perda de áreas reprodutivas e a diminuição da disponibilidade de recursos alimentares, agravadas pela exploração descontrolada dos estoques naturais (Andrade et al., 2015; Ferrara et al., 2017).

2.5 Contaminação ambiental em ecossistemas aquáticos amazônicos

Associada a esse cenário, a contaminação ambiental tem se intensificado nos ecossistemas aquáticos amazônicos, impulsionada pelo atual modelo agrícola brasileiro, orientado para atender às demandas globais de *commodities* (de Azeredo Morgado et al., 2023). Devido a características climáticas favoráveis e à abundância de solos férteis e cultiváveis, o Brasil se destaca no cenário global, sendo um dos maiores produtores e o segundo maior exportador mundial de produtos agrícolas (Cezarette et al., 2024). A região amazônica, com suas características físicas naturais, apresenta alto potencial agrícola, o que contribui para a expansão das fronteiras agrícolas, também impulsionada pela crescente

demanda global, levando ao desmatamento generalizado e à conversão de florestas tropicais em áreas de cultivo (de Azeredo Morgado et al., 2023; Cezarette et al., 2024). No entanto, o aumento dessas atividades tornou-se uma questão preocupante, pois intensifica a poluição ambiental. Soma-se a isso a questão da falta de saneamento urbano, que contribui para a alta prevalência de doenças endêmicas transmitidas por vetores em áreas urbanas da Amazônia, tornando necessária a utilização de pesticidas (Castro et al., 2019; Rico et al., 2022; Cerazette et al., 2024).

De modo geral, os pesticidas, também denominados defensivos agrícolas, correspondem a um grupo de substâncias químicas ou biológicas utilizadas no controle de organismos considerados prejudiciais à produção agrícola, incluindo insetos, plantas daninhas, fungos e outros organismos (Badr, 2020; Okolonkwo, Amadi e Chimekagbe, 2022). Esses compostos podem ser classificados de acordo com seu alvo biológico, destacando-se os inseticidas, herbicidas, fungicidas e acaricidas, entre outros (Okolonkwo, Amadi e Chimekagbe, 2022). Nas últimas décadas, a utilização de pesticidas em diferentes partes do mundo progrediu, objetivando aumentar a produtividade agrícola, além de minimizar perdas (Bhardwaj e Saraf, 2014; Badr, 2020).

No entanto, esses compostos não são isentos de riscos, representando importantes fontes de poluição ambiental e estando associados a efeitos adversos à saúde humana e à biota, alguns dos quais podem ser irreversíveis (LaVerda et al., 2015; Navarrete-Meneses et al., 2017; Badr, 2020). Tanto pesticidas quanto fertilizantes sintéticos contêm compostos químicos que não são totalmente absorvidos e metabolizados pelos organismos e que, quando aplicados, acabam dispersos em compartimentos ambientais adjacentes (Giesy et al., 2000; Mamy et al., 2016; de Azeredo Morgado et al., 2023). Dentre esses, os inseticidas organofosforados destacam-se entre os mais utilizados, tanto na agricultura quanto no controle de vetores e na medicina veterinária, em razão de sua elevada eficiência biológica (Prakash e Venkatesh, 1996; Ducolomb et al., 2009; Okolonkwo, Amadi e Chimekagbe, 2022).

Mesmo em baixas doses, a exposição a organofosforados pode resultar em intoxicações em vertebrados, principalmente por meio da inibição da AChE, levando à neurotoxicidade, fraqueza muscular e, em casos mais severos, paralisia após períodos prolongados de exposição (Jokanovic, 2001; Ducolomb et al., 2009). Diversos estudos relatam efeitos citotóxicos de compostos dessa classe, como o diazinon e malathion (Giordano et al., 2007), além de evidências de genotoxicidade (Blasiak et al., 1999; Giri et al., 2002) e

danos teratogênicos em diferentes modelos animais (Hamm e Hinton, 2000), bem como em humanos (Eskenazi et al., 2004; Navarrete-Meneses et al., 2017; Badr, 2020.).

2.6 Malathion: uso, exposição e efeitos tóxicos

O malathion [S-(1,2-dicarbetoetil) O,O-dimetilditiofosfato] é um inseticida organofosforado amplamente utilizado desde a década de 1980 em atividades agrícolas, industriais e na medicina veterinária para o controle de vetores e ectoparasitas (Ozsoy et al., 2016; Bogen e Singhal, 2017; Badr, 2020). Por apresentar toxicidade aguda relativamente menor quando comparado a outros organofosforados, o malathion tornou-se um dos pesticidas mais empregados globalmente, o que contribui para sua ampla dispersão ambiental e aumento do risco de exposição de organismos não alvo (Badr, 2020).

Além da poluição ambiental como consequência deste uso generalizado, há também aumento da extensão da exposição, onde indivíduos podem ser expostos através de diferentes vias (dos Santos et al., 2016; Navarrete-Meneses et al., 2017; Badr, 2020). A toxicidade aguda do malathion ocorre principalmente por via oral (Esen e Uysal, 2018), mas também por absorção dérmica (Geng et al., 2015), conjuntival (Kamanyire e Karalliedde, 2004) e exposição respiratória por meio ocupacional ou não-ocupacional durante contato com plantas e solos contaminados, além de trabalho em fábricas de pesticidas, manuseio e aplicação ou derramamentos acidentais (Machera et al., 2003; Ozsoy et al., 2016). Evidências da ampla disseminação desse composto incluem a detecção, inclusive, de vestígios de malathion no sangue, urina e cabelo de mulheres grávidas, o que reforça a preocupação quanto à exposição crônica e aos possíveis efeitos durante o desenvolvimento embrionário (Bossi et al., 2013; Navarrete-Meneses et al. 2017).

A toxicidade do malathion é influenciada por diversos fatores, como dose e duração da exposição, via de entrada, idade e estado de saúde do indivíduo (Rosas e Eskenazi, 2008; Sánchez-Santed et al., 2016; Badr, 2020). Estudos experimentais e observacionais apontam que a exposição a esse inseticida pode estar associada à disfunção de diversos órgãos, incluindo fígado, rins, pâncreas, testículos e cérebro, podendo também levar a alterações metabólicas sistêmicas (Ozsoy et al. 2016; Esen e Uysal, 2018; Badr, 2020).

Entre os mecanismos de toxicidade do malathion compreendidos até o momento, o principal é a inibição da AChE, resultando no acúmulo de acetilcolina nas sinapses e na estimulação excessiva dos receptores muscarínicos e nicotínicos, desencadeando manifestações colinérgicas nos sistemas nervoso central, periférico e autônomo (Milesen et al., 1998; Esen e Uysal, 2018; Sapbamrer e Hongsisong, 2019; Badr, 2020). No entanto, a

inibição da AChE, isoladamente, não explica a série de efeitos tóxicos observados após a exposição ao malathion, especialmente em situações de exposição crônica ou subletal (Badr, 2020).

Dessa forma, o estresse oxidativo tem sido proposto como um dos principais mecanismos envolvidos na toxicidade, tanto aguda quanto crônica, desse organofosforado. Devido sua natureza lipofílica, o malathion pode interagir diretamente com a bicamada fosfolipídica das membranas celulares, promovendo alterações estruturais, disfunção mitocondrial e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Ozsoy et al., 2016; Badr, 2020). Esse desequilíbrio entre a geração de oxidantes e os sistemas de defesa antioxidante pode resultar em danos oxidativos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, comprometendo a integridade e a funcionalidade celular (Kiran, Otlu e Karabulut, 2023).

Além disso, estudos indicam que o malathion pode induzir respostas inflamatórias, apoptose, genotoxicidade e imunomodulação, reforçando seu potencial tóxico em diferentes níveis biológicos (Nicholas et al., 1979; Geng et al., 2015; Guyton et al., 2015; Ince et al., 2017; Badr, 2020). Em organismos aquáticos e em modelos experimentais ovíparos, como o zebrafish (*Danio rerio*), há evidências de efeitos adversos durante o desenvolvimento embrionário, incluindo redução do sucesso de eclosão, malformações e aumento da mortalidade, o que destaca a relevância de investigar os impactos subletais desse pesticida nas fases iniciais do desenvolvimento (Wytenbach e Thompson, 1985; Pourmirza, 2000; Ducolomb et al., 2009; Cook, Paradise e Lom, 2009; Rahman et al., 2020).

2.7 Estresse oxidativo como mecanismo de toxicidade

Considerando que o estresse oxidativo constitui um importante mecanismo de toxicidade associado à exposição a contaminantes ambientais, sua avaliação é feita por meio da mensuração de múltiplos biomarcadores, cada um expressando diferentes características que dizem sobre o dano oxidativo ou da defesa antioxidante (Frijhoff et al. 2015; Kiran, Otlu e Karabulut, 2023). Entre esses biomarcadores destacam-se aqueles relacionados aos produtos de oxidação de proteínas e outros componentes celulares, indicando modificações estruturais, resultantes da ação de ROS, refletindo em disfunções celulares (Frijhoff et al. 2015; Ghezzi, 2020; Kiran, Otlu e Karabulut, 2023). Nesse contexto, a carbonilação proteica é amplamente utilizada como marcador de dano oxidativo a proteínas (Ghezzi, 2020).

Outro importante biomarcador é a Capacidade Antioxidante Total (CAOT), que revela o equilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes, permitindo uma avaliação geral da eficiência do sistema antioxidante frente a possíveis danos oxidativos (Katerji, Filippova e

Duerksen-Hughes, 2019; Ghezzi, 2020). Além disso, estudos demonstram que a exposição ao malathion está associada ao aumento da peroxidação lipídica (Durak et al., 2009; Bhardwaj et al., 2018; Badr, 2020), compreendendo dano aos lipídios de membrana, indicando lesão oxidativa celular (Ghezzi, 2020; Li et al., 2023), desencadeada pela geração excessiva de ROS e pode ser analisada através da determinação de malondialdeído (MDA), um composto orgânico reativo e produto da peroxidação lipídica (Ghezzi, 2020; Li et al., 2023). Esse fenômeno geralmente vem acompanhado por alterações, seja inibição ou ativação, do sistema de defesa antioxidante em diferentes órgãos (Flehi-Slim et al. 2015; Badr, 2020). Ademais, evidências indicam que o malathion pode também comprometer a atividade das defesas antioxidantes celulares não-enzimáticas, como a glutatona reduzida (GSH).

A determinação desses biomarcadores se tornam importantes também durante o desenvolvimento embrionário, considerando que, em casos de exposição a fatores exógenos (como poluentes, toxinas e radiação), aumenta-se o risco de danos oxidativos, com consequências potencialmente adversas para o desenvolvimento embrionário e a aptidão a longo prazo (Halliwell e Gutteridge, 2015; Watson et al., 2018). Sabe-se que, em espécies ovíparas, o estresse oxidativo decorre normalmente do metabolismo acelerado e de ROS maternos, sendo atenuado por antioxidantes do vitelo e por sistemas antioxidantes embrionários, necessitando de elementos que atuem e auxiliem na proteção do embrião (Watson et al., 2018).

2.8 Metais e metaloides no desenvolvimento embrionário

Em vertebrados amniotas ovíparos, destaca-se a relevância de oligoelementos como nutrientes essenciais para o desenvolvimento do embrião, os quais são transferidos principalmente para a prole durante a formação do ovo, por meio da vitelogênese, deposição de albumina ou deposição de casca (Van Dyke, Hopkins e Jackson, 2013; Van Dyke et al., 2014). Entre esses elementos estão certos metais e metaloides, classificados de acordo com a Tabela Periódica com base em suas propriedades físico-químicas e no tipo de ligação química predominante, o que influencia diretamente seu comportamento biológico e ambiental (Marzo e La Mendola, 2021). De modo geral, os metais apresentam maior condutividade elétrica e tendência à formação de ligações metálicas e iônicas, enquanto os metaloides têm propriedades intermediárias, são semicondutores, covalentes e mais frágeis, apresentando características entre metais e não metais (Marzo e La Mendola, 2021; Dutta et al., 2020).

Esses elementos incluem tanto elementos essenciais, aqueles requeridos em pequenas quantidades para o funcionamento fisiológico adequado, como cobre (Cu), ferro (Fe),

magnésio (Mg), selênio (Se) e zinco (Zn), quanto elementos não essenciais, que são potencialmente tóxicos e sem função biológica essencial conhecida, como alumínio (Al), arsênio (As), bário (Ba), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cromo (Cr), estrôncio (Sr), mercúrio (Hg) e titânio (Ti) (Filimonova et al., 2016; Morão et al., 2024). A origem desses microelementos em animais ovíparos pode estar associada à dieta, estágio de vida ou mesmo pelo contato de ovos com areias de praias de nidificação, além da exposição ambiental a contaminantes químicos (Aguirre e Lutz, 2004; Çelik et al., 2006; Souza et al., 2018).

Nesse contexto, apesar de os organofosforados serem compostos orgânicos, geralmente ésteres ou derivados de tiol de ácidos fosfóricos, fosfínicos ou fosforamídicos, e não apresentarem metais tóxicos em sua composição (Perezgasga et al., 2012; De Castro et al., 2017), a interação entre esses compostos e os metais presentes no ambiente pode potencializar seus efeitos adversos. Na região amazônica, a recorrente acumulação de metais em solos e corpos d'água tem sido amplamente reportada (Arrifano et al., 2018; Lopes et al., 2021; Bispo et al., 2024), o que pode facilitar a interação com os pesticidas no ambiente aquático. Evidências, de fato, sugerem que a exposição combinada a esses contaminantes pode resultar em efeitos tóxicos mais pronunciados do que aqueles observados quando os compostos atuam de forma isolada (Wallace e Djordjevic, 2020), incluindo alterações imunopatológicas, carcinogênicas e teratogênicas, com comprometimento dos sistemas neural, cardiovascular, renal, reprodutivo e endócrino (Yipel et al., 2017; Souza et al., 2018).

Alguns microminerais como Cu, Zn, Fe, Mg e Se, possuem papel significativo na neutralização de radicais livres, bem como na função e estrutura de enzimas e proteínas antioxidantes, contribuindo para a proteção celular diante do excesso de ROS (Méplan et al., 2011; Wołonciej, Milewska e Roszkowska-Jakimiec, 2016; Muselin et al., 2019; Esfahani e Mehri, 2024). Contudo, desequilíbrios na homeostase desses elementos, seja por deficiência ou excesso, podem comprometer os mecanismos antioxidantes, favorecendo danos oxidativos. Nesse cenário, considera-se a relação do malathion como dificultador da defesa antioxidante, juntamente do aumento da produção de ROS, afetando direta ou indiretamente a integridade da membrana celular, podendo culminar em disfunção mitocondrial e oxidação de lipídios, proteínas e DNA (Fortunato et al., 2006; Said et al., 2014; Badr, 2020). Adicionalmente, com a possível interferência sobre os metais tóxicos e o seu aumento em organismos expostos, pode haver competição com metais essenciais por sítios de ligação em proteínas, substituindo-os em enzimas e, também, gerando estresse oxidativo e dano celular, inclusive no sistema nervoso (Peana et al., 2021; Fasae e Abolaji, 2022).

Estudos em aves, como a saracura-matraca (*Rallus longirostris*), demonstram que a exposição a metais como Mg, Cu, Zn, Pb e Hg, está associada a cascas dos ovos mais finas e com anomalias na microestrutura, sugerindo uma ameaça ao sucesso reprodutivo dessas espécies (Rodríguez-Navarro et al., 2002). De forma semelhante, observações feitas em espécies de tartarugas marinhas, como *Caretta caretta* e *Chelonia mydas*, indicam que elevadas concentrações de Cu estão relacionadas a efeitos tóxicos e à redução do sucesso de eclosão, enquanto baixos níveis de Zn, elemento essencial para a homeostase biológica e a formação de ovos, também podem comprometer o desenvolvimento embrionário (Caurant et al., 1999; Kobayashi e Okamura, 2004; Maffucci et al., 2005; Andreani et al., 2008; Souza et al., 2018; Morão et al., 2024).

Diante do exposto, tanto excessos quanto deficiências dos micronutrientes essenciais, assim como a exposição elevada a elementos não essenciais, podem afetar diretamente a formação de ovos e o crescimento e a sobrevivência de embriões, resultando em prejuízos ao desenvolvimento molecular, celular, imunológico e morfológico, além de reduzir o sucesso de eclosão (Keen et al., 1997; Ashworth e Antipatis, 2001; Perrault et al., 2011; Souza et al., 2018). Assim, evidencia-se a importância da investigação dos efeitos do malathion sobre o estresse oxidativo e sobre a dinâmica de metais e metaloides durante o desenvolvimento embrionário, considerando não apenas elementos essenciais aos processos fisiológicos, mas também aqueles potencialmente tóxicos, cuja biodisponibilidade e toxicidade podem ser moduladas ou amplificadas pela exposição concomitante ao pesticida.

3 JUSTIFICATIVA

A contaminação ambiental por pesticidas representa uma problemática crescente, especialmente no contexto da conservação ambiental e da preservação de espécies, uma vez que ameaça diretamente a biodiversidade e a integridade dos ecossistemas. Na região Amazônica, a tartaruga-da-amazônia apresenta grande importância ecológica e cultural, desempenhando papel fundamental na manutenção do equilíbrio dos ecossistemas aquáticos. No entanto, essa espécie encontra-se cada vez mais exposta a contaminantes químicos, incluindo o malathion, devido à crescente expansão agrícola e ao uso intensivo de pesticidas na região.

Estudos anteriores demonstram que o malathion é capaz de induzir estresse oxidativo e alterar a homeostase de metais e metaloides essenciais em organismos aquáticos, muitos associados a defesas antioxidantes e necessários durante desenvolvimento do embrião (Franco et al., 2009; Van Dyke et al., 2014; Hassan et al., 2022). Considerando que o estresse oxidativo pode causar danos celulares e comprometer o desenvolvimento normal dos embriões, a avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e das concentrações de metais e metaloides nos embriões de *P. expansa* pode fornecer informações relevantes para compreender os impactos do malathion nas fases de desenvolvimento e pós-eclosão.

Essa problemática se torna ainda mais marcante quando considerada sob a perspectiva de saúde pública, uma vez que a carne e os ovos de quelônios são tradicionalmente consumidos por populações ribeirinhas, especialmente para subsistência, constituindo importante fonte de proteína animal. Nesse contexto, destaca-se o risco potencial de bioacumulação do pesticida, bem como de metais e metaloides em concentrações consideradas tóxicas, por exemplo, nos tecidos desses organismos, o que pode representar uma via indireta de exposição humana a contaminantes ambientais. Portanto, a obtenção de dados científicos sólidos e específicos permitirá o desenvolvimento de diretrizes mais eficazes para a gestão ambiental e a mitigação dos impactos negativos causados pelo uso de pesticidas, além de contribuir na segurança para a saúde das populações que os têm como fonte alimentar.

Diante disso, a realização desta pesquisa é fundamental não apenas para a preservação da espécie em estudo, mas também para a proteção dos ecossistemas amazônicos como um todo, contribuindo para a conscientização sobre a importância de práticas agrícolas mais seguras e sustentáveis, protegendo assim a biodiversidade e os recursos naturais da região.

4 HIPÓTESES CIENTÍFICAS

H1 - A exposição ao malathion durante o desenvolvimento embrionário de *Podocnemis expansa* provoca alterações na homeostase de metais e metaloides nos diferentes tecidos analisados;

H2 - A exposição ao pesticida provoca alterações nos biomarcadores de estresse oxidativo, refletindo respostas fisiológicas adaptativas ou indicativas de dano celular;

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Avaliar o impacto da exposição ao pesticida malathion sobre os biomarcadores de estresse oxidativo e os níveis de metais e metaloides durante o desenvolvimento embrionário e pós-eclosão da tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*).

5.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os níveis dos biomarcadores de estresse oxidativo, glutathione reduzida (GSH), capacidade antioxidante total (CAOT) e carbonilação proteica, em tecido hepático de *Podocnemis expansa* durante o desenvolvimento embrionário e pós-eclosão;
- Quantificar as concentrações de metais e metaloides em músculo, fígado, carapaça, unha e olho de *Podocnemis expansa* durante o desenvolvimento embrionário e pós-eclosão.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, A. A.; LUTZ, P. L. Marine turtles as sentinels of ecosystem health: is fibropapillomatosis an indicator?. **EcoHealth**, v. 1, p. 275-283, 2004. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10393-004-0097-3>> Acesso em: 16 set. 2024.
- AKHGARI, M. et al. Biochemical evidence for free radicalinduced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. **Human & experimental toxicology**, v. 22, n. 4, p. 205-211, 2003. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1191/0960327103ht346oa>> Acesso em: 20 jun. 2024.
- ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>> Acesso em: 20 mai. 2024.
- ANDRADE, P. C. M. Projeto Pé-de-pincha: Conservação e Manejo de Quelônios Manual para Gestores Ambientais. Manaus: Provárzea/Ibama, 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/318990829_Projeto_Pe-de-pincha_Conservacao_e_Manejo_de_Quelonios_Manual_para_Gestores_Ambientais> Acesso em: 25 mai. 2024.
- ANDREANI, G. et al. Metal distribution and metallothionein in loggerhead (*Caretta caretta*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles. **Science of the total environment**, v. 390, n. 1, p. 287-294, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969707009953?>> Acesso em: 20 set. 2024.
- APARICIO, V. C. et al. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. **Chemosphere**, v. 93, n. 9, p. 1866-1873, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653513008837>> Acesso em: 02 jun. 2024.
- ASHWORTH, C. J.; ANTIPATIS, C. Micronutrient programming of development throughout gestation. **Reproduction**, v. 122, n. 4, p. 527-535, 2001. Disponível em: <<https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/122/4/527.xml>> Acesso em: 15 set. 2024.
- BADR, A. M. Organophosphate toxicity: Updates of malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. **Environmental science and pollution research**, v. 27, n. 21, p. 26036-26057, 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-020-08937-4>> Acesso em: 02 jun. 2024.
- BAIOMY, A. A. et al. Protective effect of ginger and zinc chloride mixture on the liver and kidney alterations induced by malathion toxicity. **International journal of immunopathology and pharmacology**, v. 28, n. 1, p. 122-128, 2015. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0394632015572083>> Acesso em: 12 jun. 2024.

BHARDWAJ, J. K.; SARAF, Pa. Malathion-induced granulosa cell apoptosis in caprine antral follicles: an ultrastructural and flow cytometric analysis. **Microscopy and microanalysis**, v. 20, n. 6, p. 1861-1868, 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mam/article-abstract/20/6/1861/6932164>> Acesso em: 20 jun. 2024.

BHARDWAJ, J. K. et al. N-Acetyl-cysteine mediated inhibition of spermatogonial cells apoptosis against malathion exposure in testicular tissue. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 32, n. 4, p. e22046, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbt.22046>> Acesso em: 20 jun. 2024.

BIODIVERSITY4ALL. *Plataforma colaborativa de registros de biodiversidade*. 2024. Disponível em: <https://www.biodiversity4all.org>. Acesso em: 28 dez. 2025.

BLASIAK, J. et al. In vitro studies on the genotoxicity of the organophosphorus insecticide malathion and its two analogues. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 445, n. 2, p. 275-283, 1999. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571899001321>> Acesso em: 27 jun. 2024.

BOGEN, K. T.; SINGHAL, A. Malathion dermal permeability in relation to dermal load: Assessment by physiologically based pharmacokinetic modeling of in vivo human data. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 52, n. 2, p. 138-146, 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03601234.2016.1248150>> Acesso em: 12 jun. 2024.

BONACH, K. et al. Temperature-sex determination in *Podocnemis expansa* (Testudines, Podocnemididae). Iheringia. **Série Zoologia**, v. 101, p. 151-155, 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/isz/a/4HhghCYXhnyYCbMT5sgzDXc/>> Acesso em: 12 jun. 2024.

BOSSI, R. et al. Levels of pesticides and their metabolites in Wistar rat amniotic fluids and maternal urine upon gestational exposure. **International journal of environmental research and public health**, v. 10, n. 6, p. 2271-2281, 2013. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-4601/10/6/2271>> Acesso em: 02 jul. 2024.

BRITO, E. S. et al. **Quelônios continentais e crocodilianos do Brasil**. 1. ed. Recife: Agência Estadual de Meio Ambiente do Estado de Pernambuco, 2025. 350 p. Disponível em: <<https://zenodo.org/records/16738734>> Acesso em: 25 fev. 2026.

CANTARELLI, V. H.; MALVASIO, A.; VERDADE, L. M. Brazil's *Podocnemis expansa* conservation program: Retrospective and future directions. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 13, n. 1, p. 124-128, 2014. Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/ccb/article-abstract/13/1/124/26679>> Acesso em: 06 jun. 2024.

CAPUTO, F. P.; CANESTRELLI, D.; BOITANI, L. Conserving the terecay (*Podocnemis unifilis*, Testudines: Pelomedusidae) through a community-based sustainable harvest of its eggs. **Biological conservation**, v. 126, n. 1, p. 84-92, 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006320705002065>> Acesso em: 30 set. 2024.

CASALS-CASAS, C.; DESVERGNE, B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. **Annual review of physiology**, v. 73, n. 1, p. 135-162, 2011. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-physiol-012110-142200>> Acesso em: 16 set. 2024.

CASTRO, M. C. et al. Development, environmental degradation, and disease spread in the Brazilian Amazon. **PLOS Biology**, v. 17, n. 11, e3000526, 2019. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.3000526>>. Acesso em: 20 mai. 2024.

CAURANT, F. et al. Bioaccumulation of cadmium, copper and zinc in some tissues of three species of marine turtles stranded along the French Atlantic coasts. **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 1085-1091, 1999. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X99001095?>> Acesso em: 20 set. 2024.

ÇELİK, A. et al. Heavy metal monitoring around the nesting environment of green sea turtles in Turkey. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 169, p. 67-79, 2006. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-006-1562-0>> Acesso em: 16 set. 2024.

CEZARETTE, G. N. et al. Levels and health risk assessment of twenty-one current-use pesticides in urban and riverside waters of the Brazilian Amazon Basin. **Environmental Research**, v. 252, p. 119027, 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935124009319>> Acesso em: 06 jun. 2024.

COOK, L. W.; PARADISE, C. J.; LOM, B. The pesticide malathion reduces survival and growth in developing zebrafish. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 24, n. 7, p. 1745-1750, 2005. Disponível em: <<https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1897/04-331R.1?>> Acesso em: 15 set. 2024.

DECATALDO, A. et al. Association of metals (mercury, cadmium and zinc) with metallothionein-like proteins in storage organs of stranded dolphins from the Mediterranean sea (Southern Italy). **Journal of Environmental Monitoring**, v. 6, n. 4, p. 361-367, 2004. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2004/em/b315685k>> Acesso em: 20 mai. 2024.

DE AZEREDO MORGADO, M. G. et al. Large-scale agriculture and environmental pollution of ground and surface water and sediment by pesticides in the Brazilian Amazon: The case of the Santarém region. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 234, n. 3, p. 150, 2023. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-023-06152-8>> Acesso em: 20 mai. 2024.

DE CASTRO, A. A. et al. Organophosphorus degrading enzymes: Molecular basis and perspectives for enzymatic bioremediation of agrochemicals. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 5, p. 471-482, 2017. Disponível em: <<https://www.academia.edu/download/87176877/1981-1829-cagro-41-05-471.pdf>> Acesso em: 15 set. 2024.

DELGADO, G. C.; GASQUES, J. G.; VILLA VERDE, C. M. **Agricultura e políticas públicas**. p. 564, 1996. Disponível em: <<https://repositorio.ipea.gov.br/handle/11058/12854>> Acesso em: 20 mai. 2024.

DOS SANTOS, A. A. et al. Long-term and low-dose malathion exposure causes cognitive impairment in adult mice: evidence of hippocampal mitochondrial dysfunction, astrogliosis and apoptotic events. **Archives of toxicology**, v. 90, p. 647-660, 2016. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-015-1466-0>> Acesso em: 12 jun. 2024.

DUCOLOMB, Y. et al. In vitro effect of malathion and diazinon on oocytes fertilization and embryo development in porcine. **Cell biology and toxicology**, v. 25, p. 623-633, 2009. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10565-008-9117-3>> Acesso em: 25 jun. 2024.

DURAK, D. et al. Malathion-induced oxidative stress in human erythrocytes and the protective effect of vitamins C and E in vitro. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 24, n. 3, p. 235-242, 2009. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/tox.20423?>> Acesso em: 20 jun. 2024.

DUTTA, S. et al. Metalloids and their impact on the environment. **Metalloids in plants: Advances and future prospects**, p. 19-26, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119487210.ch2>> Acesso em: 06 jun. 2024.

EISEMBERG, C. C. et al. Vulnerability of Giant South American Turtle (*Podocnemis expansa*) nesting habitat to climate-change-induced alterations to fluvial cycles. **Tropical Conservation Science**, v. 9, n. 4, p. 1940082916667139, 2016. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1940082916667139>> Acesso em: 06 jun. 2024.

ELLMAN, G.L. Tissue sulphydryl groups. **Arch. Biochem. Biophys.** 82, 70, 1959.

ESEN, M.; UYSAL, M. Protective effects of intravenous lipid emulsion on malathion-induced hepatotoxicity. **Bratislavske lekarske listy**, v. 119, n. 6, p. 373-378, 2018. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/med/29947238>> Acesso em: 02 jul. 2024.

ESFAHANI, M.; MEHRI, F. Homeostatic changes of trace elements in diazinon toxicity in rat model: The beneficial role of resveratrol. **Toxicology Reports**, p. 101719, 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750024001021>> Acesso em: 20 set. 2024.

ESKENAZI, B. et al. Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. **Environmental health perspectives**, v. 112, n. 10, p. 1116-1124, 2004. Disponível em: <<https://ehp.niehs.nih.gov/doi/abs/10.1289/ehp.6789>> Acesso em: 27 jun. 2024.

FASAE, Kehinde D.; ABOLAJI, Amos O. Interactions and toxicity of non-essential heavy metals (Cd, Pb and Hg): lessons from *Drosophila melanogaster*. **Current opinion in insect science**, v. 51, p. 100900, 2022. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214574522000359>> Acesso em: 28 dez. 2025.

FÉLIX-SILVA, D. et al. Ameaças aos quelônios amazônicos. In: LACAVA, R. V.; BALESTRA, R. A. M. **PLANO DE AÇÃO NACIONAL PARA A CONSERVAÇÃO DOS QUELÔNIOS AMAZÔNICOS**. Brasília - IBAMA, 2019. cap. 8, p. 142-165. ISBN 978-85-7300-395-6. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/livros/PANqueloniosamazonicos.pdf>. Acesso em: 30 set. 2024.

FERNANDES, C. L. F. et al. Distribution of pesticides in agricultural and urban soils of Brazil: a critical review. **Environmental science: Processes & impacts**, v. 22, n. 2, p. 256-270, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653521032938#cebib0010>> Acesso em: 20 mai. 2024.

FERRARA, C. R. et al. História natural e biologia dos quelônios amazônicos. Manejo conservacionista e monitoramento populacional de quelônios amazônicos. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Brasília: Ibama**, p. 15-28, 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Camila-Kurzmann-Fagundes/publication/313110568_Manejo_Conservacionista_e_Monitoramento_populacional_de_Quelonios_Amazonicos/links/59099a9aca272bc14be6526/Manejo-Conservacionista-e-Monitoramento-populacional-de-Quelonios-Azonicos.pdf> Acesso em: 25 mai. 2024.

FERRARA, C. R. et al. Quelônios Amazônicos Guia de identificação. **WCS**, 182 p.p., 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/320507988_Quelonios_Azonicos_Guia_de_identificacao_e_distribuicao> Acesso em: 25 mai. 2024.

FILIMONOVA, V. et al. Fatty acid profiling as bioindicator of chemical stress in marine organisms: a review. **Ecological indicators**, v. 67, p. 657-672, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470160X16301480?>> Acesso em: 15 set. 2024.

FLEHI-SLIM, I. et al. Malathion-induced hepatotoxicity in male Wistar rats: biochemical and histopathological studies. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 17828-17838, 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-015-5014-5>> Acesso em: 20 jun. 2024.

FRANCO, J. L. et al. Zinc reverses malathion-induced impairment in antioxidant defenses. **Toxicology Letters**, v. 187, n. 3, p. 137-143, 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427409001003>> Acesso em: 20 mai. 2024.

FRIJHOFF, J. et al. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 23, n. 14, p. 1144-1170, 2015. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2015.6317>> Acesso em: 15 dez. 2025.

GAFFNEY, E. S. et al. Evolution of the side-necked turtles: the family Podocnemididae. **Bulletin of the American Museum of natural History**, v. 2011, n. 350, p. 1-237, 2011. Disponível em:

<[https://bioone.org/journals/Bulletin-of-the-American-Museum-of-Natural-History/volume-40/issue-\(7\)/350.1/Evolution-of-the-Side-Necked-Turtles-The-Family-Podocnemididae/10.1206/350.1.full](https://bioone.org/journals/Bulletin-of-the-American-Museum-of-Natural-History/volume-40/issue-(7)/350.1/Evolution-of-the-Side-Necked-Turtles-The-Family-Podocnemididae/10.1206/350.1.full)> Acesso em: 05 jun. 2024.

GENG, X. et al. Malathion-induced testicular toxicity is associated with spermatogenic apoptosis and alterations in testicular enzymes and hormone levels in male Wistar rats. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 39, n. 2, p. 659-667, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668915000162>> Acesso em: 15 jun. 2024.

GHEZZI, P. Environmental risk factors and their footprints in vivo – a proposal for the classification of oxidative stress biomarkers. **Redox Biology**, v. 34, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231719315575?via%3Dihub>> Acesso em 25 mai. 2025.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Springer New York**, 2000. Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4612-1156-3_2> Acesso em: 25 jun. 2024.

GIORDANO, G. et al. Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 219, n. 2-3, p. 181-189, 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X06003474>> Acesso em 27 jun. 2024.

GIRI, S. et al. Genotoxic effects of malathion: an organophosphorus insecticide, using three mammalian bioassays in vivo. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 514, n. 1-2, p. 223-231, 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571801003412>> Acesso em: 27 jun. 2024.

GOMES, M. A. F.; BARIZON, R. R. M. Panorama da contaminação ambiental por agrotóxicos e nitrato de origem agrícola no Brasil: cenário 1992/2011. **Embrapa**. 2014. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/987245/panorama-da-contaminacao-ambiental-por-agrotoxicos-e-nitrato-de-origem-agricola-no-brasil-cenario-19922011>> Acesso em: 20 mai. 2024.

GUO, W. et al. Disruption of iron homeostasis and resultant health effects upon exposure to various environmental pollutants: A critical review. **Journal of environmental sciences**, v. 34, p. 155-164, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1001074215001758?>> Acesso em: 16 set. 2024.

GUYTON, K. Z. et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 5, p. 490-491, 2015. Disponível em:

<[https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(15\)70134-8/fulltext?ref=a%20suma-o-controle-de-sua-saude.com](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(15)70134-8/fulltext?ref=a%20suma-o-controle-de-sua-saude.com)> Acesso em: 15 jun. 2024.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford university press, 2015. Disponível em: <<https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=3DlKCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=bqoC4WYqnX&sig=5crbK56xFIEbO643iLeErsApfro>> Acesso em: 15 ago. 2024.

HAMM, J. T.; HINTON, D. E. The role of development and duration of exposure to the embryotoxicity of diazinon. **Aquatic toxicology**, v. 48, n. 4, p. 403-418, 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X9900065X>> Acesso em: 27 jun. 2024.

HASSAN, M. A. et al. Risk assessment of glyphosate and malathion pollution and their potential impact on *Oreochromis niloticus*: role of organic selenium supplementation. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 9992, 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-022-13216-y>> Acesso em: 20 mai. 2024.

HILDEBRANDT, A. et al. Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (North Spain). **Water research**, v. 42, n. 13, p. 3315-3326, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135408001516>> Acesso em: 25 mai. 2024.

HOPKINS, W. A. Reptile toxicology: challenges and opportunities on the last frontier in vertebrate ecotoxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 19, n. 10, p. 2391-2393, 2000. Disponível em: <<https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/etc.5620191001>> Acesso em: 06 jun. 2024.

HOPKINS, W. A. Reptile toxicology: challenges and opportunities on the last frontier in vertebrate ecotoxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 19, n. 10, p. 2391-2393, 2000. Disponível em: <<https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/etc.5620191001>> Acesso em: 06 jun. 2024.

INCE, S. et al. Taurine alleviates malathion induced lipid peroxidation, oxidative stress, and proinflammatory cytokine gene expressions in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 263-268, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332217325295>> Acesso em: 15 jun. 2024.

IUCN. International Union For Conservation Of Nature's. **IUCN Red List of Threatened Species**. 2023. Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org/>> Acesso em: 20 jun. 2024.

JOKANOVIĆ, M. Biotransformation of organophosphorus compounds. **Toxicology**, v. 166, n. 3, p. 139-160, 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X01004632>> Acesso em 27 jun. 2024.

KAMANYIRE, R.; KARALLIEDDE, L. Organophosphate toxicity and occupational exposure. **Occupational medicine**, v. 54, n. 2, p. 69-75, 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/occmed/article-abstract/54/2/69/1510854>> Acesso em: 02 jul. 2024.

KATERJI, M.; FILIPPOVA, M.; DUERKSEN-HUGHES, P. Approaches and methods to measure oxidative stress in clinical samples: research applications in the cancer field. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2019/1279250>> Acesso em: 27 jul. 2025.

KEEN, C. L. et al. Toxicant exposure and trace element metabolism in pregnancy. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 4, n. 3-4, p. 301-308, 1997. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138266899710028X?>> Acesso em: 16 set. 2024.

KIRAN, T. R.; OTLU, O.; KARABULUT, A. B. Oxidative stress and antioxidants in health and disease. **Journal of Laboratory Medicine**, v. 47, n. 1, p. 1-11, 2023. Disponível em: <<https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/labmed-2022-0108/html>> Acesso em: 27 jul. 2025.

KOBAYASHI, N.; OKAMURA, H. Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. 1. Tracing the cause by the effects. **Chemosphere**, v. 55, n. 10, p. 1403-1412, 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653503011950?>> Acesso em: 20 set. 2024.

LAVERDA, N. L. et al. Pesticide exposures and body mass index (BMI) of pesticide applicators from the agricultural health study. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 78, n. 20, p. 1255-1276, 2015. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15287394.2015.1074844>> Acesso em: 25 jun. 2024.

LI, J. et al. Recent progress of oxidative stress associated biomarker detection. **Chemical Communications**, 2023. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2023/cc/d3cc00878a>> Acesso em: 27 jul. 2025.

LOVICH, J. E. et al. Where have all the turtles gone, and why does it matter?. **BioScience**, v. 68, n. 10, p. 771-781, 2018. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bioscience/article/68/10/771/5079873?login=true>> Acesso em: 15 jun. 2024.

MACHERA, K. et al. Determination of potential dermal and inhalation operator exposure to malathion in greenhouses with the whole body dosimetry method. **Annals of Occupational Hygiene**, v. 47, n. 1, p. 61-70, 2003. Disponível em: <<https://academic.oup.com/annweh/article-abstract/47/1/61/131204>> Acesso em: 02 jul. 2024.

MAFFUCCI, F. et al. Trace element (Cd, Cu, Hg, Se, Zn) accumulation and tissue distribution in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the Western Mediterranean Sea (southern Italy). **Chemosphere**, v. 58, n. 5, p. 535-542, 2005. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653504008124?>> Acesso em: 20 set. 2024.

MAMY, L.; BARRIUSO, E.; GABRIELLE, B. Glyphosate fate in soils when arriving in plant residues. **Chemosphere**, v. 154, p. 425-433, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516304039>> Acesso em: 25 jun. 2024.

MARZO, T.; LA MENDOLA, D. Strike a balance: Between metals and non-metals, metalloids as a source of anti-infective agents. **Inorganics**, v. 9, n. 6, p. 46, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-6740/9/6/46>> Acesso em: 25 jun. 2024.

MÉPLAN, C. Trace elements and ageing, a genomic perspective using selenium as an example. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 25, p. S11-S16, 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0946672X1000115X?>> Acesso em: 16 set. 2024.

MESAK, C. et al. Do Amazon turtles exposed to environmental concentrations of the antineoplastic drug cyclophosphamide present mutagenic damages? If so, would such damages be reversible?. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 6234-6243, 2019. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-019-04155-9>> Acesso em: 06 jun. 2024.

MILESON, B. E. et al. Common mechanism of toxicity: a case study of organophosphorus pesticides. **Toxicological sciences**, v. 41, n. 1, p. 8-20, 1998. Disponível em: <<https://academic.oup.com/toxsci/article/41/1/8/1627333>> Acesso em: 02 jul. 2024.

MORÃO, I. F. C. et al. Metal accumulation in female green sea turtles (*Chelonia mydas*) from Eastern Atlantic affects their egg quality with potential implications for embryonic development. **Science of the Total Environment**, v. 931, p. 172710, 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969724028572>> Acesso em: 15 set. 2024.

MUSELIN, F. et al. Homeostatic changes of some trace elements in geriatric rats in the condition of oxidative stress induced by aluminum and the beneficial role of resveratrol. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 55, p. 136-142, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0946672X19302883>> Acesso em: 16 set. 2024.

NAVARRETE-MENESES, M. P. et al. Exposure to the insecticides permethrin and malathion induces leukemia and lymphoma-associated gene aberrations in vitro. **Toxicology in Vitro**, v. 44, p. 17-26, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233317301625>> Acesso em: 12 jun. 2024.

NICHOLAS, A. H.; VIENNE, M.; VAN DEN BERGHE, H. Induction of sister-chromatid exchanges in cultured human cells by an organophosphorous insecticide: malathion. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 67, n. 2, p. 167-172, 1979. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165121879901289>> Acesso em: 15 jun. 2024.

OKOLONKWO, B. N.; AMADI, C. F.; CHIMEKAGBE, O. E. Organophosphates toxicity: pathophysiology, diagnosis, and treatment. **Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology**, v. 12, n. 2, p. 27-37, 2022. Disponível em: <<https://www.academia.edu/download/91769833/56825.pdf>> Acesso em: 20 mai. 2024.

OLIVEIRA, G. L. T. The geopolitics of Brazilian soybeans. **Journal of Peasant Studies**, v. 43, p. 348–372, 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03066150.2014.992337>> Acesso em: 20 mai. 2024.

OZSOY, A. Z. et al. Protective effect of intravenous lipid emulsion treatment on malathion-induced ovarian toxicity in female rats. **European Review for Medical & Pharmacological Sciences**, v. 20, n. 11, 2016. Disponível em: <<http://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/2425-2434-Protective-effect-of-intravenous-lipid-emulsion-treatment-on-malathion-induced-ovarian-toxicity-in-female-rats.pdf>> Acesso em 12 jun. 2024.

PEANA, M. et al. Metal toxicity and speciation: a review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 35, p. 7190–7208, 2021. Disponível em: <<https://www.eurekaselect.com/article/115046>> Acesso em: 28 dez. 2025.

PERRAULT, J. et al. Why are hatching and emergence success low? Mercury and selenium concentrations in nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) and their young in Florida. **Marine pollution bulletin**, v. 62, n. 8, p. 1671-1682, 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X1100333X?>> Acesso em: 16 set. 2024.

PÉREZ-GARCÍA, A. A new turtle confirms the presence of Bothremydidae (Pleurodira) in the Cenozoic of Europe and expands the biostratigraphic range of Foxemydina. **The Science of Nature**, v. 103, p. 1-14, 2016. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00114-016-1375-y>> Acesso em: 02 jun. 2024.

PEREZGASGA, L. et al. Substitution of the catalytic metal and protein PEGylation enhances activity and stability of bacterial phosphotriesterase. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 166, p. 1236-1247, 2012. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-011-9510-x&>> Acesso em: 15 set. 2024.

PEZZUTI, J. C. B. et al. Impactos da construção de usinas hidrelétricas sobre quelônios aquáticos amazônicos: um olhar sobre o complexo hidrelétrico do Tapajós. **Ocekadi Hidroelétricas, Conflitos Socioambientais e Resistência na Bacia do Tapajós**, p. 455-478, 2016. Disponível em: <http://philip.inpa.gov.br/publ_livres/2016/Ocekadi-livro/tapajos_Ocekadi.pdf> Acesso em 10 jun. 2024.

POUGH, F. H. et al. Herpetology. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1998.

POURMIRZA, A. A. Toxic effects of malathion and endosulfan on chick embryo. 2000.

PRAKASH, N.; VENKATESH, U. Human chorionic gonadotrophin (hcG) protects malathion induced plasma luteinizing hormone and testosterone changes in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 28, n. 4, p. 257-260, 1996. Disponível em: <https://journals.lww.com/iphr/abstract/1996/28040/human_chorionic_gonadotrophin_hcg_protects.10.aspx> Acesso em: 27 jun. 2024.

RAHMAN, M. S. et al. Toxicity of the organophosphate insecticide sumithion to embryo and larvae of zebrafish. **Toxicology reports**, v. 7, p. 317-323, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750019305396>> Acesso em: 16 set. 2024.

REBÊLO, G. H. et al. Pesca Artesanal de Quelônios no Parque Nacional do Jaú (AM). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v. 1, n. 1, p. 109-125, 2005. Disponível em: <https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/21755> Acesso em: 30 set. 2024.

RIBEIRO, C. A. O. et al. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. **Aquatic Toxicology**, v. 74, n. 1, p. 53-69, 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X05001487>> Acesso em: 20 mai. 2024.

RICO, A. et al. Ecological risk assessment of pesticides in urban streams of the Brazilian Amazon. **Chemosphere**, v. 291, p. 132821, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653521032938>> Acesso em: 20 mai. 2024.

RHODIN, A. G. J. et al. Global conservation status of turtles and tortoises (order Testudines). **Chelonian Conservation and Biology**, v. 17, n. 2, p. 135-161, 2018. Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/ccb/article-abstract/17/2/135/10774>>. Acesso em: 27 mai. 2024.

RODRIGUEZ-NAVARRO, A. B. et al. Mineralization of Clapper Rail Eggshell from a Contaminated Salt Marsh System. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 43, p. 0449-0460, 2002. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00244-002-0266-8>> Acesso em: 16 set. 2024.

ROSAS, L. G.; ESKENAZI, B. Pesticides and child neurodevelopment. **Current opinion in pediatrics**, v. 20, n. 2, p. 191-197, 2008. Disponível em: <https://journals.lww.com/co-pediatrics/fulltext/2008/04000/Drug_induced_rhabdomyolysis.16.aspx> Acesso em: 02 jul. 2024.

SÁNCHEZ-SANTED, F.; COLOMINA, M. T.; HERNÁNDEZ, E. H. Organophosphate pesticide exposure and neurodegeneration. **Cortex**, v. 74, p. 417-426, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010945215003500>> Acesso em: 02 jul. 2024.

SAPBAMRER, R.; HONGSIBSONG, S. Effects of prenatal and postnatal exposure to organophosphate pesticides on child neurodevelopment in different age groups: a systematic review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 18, p. 18267-18290, 2019.

Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-019-05126-w>> Acesso em: 02 jul. 2024.

SHAFFER, H. B. et al. Phylogenomic analyses of 539 highly informative loci dates a fully resolved time tree for the major clades of living turtles (Testudines). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 115, p. 7-15, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790317305110>> Acesso em: 25 mai. 2024.

SIQUEIRA, K. C. Avaliação da produção científica sobre as espécies do gênero Podocnemis (tartarugas de água doce): implicações para a conservação. 2014. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Goiás. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/ran/images/stories/publicacoes/monografias/Monografia_Aspectos_Ciencimetricos_Genero-Podocnemis_Karla_Costa_Siqueira_UFG-2014.pdf> Acesso em: 10 jun. 2024.

SOUZA, N. L. N. et al. Trace elements influence the hatching success and emergence of *Caretta caretta* and *Chelonia mydas*. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 50, p. 117-122, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0946672X18301615>?> Acesso em: 15 set. 2024.

STANFORD, C. B. et al. Turtles and tortoises are in trouble. **Current Biology**, v. 30, n. 12, p. R721-R735, 2020. Disponível em: <[https://www.cell.com/current-biology/pdf/S0960-9822\(20\)30636-9.pdf](https://www.cell.com/current-biology/pdf/S0960-9822(20)30636-9.pdf)> Acesso em: 25 jun. 2024.

THAKUR, S.; DHIMAN, M.; MANTHA, A.K. APE1 modulates cellular responses to organophosphate pesticide-induced oxidative damage in non-small cell lung carcinoma A549 cells. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 441, p. 201-216, 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11010-017-3186-7>> Acesso em: 20 set. 2024.

ULLAH, S. et al. Malathion induced oxidative stress leads to histopathological and biochemical toxicity in the liver of rohu (*Labeo rohita*, Hamilton) at acute concentration. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 161, p. 270-280, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651318304895>?> Acesso em: 20 set. 2024.

VAN DIJK, P. P. et al. Turtles of the world: Annotated checklist of taxonomy, synonymy, distribution with maps, and conservation status. **Chelonian research monographs**, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Emerson-Sy/publication/281796572_Turtles_and_tortoises_in_the_Philippine_pet_trade/links/5692341f08aec14fa55d5a1a/Turtles-and-tortoises-in-the-Philippine-pet-trade.pdf> Acesso em: 27 mai. 2024.

VAN DYKE, J. U.; HOPKINS, W. A.; JACKSON, B. P. Influence of relative trophic position and carbon source on selenium bioaccumulation in turtles from a coal fly-ash spill site. **Environmental Pollution**, v. 182, p. 45-52, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749113003497>?> Acesso em: 16 set. 2024.

VAN DYKE, J. U. et al. Maternal transfer and embryonic assimilation of trace elements in freshwater turtles after remediation of a coal fly-ash spill. **Environmental pollution**, v. 194, p. 38-49, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0269749114002930?>> Acesso em: 16 set. 2024.

VOGT, R.C. Amazon turtles. Biblios, Lima, Peru. 104p. 2008.

WALLACE, D. R.; DJORDJEVIC, A. B. Heavy metal and pesticide exposure: A mixture of potential toxicity and carcinogenicity. **Current Opinion in Toxicology**, v. 19, p. 72-79, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468202020300036?>> Acesso em: 15 set. 2024.

WATSON, H. et al. Maternally derived yolk antioxidants buffer the developing avian embryo against oxidative stress induced by hyperoxia. **Journal of Experimental Biology**, v. 221, n. 13, p. jeb179465, 2018. Disponível em: <<https://journals.biologists.com/jeb/article/221/13/jeb179465/395/Maternally-derived-yolk-antioxidants-buffer-the>> Acesso em: 15 ago. 2024.

WOŁONCIEJ, M.; MILEWSKA, E.; ROSZKOWSKA-JAKIMIEC, W. Trace elements as an activator of antioxidant enzymes. **Advances in Hygiene and Experimental Medicine**, v. 70, p. 1483-1498, 2016. Disponível em: <<https://phmd.pl/article/96923/en?language=pl>> Acesso em: 16 set. 2024.

WYTENBACH, C. R.; THOMPSON, S. C. The effects of the organophosphate insecticide malathion on very young chick embryos: malformations detected by histological examination. **American journal of anatomy**, v. 174, n. 2, p. 187-202, 1985. Disponível em: <<https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/aja.1001740208>> Acesso em: 15 set. 2024.

YIPEL, M. et al. Heavy metal distribution in blood, liver and kidneys of Loggerhead (*Caretta caretta*) and Green (*Chelonia mydas*) sea turtles from the Northeast Mediterranean Sea. **Marine pollution bulletin**, v. 125, n. 1-2, p. 487-491, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X17306811?>> Acesso em: 15 set. 2024.

CAPÍTULO 2 – EMBRYONIC EXPOSURE TO MALATHION ALTERS OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS AND METAL(LOID) LEVELS IN THE AMAZON RIVER TURTLE (*Podocnemis expansa*)

(Artigo experimental)

SUBMETIDO NA HERPETOLOGICAL JOURNAL

QUALIS: Quadriênio 2021-2024: A4

FATOR DE IMPACTO (2024): 1.1

Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e níveis de metais e metaloides em embriões da tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) expostos ao malathion.

Ana Lucelha dos Santos Silva¹, Myllena Valença Dorgon², Lanna Daniella Printes Monteiro², Marcela dos Santos Magalhães², Rachel Ann Hauser-Davis³, Carlos Eduardo Bezerra de Moura¹.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil.

² Universidade Federal do Amazonas, Departamento de Morfologia, Manaus, Amazonas, Brasil.

³ Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

Autor correspondente: Carlos Eduardo Bezerra de Moura¹; Rachel Ann Hauser-Davis³.
Endereço: ¹Departamento de Ciências Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Avenida Francisco Mota, 572, Costa e Silva, CEP 59625-900, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Telefone: (84) 99904-6424. E-mail: carlos.moura@ufersa.edu.br

³Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Avenida Brasil, 4365, Bonsucesso, CEP 21040-360, Rio de Janeiro, Brasil. Telefone: (21) 2562-1241. Endereço de e-mail: rachel.hauser.davis@gmail.com

Resumo

Os ecossistemas aquáticos amazônicos vêm sendo impactados por contaminantes químicos, como os pesticidas organofosforados, sendo escassas as informações sobre seus efeitos durante o desenvolvimento inicial de organismos sentinelas, como a *Podocnemis expansa*. Este estudo avaliou os efeitos da exposição ao malathion sobre biomarcadores de estresse oxidativo e a determinação de metais e metaloides durante o desenvolvimento embrionário de tartarugas-da-Amazônia. Os ovos foram incubados artificialmente sob condições controladas e distribuídos em um grupo controle e três tratamentos nominais com malathion (0,53; 5,3 e 53 $\mu\text{g L}^{-1}$). Foram determinados os níveis de glutathione reduzida (GSH), capacidade antioxidante total (CAOT), carbonilação proteica em tecido hepático e as concentrações de metais e metaloides em músculo, fígado, carapaça, unha e olho de embriões de 40 e 50 dias de desenvolvimento e de filhotes eclodidos. Os resultados indicaram padrões dependentes do estágio de desenvolvimento e da exposição, com maior variabilidade nos biomarcadores redox em embriões e aumento de GSH e carbonilação proteica em filhotes expostos à maior concentração. A distribuição de metais e metaloides foi tecido-específica, com maior acúmulo de elementos essenciais em tecidos metabolicamente ativos, como músculo e fígado, e mineralizados, como a carapaça nos grupos expostos. Embora a análise descritiva e o tamanho amostral reduzido não permitam conclusões definitivas sobre toxicidade, os achados refletem respostas fisiológicas potenciais associadas à exposição ao malathion durante fases iniciais do desenvolvimento, reforçando a necessidade de estudos futuros com delineamentos experimentais mais robustos.

Palavras-chave: Ecotoxicologia, embrião, quelônios amazônicos, pesticida.

Introdução

Os ecossistemas aquáticos amazônicos desempenham papel fundamental na biodiversidade global, abrigando uma das maiores riquezas biológicas do planeta e contribuindo para a manutenção do equilíbrio ecológico que sustenta as populações humanas e a fauna silvestre (Alho et al., 2015; Jenkins et al., 2025). No entanto, esses ambientes vêm sofrendo pressões crescentes devido atividades antrópicas, como a expansão agrícola, a urbanização desordenada, a construção de usinas hidrelétricas e o uso intensivo de contaminantes químicos (Mojiri et al., 2020; de Azeredo Morgado et al., 2023).

Entre os organismos afetados por essas alterações ambientais, destacam-se os quelônios amazônicos, incluindo a tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*), a maior espécie de seu gênero e quelônio de água doce da América do Sul (Ferrara et al., 2016). Além

de sua importância ecológica, cultural e socioeconômica, em que possuem grande relevância para comunidades ribeirinhas, sendo historicamente utilizadas como fonte de alimento e subsistência (Rebêlo et al., 2005; Félix-Silva et al., 2019), essas espécies são consideradas importantes sentinelas ambientais e bioindicadores, uma vez que apresentam longa expectativa de vida, ocupam níveis tróficos elevados e possuem a capacidade de integrar a exposição ao longo do espaço e do tempo (Norris et al., 2018; Santos et al., 2021). Apesar disso, populações naturais de *P. expansa* têm apresentado declínio acentuado, associado à exploração excessiva, à degradação de habitats e à exposição a contaminantes ambientais, os quais podem alcançar os ecossistemas aquáticos mesmo a longas distâncias das áreas de aplicação (Eisemberg et al., 2016; Forero-Medina et al., 2021).

Tais contaminantes representam uma ameaça significativa à biota aquática, especialmente a organismos não alvo, devido ao seu potencial de bioacumulação e indução de efeitos subletais (Rico et al., 2022; de Azeredo Morgado et al., 2023). Entre os diferentes grupos de compostos químicos associados à contaminação de ambientes aquáticos, os pesticidas organofosforados destacam-se pelo amplo uso e seu potencial de causar efeitos adversos mesmo em baixas concentrações (Jokanovic, 2001; Ducolomb et al., 2009; Mukherjee et al., 2025). O malathion é um inseticida organofosforado amplamente empregado na agricultura, no controle de vetores de doenças e em aplicações veterinárias (Ozsoy et al., 2016; Bogen & Singhal, 2017; Badr, 2020). Embora seja considerado de toxicidade moderada, estudos demonstram que o malathion pode provocar efeitos subletais significativos em organismos não alvo (Geng et al., 2015; Guyton et al., 2015; Ince et al., 2017; Badr, 2020; Rahman et al., 2020).

Entre os principais mecanismos de toxicidade associados a esse composto estão a inibição da acetilcolinesterase e a indução de estresse oxidativo, resultante do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Ozsoy et al., 2016; Sapbamrer & Hongsibsong, 2019; Badr, 2020). O estresse oxidativo ocorre quando há desequilíbrio entre a geração de ROS e a capacidade do sistema antioxidante em neutralizá-las, podendo levar a danos oxidativos em lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (Kiran et al., 2023). Biomarcadores como a glutatona reduzida (GSH), a capacidade antioxidante total (CAOT) e a carbonilação proteica têm sido amplamente utilizados, objetivando avaliar alterações no estado redox celular e a eficiência do sistema antioxidante (Ozsoy et al., 2016; Ullah et al., 2018; Katerji et al., 2019; Badr, 2020; Ghezzi, 2020).

Além dos efeitos sobre o metabolismo oxidativo, o malathion pode interferir na homeostase de metais e metalóides essenciais, elementos fundamentais para processos

fisiológicos, como na função e estrutura de enzimas antioxidantes, no desenvolvimento embrionário e na manutenção da integridade celular (Badr, 2020; Jomova et al., 2022). Alterações nas concentrações desses elementos podem potencializar os efeitos tóxicos do pesticida e comprometer etapas críticas do desenvolvimento, especialmente durante a embriogênese, fase reconhecidamente sensível à exposição a contaminantes ambientais, podendo apresentar alterações fisiológicas e bioquímicas com consequências a longo prazo (de Paula Silva et al, 2025).

Ainda são escassos os estudos que avaliam os efeitos do malathion durante o desenvolvimento embrionário de quelônios, bem como sua relação com o estresse oxidativo e a distribuição de metais e metaloides em diferentes tecidos. Nesse contexto, a avaliação desses parâmetros em embriões e filhotes de *Podocnemis expansa* expostos ao pesticida, pode fornecer informações relevantes sobre os impactos do malathion em fases iniciais da vida, contribuindo para a compreensão de sua toxicocinética e toxicodinâmica, além de contribuir para estratégias de conservação e avaliação de risco ambiental.

Material e métodos

Área de estudo

Devido a construção da Usina Hidrelétrica de Balbina, uma área de aproximadamente 2.360 km² no rio Uatumã foi inundada, e está localizada em Balbina, Presidente Figueiredo, na parte nordeste do Estado do Amazonas (1° 54' 56,7" Sul, 59° 28' 25" Oeste) (Feitosa et al., 2007). As coletas foram realizadas em duas praias artificiais nas margens do rio Uatumã, a jusante da hidrelétrica, monitoradas pelo Centro de Pesquisa e Preservação de Mamíferos Aquáticos e Tartarugas, Axia Energia.

Coleta dos ovos e incubação artificial

Os ovos de *P. expansa* foram coletados imediatamente após a desova, em setembro de 2024. Ao todo, coletou-se ovos provenientes de ninhos distintos, os quais foram identificados e acondicionados na mesma posição em que se encontravam no ninho natural, em caixas de isopor de 17 L contendo areia do local de desova. Posteriormente, os ovos foram transportados para o Laboratório de Morfologia Humana e Comparada da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), onde foi realizada a incubação artificial. Todos os procedimentos foram avaliados e aprovados pelo Sistema de Informação e Autorização da Biodiversidade (SISBIO) nº 98371-1 do Instituto Chico Mendes de Conservação da

Biodiversidade (ICMBio), e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), sob o protocolo nº 23105.020280/2024-85.

Desenho experimental e exposição ao malathion

O experimento foi conduzido com quatro grupos experimentais, com distribuição aleatória dos ovos coletados: um grupo controle, incubado sem contaminante, e três grupos expostos ao pesticida malathion nas concentrações nominais de $0,53 \mu\text{g L}^{-1}$, $5,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $53 \mu\text{g L}^{-1}$. A menor concentração testada, sendo o tratamento 1 (T1, $0,53 \mu\text{g L}^{-1}$) é condizente com valores já detectados em ambientes aquáticos naturais, conforme relatado por Rico et al. (2022). As concentrações intermediária, tratamento 2 (T2, $5,3 \mu\text{g L}^{-1}$) e elevada, tratamento 3 (T3, $53 \mu\text{g L}^{-1}$) foram estabelecidas como múltiplos dessa concentração ambiental, permitindo a avaliação de respostas diante de um possível cenário de bioacumulação, ao longo do tempo. Os grupos experimentais foram definidos de acordo com o estágio de desenvolvimento e o tratamento: 40dC e 50dC (embriões controle aos 40 e 50 dias de desenvolvimento), 40dT1, 40dT2 e 40dT3, 50dT1, 50dT2 e 50dT3 (embriões de 40 e 50 dias de desenvolvimento expostos a níveis crescentes de tratamento). Para análise pós-eclosão, optou-se por manter os filhotes controle e tratados, HC e HT3, respectivamente.

Cada grupo foi incubado em incubadoras independentes, com temperatura e umidade controladas. Os ovos foram acondicionados em recipientes plásticos com capacidade de 2 L, contendo vermiculita. No grupo controle, a vermiculita foi umedecida com água destilada na proporção de 2:1 (vermiculita:água, v/v). Nos grupos contaminados, a vermiculita foi umedecida com soluções contendo o inseticida comercial Malathion 500 CE (50% w/v de ingrediente ativo malathion; DE SANGOSSE AGROQUÍMICA Ltda). De acordo com a FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) do produto, o solvente presente na formulação não é especificado pelo fabricante (ND), correspondendo a 40–50% da composição. Para os experimentos, o produto foi diluído em água destilada, utilizada como solvente veículo para obtenção das respectivas concentrações. A exposição ocorreu durante todo o período de incubação, no total de 50 dias, com reposição das soluções a cada dois dias, considerando a meia-vida do pesticida. Durante o período de incubação, a temperatura foi mantida constante a 32°C (Magalhães et al., 2017) e monitorada continuamente por sensores HOBOTM data logger (Onset™ Computer Corporation). A umidade foi controlada com recipientes contendo água e monitorada por termohigrômetros instalados em cada incubadora, mantendo-se na média de $73,45 \pm 12,82\%$.

Coleta de amostras dos embriões

O dia de início da incubação artificial foi considerado como dia 0. A coleta dos embriões foi realizada aos 40 e 50 dias de incubação, representando estágios intermediários e avançados do desenvolvimento embrionário, sendo retirados cinco ovos por tratamento em cada período. Os ovos foram abertos com tesoura cirúrgica e os embriões dissecados conforme Magalhães et al. (2017). A eutanásia dos embriões foi realizada por injeção cervical de xilazina e ketamina a 2%, em volumes entre 1,0 e 4,0 mL, de acordo com o tamanho do embrião (Magalhães et al., 2017). 20 embriões foram distribuídos entre os tratamentos (controle = 5; T1 = 3; T2 = 6; T3 = 6), onde foram coletadas amostras de músculo, fígado, casco, as quais foram congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e liofilizadas.

Coleta de amostras dos filhotes

Após o nascimento, os filhotes de cada tratamento foram mantidos em aquários sob condições adequadas de manejo e alimentação. As coletas foram realizadas aos 30 e 60 dias após a eclosão, com o objetivo de avaliar possíveis respostas tardias à exposição embrionária ao malathion. O número de filhotes analisados foi de 10 indivíduos (controle = 8; T3 = 2), os quais coletou-se amostras de músculo, fígado e casco, congeladas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e liofilizadas. Considerando a limitação amostral, optou-se por avaliar os filhotes apenas no grupo controle e no tratamento de maior concentração, permitindo a comparação entre a condição basal e o cenário de maior pressão tóxica.

Análises de biomarcadores de estresse oxidativo

As análises de biomarcadores de estresse oxidativo foram realizadas prioritariamente em tecido hepático, considerando a disponibilidade amostral. As amostras liofilizadas foram pesadas (0,5 g) e submetidas a um processo de extração padronizado. A extração foi realizada objetivando uma diluição controlada das amostras biológicas permitindo a utilização do mesmo extrato para múltiplas análise de determinação de biomarcadores de estresse oxidativo não-enzimáticos, avaliação da capacidade antioxidante total e mensuração de danos celulares teciduais. As amostras de fígado foram homogeneizadas em tampão fosfato de sódio ($0,1\text{ mol L}^{-1}$, pH 6,5) contendo sacarose ($0,25\text{ mol L}^{-1}$) e EDTA (Ácido Etilenodiaminotetracético; 1 mmol L^{-1}), padronizada em 200 μL de solução tampão para 0,5 g de material biológico. A homogeneização foi realizada com o auxílio de um micro-homogeneizador motorizado, seguida de centrifugação a 13.500 rpm por 30 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Eppendorf Centrifuge 5425 R). Os sobrenadantes foram aliquotados e armazenados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até as análises.

Determinação de proteínas totais

Para a quantificação de proteínas totais, foram utilizadas as mesmas amostras obtidas após o procedimento de extração, conforme descrito no item anterior. A determinação de proteínas totais possibilitou a normalização dos resultados e foi feita pelo método de Lowry modificado, conforme descrito por Peterson (1977), utilizando albumina sérica bovina (BSA) como base para a curva padrão. As preparações foram pipetadas em triplicata em uma placa de 96 poços e seguiram para as leituras, as quais foram realizadas em 750 nm, utilizando espectrofotômetro INNO Microplate Spectrophotometer (Inno Instrument®, Coreia do Sul), com as concentrações calculadas a partir de curva padrão de BSA.

Determinação de Glutathiona Reduzida (GSH)

Os níveis de glutathiona reduzida foram determinados conforme Wilhelm-Filho et al. (2005), utilizando DTNB (tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ pH 8). A quantificação de GSH foi realizada a 412 nm, através da comparação dos valores de absorbância, obtidos em um leitor de microplacas INNO Microplate Spectrophotometer (Inno Instrument®, Coreia do Sul), com os da curva analítica. Os resultados foram expressos em µmol de GSH por grama de tecido, normalizados por grama de proteína.

Determinação de Capacidade Antioxidante Total (CAOT)

A capacidade antioxidante total foi determinada segundo Re et al. (1999) e Miller et al. (1993), pelo método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). A curva padrão foi construída com concentrações decrescentes de Trolox (0–1,0 mmol·L⁻¹) diluídas em PBS (Phosphate Buffered Saline). Para as análises, foram adicionados 10 µL da amostra a 190 µL da solução-estoque de ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (7 mmol·L⁻¹) em microplaca. Após 5 min de incubação à temperatura ambiente, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro INNO Microplate Spectrophotometer (Inno Instrument®, Coreia do Sul) a 734 nm.

Determinação de Carbonilação Proteica

A quantificação de proteínas carboniladas foi realizada pelo método determinado por Mesquita et al. (2014), utilizando 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH). A absorbância foi medida a 450 nm em espectrofotômetro INNO Microplate Spectrophotometer (Inno

Instrument®, Coreia do Sul), com normalização dos resultados pela concentração de proteínas totais.

Determinação de metais e metaloides

As concentrações totais de metais e metaloides foram determinadas em amostras de músculo, fígado e carapaça, de acordo com o estágio de desenvolvimento e disponibilidade amostral. Adicionalmente, foram coletadas amostras de olho e unha, especialmente em embriões mais desenvolvidos de 50 dias e em filhotes, em função do grau de desenvolvimento morfológico desses tecidos. As amostras (0,5 g) foram digeridas com ácido nítrico (67% v/v) sob aquecimento e analisadas por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS; NexIon 300X, PerkinElmer-Sciex), conforme o método USEPA 6020B (US EPA, 2014). Os limites de detecção e quantificação foram calculados segundo o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2016). Foram analisados os elementos Alumínio (Al), Titânio (Ti), Cromo (Cr), Manganês (Mn), Ferro (Fe), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Arsênio (As), Selênio (Se), Rubídio (Rb), Estrôncio (Sr), Cádmio (Cd) e Bário (Ba).

Análise de dados

Em razão do reduzido tamanho amostral decorrente da mortalidade embrionária e pós-eclosão, os dados foram avaliados exclusivamente por análise descritiva, não sendo aplicados testes estatísticos inferenciais. Os resultados foram apresentados por meio de medianas e intervalos interquartílicos, utilizando gráficos do tipo boxplot elaborados no software Excel.

Resultados

Biomarcadores de estresse oxidativo

Glutathiona Reduzida (GSH)

Em embriões de 40 dias, os grupos tratados apresentaram maior dispersão dos valores quando comparados ao controle, sendo observados níveis nominalmente mais elevados nos tratamentos de maior concentração (Figura 1). O grupo T3 de embriões de 50 dias apresentou uma tendência de aumento de GSH em relação ao controle. Já em filhotes, o grupo HT3 exibiu os maiores níveis de GSH, com menor variabilidade entre as amostras.

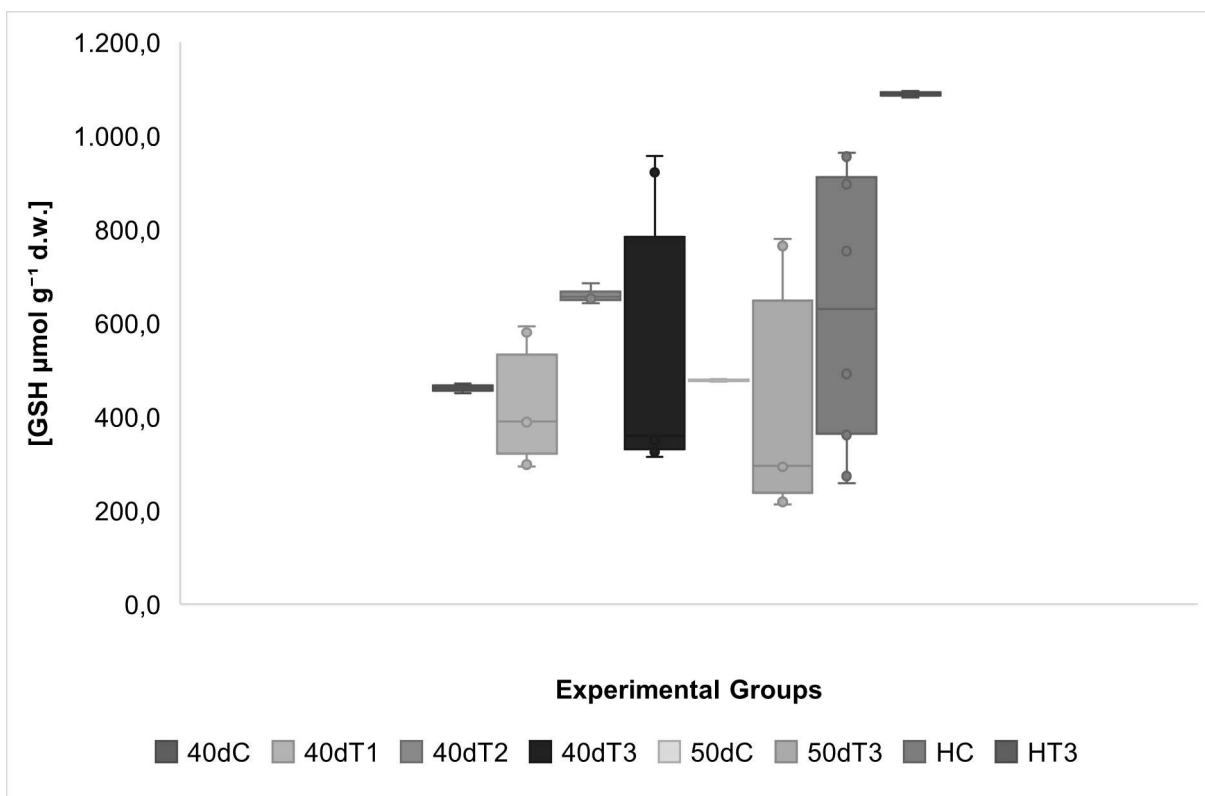


Figura 1. Concentração de glutathiona reduzida (GSH) ($\mu\text{mol g}^{-1}$) em tecido hepático de *Podocnemis expansa* submetidos a diferentes grupos experimentais. Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C - controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).

Carbonilação Proteica

Os níveis de carbonilação proteica também apresentaram variação entre os grupos experimentais e estágios de desenvolvimento, em que nos grupos tratados de embriões de 40 dias, os danos proteicos iniciais foram sutis. Aos 50 dias, observou-se uma tendência de aumento da carbonilação proteica, particularmente no grupo T3. Nos filhotes, o grupo HT3 apresentou os maiores níveis de carbonilação proteica entre todos os grupos analisados (Figura 2).

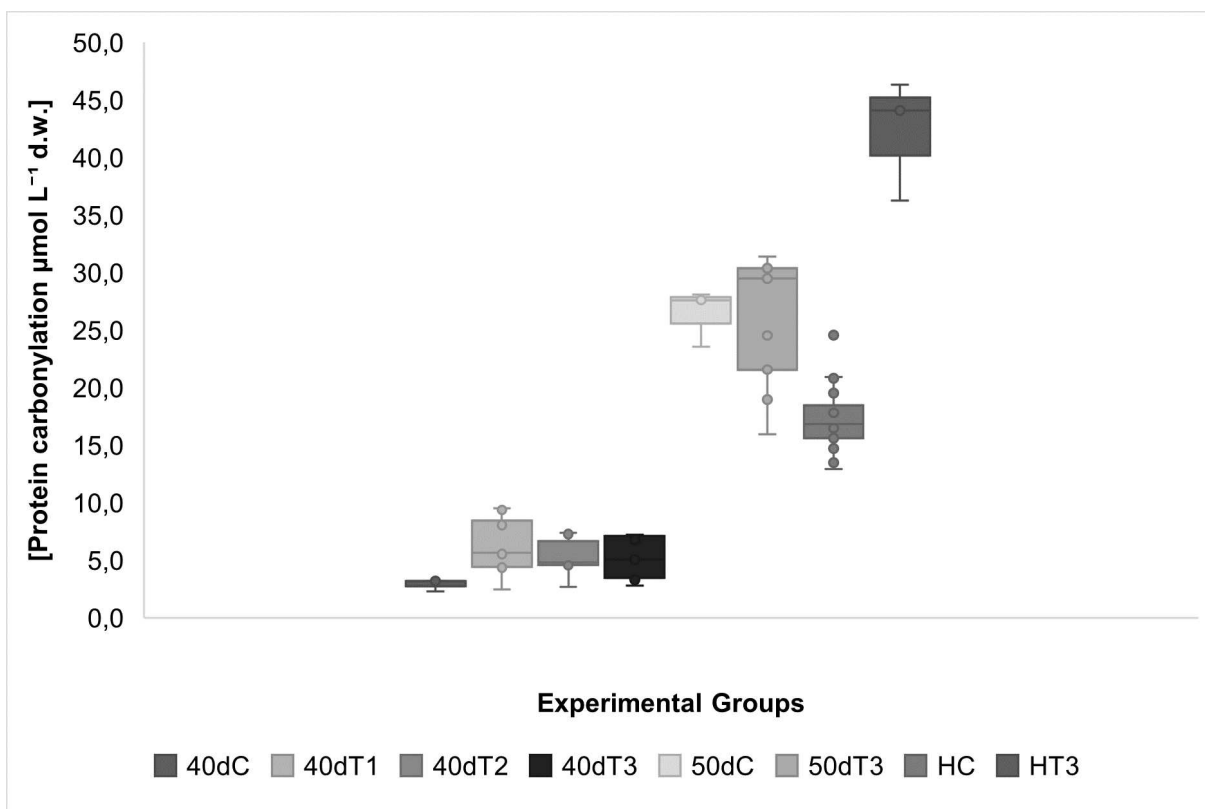


Figura 2. Níveis de carbonilação proteica ($\mu\text{mol L}^{-1}$) em *Podocnemis expansa* como biomarcador de dano oxidativo. Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).

Capacidade Antioxidante Total (CAOT)

Nos embriões de 50 dias, o grupo T3 apresentou valores inferiores de CAOT em relação ao controle, com maior dispersão dos dados (Figura 3). Em recém-eclodidos, observou-se aumento da CAOT no grupo T3 em comparação ao controle, com menor variabilidade entre as amostras.

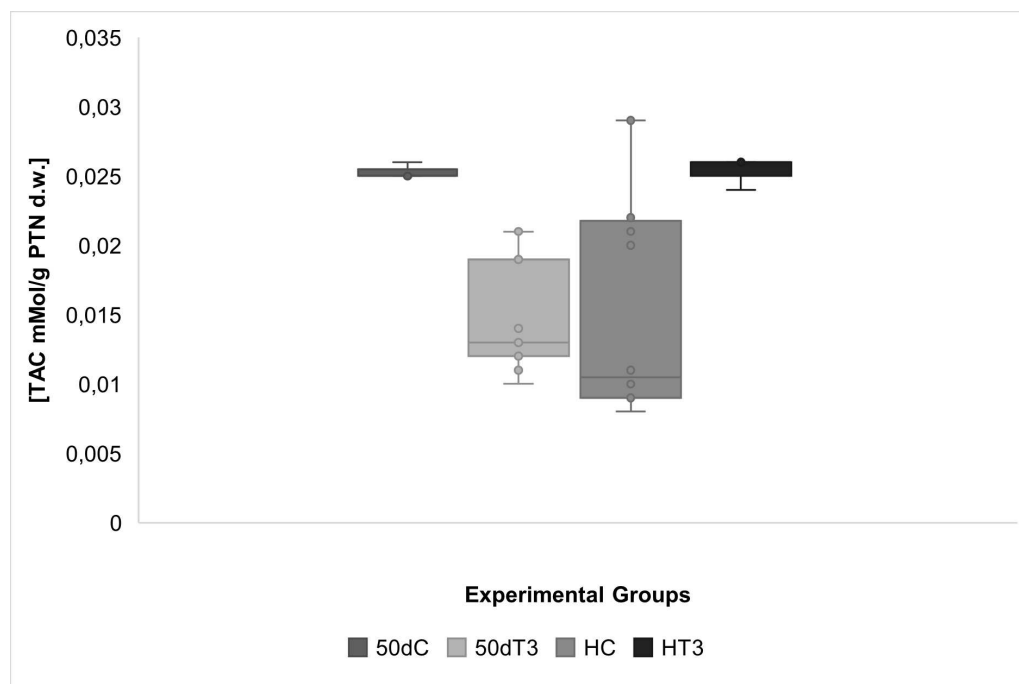


Figura 3. Capacidade Antioxidante Total (CAOT) em amostras de *Podocnemis expansa* durante o desenvolvimento embrionário e pós-eclosão. Os valores estão expressos em *mM/g* de proteína (PTN). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).

Metais e metaloides

Tecido muscular

Para a maioria dos elementos analisados no tecido muscular, observou-se uma tendência de elevação das concentrações nominais no estágio de 50 dias em comparação aos 40 dias de incubação. Destacou-se o grupo 50dT2, que apresentou as maiores medianas e maior dispersão dos dados para elementos como estrôncio (Sr), bário (Ba), arsênio (As), ferro (Fe), alumínio (Al), cromo (Cr) e titânio (Ti). O zinco (Zn), cobre (Cu) e rubídio (Rb) apresentaram um padrão de acúmulo progressivo relacionado ao desenvolvimento embrionário, com maiores medianas nos grupos de 50 dias em relação aos de 40 dias. Nos filhotes (H), os valores de Zn mantiveram-se elevados no grupo tratado (HT3) em relação ao controle (HC). Inversamente, o selênio (Se) e o manganês (Mn) destacaram-se por apresentarem valores nominais inferiores no HT3 em comparação ao controle HC, configurando um comportamento distinto entre os metais essenciais avaliados (Figura 4). Os demais elementos avaliados no músculo não apresentaram variações descritivas entre os grupos experimentais.

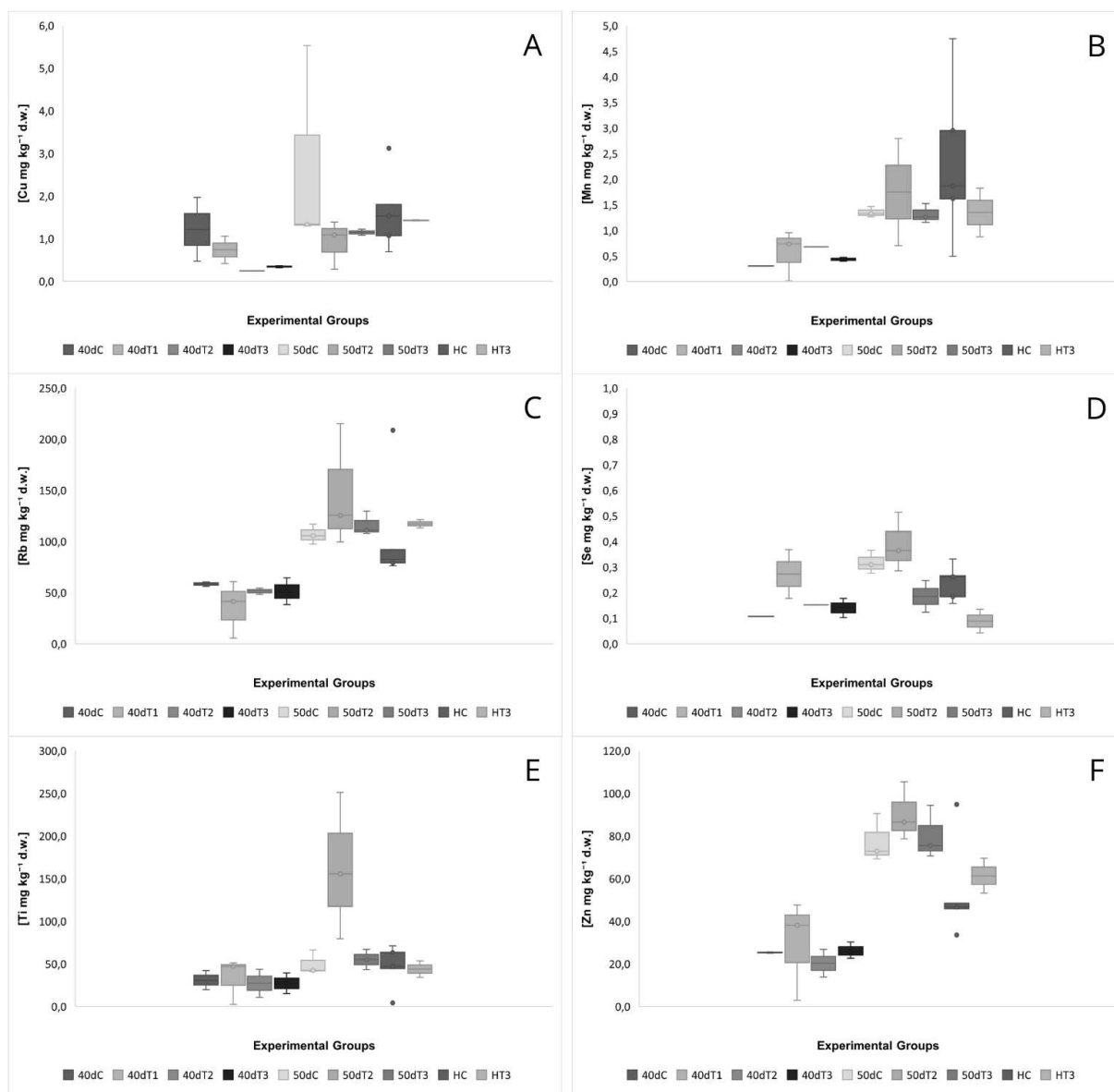


Figura 4. Distribuição das concentrações (mg kg⁻¹) de metais e metalóides em músculo de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Cobre (Cu); (B) Manganês (Mn); (C) Rubídio (Rb); (D) Selênio (Se); (E) Titânio (Ti); (F) Zinco (Zn). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 (0,53 µg L⁻¹); T2 - tratamento 2 (5,3 µg L⁻¹); T3 - tratamento 3 (53 µg L⁻¹).

Tecido hepático

No tecido hepático, observou-se uma dinâmica de distribuição dos elementos distinta da vista no tecido muscular. Para os elementos Fe, Cd, As e Mn, as medianas nominais mais elevadas foram observadas no estágio inicial de desenvolvimento no grupo controle (40dC),

com redução nos valores nominais para os grupos tratados do mesmo estágio (40dT1, T2 e T3). Em contraste, o Cu e o Se apresentaram um padrão de acúmulo dependente do estágio de desenvolvimento, com picos de concentração e maior dispersão de dados ocorrendo nos filhotes expostos à maior concentração do pesticida (HT3) (Figura 5). Adicionalmente, o pico observado no tratamento intermediário de 50 dias (50dT2) foi evidenciado pelas concentrações de estrôncio (Sr), alumínio (Al) e bário (Ba). Os demais elementos analisados (Zn, Ti, Cr e Rb) apresentaram variações sutis entre os grupos.

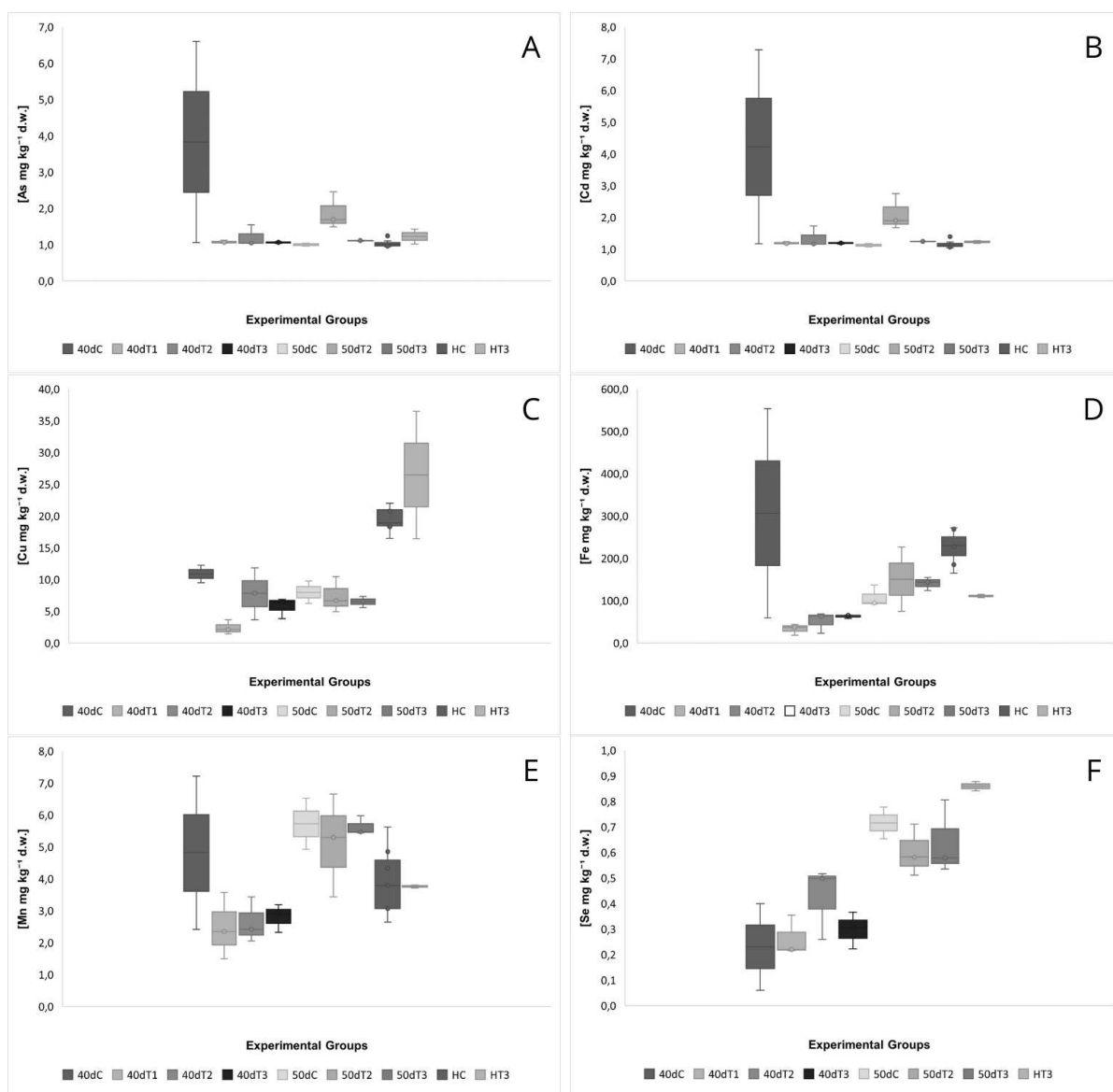


Figura 5. Distribuição das concentrações (mg kg⁻¹) de metais e metalóides em fígado de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Arsênio (As); (B) Cádmio (Cd); (C) Cobre (Cu); (D) Ferro (Fe); (E) Manganês (Mn); (F) Selênio (Se). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C =

controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).

Carapaça

Diferentemente dos tecidos moles, a carapaça apresentou um padrão progressivo de aumento nominal para alguns metais, como o Ba e Zn. As concentrações desses metais elevaram-se gradualmente dos estágios de 40 para 50 dias de incubação, atingindo o ápice nos filhotes (H), com medianas nominais mais elevadas observadas no grupo exposto (HT3). Observou-se que, nos embriões de 40 e 50 dias, as concentrações de cobre (Cu) permaneceram baixas, enquanto nos filhotes expostos ocorreu um aumento acentuado. Adicionalmente, o padrão de acúmulo e elevada dispersão de dados no tratamento intermediário de 50 dias (50dT2) foi novamente verificado para elementos como As, Cd, Rb e Se (Figura 6). Os demais elementos avaliados na carapaça não apresentaram variações visuais expressivas entre os grupos experimentais.

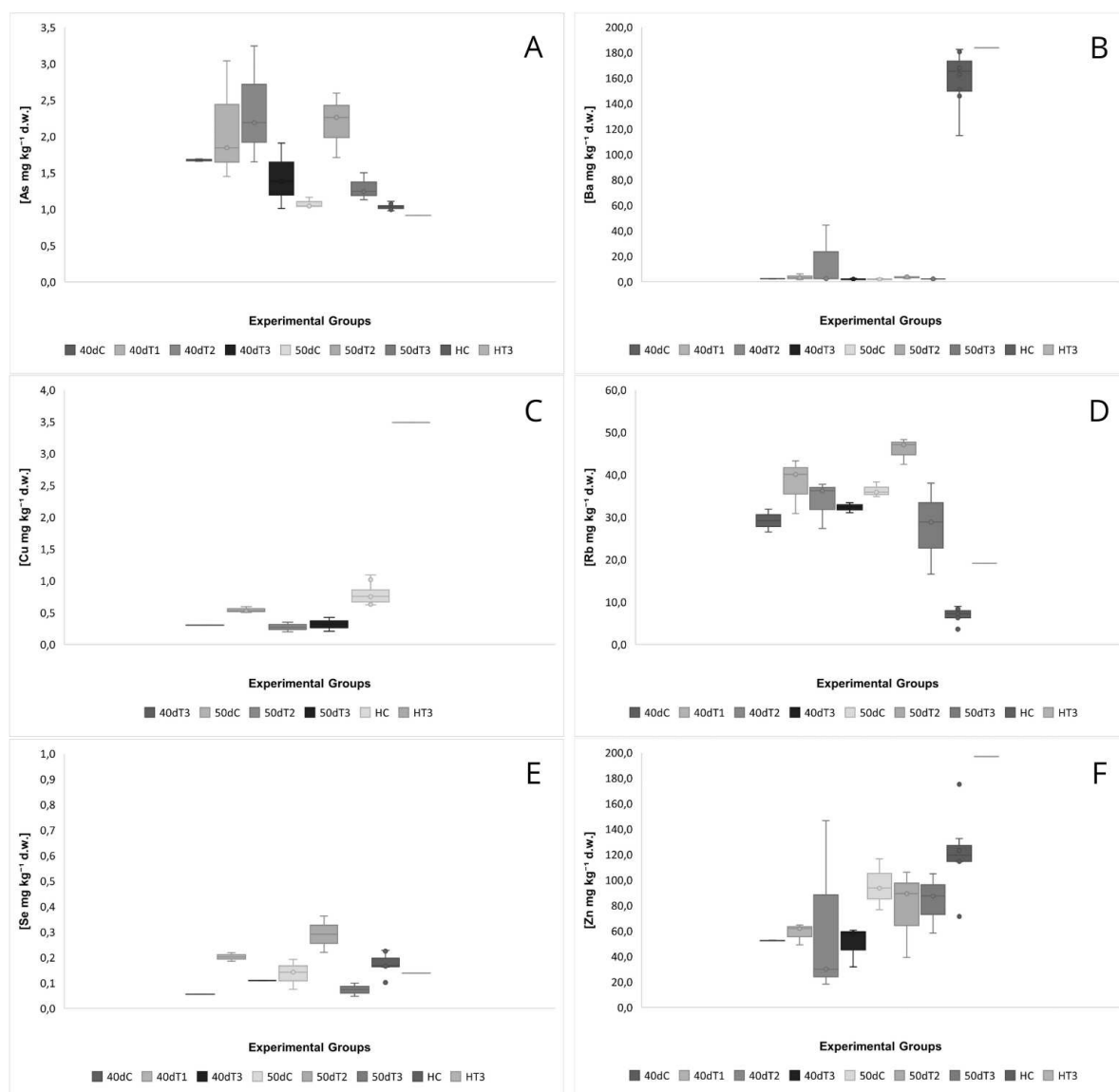


Figura 6. Distribuição das concentrações (mg kg^{-1}) de metais e metalóides em carapaça de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Arsênio (As); (B) Bário (Ba); (C) Cobre (Cu); (D) Rubídio (Rb); (E) Selênio (Se); (F) Zinco (Zn). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 ($0,53 \mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 ($5,3 \mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 ($53 \mu\text{g L}^{-1}$).

Unhas

A análise do tecido queratinizado das unhas foi realizada em embriões de 50 dias e filhotes e revelou um perfil de acumulação mineral que reflete tanto a ontogenia quanto uma possível resposta à exposição. Elementos como Mn, Ba e Sr apresentaram um valor nominal expressivo nos filhotes, com destaque para o grupo HT3. De forma consistente com os demais

tecidos analisados, o grupo 50dT2 exibiu picos de concentração para Cd, As e Rb (Figura 7). Notavelmente, o Ti apresentou um comportamento atípico, com reduções nominais marcantes nos grupos tratados em comparação aos controles (50dC e HC).

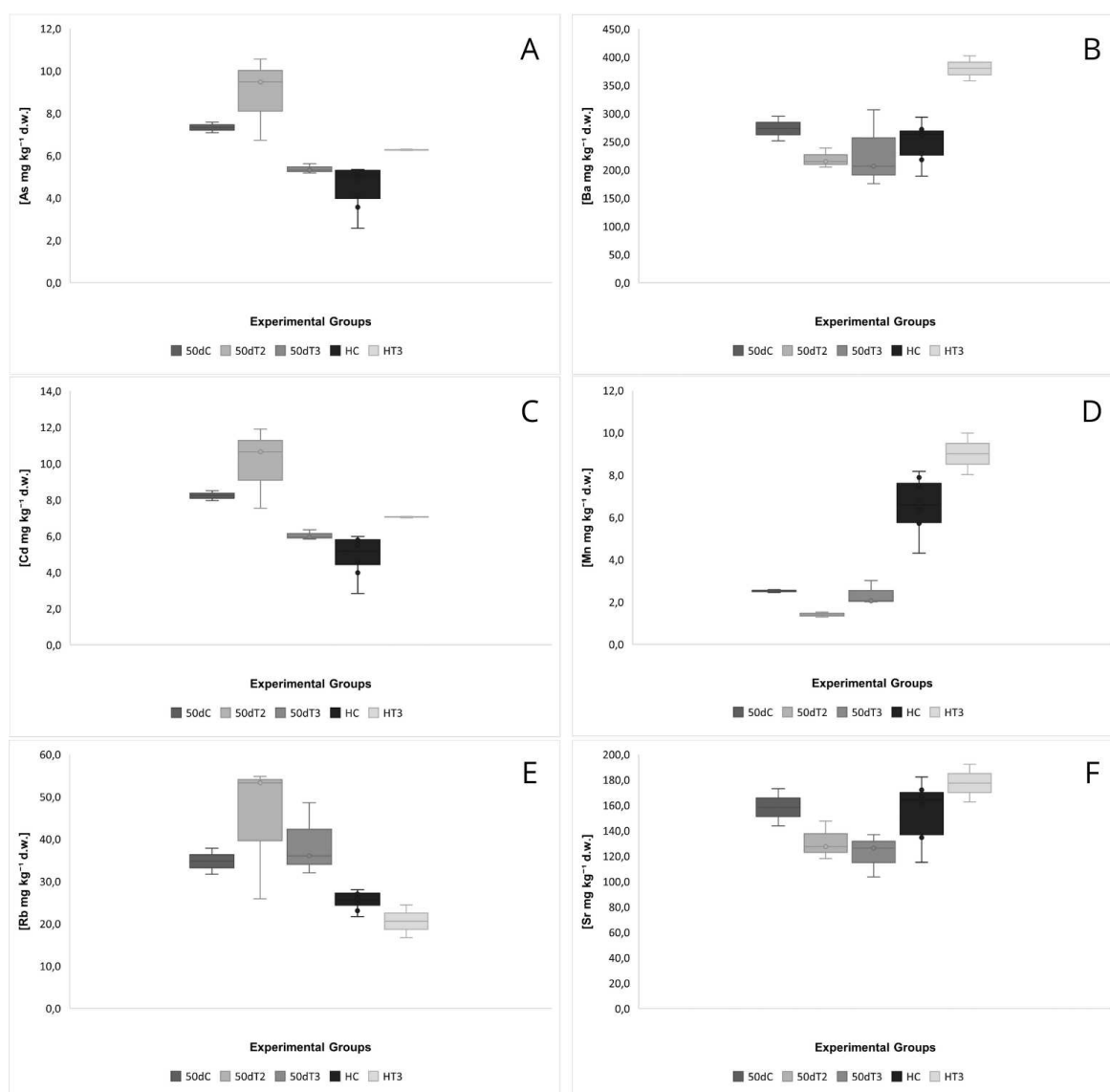


Figura 7. Distribuição das concentrações (mg kg⁻¹) de metais e metalóides em unha de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Arsênio (As); (B) Bário (Ba); (C) Cádmio (Cd); (D) Manganês (Mn); (E) Rubídio (Rb); (F) Estrôncio (Sr) Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 (0,53 µg L⁻¹); T2 - tratamento 2 (5,3 µg L⁻¹); T3 - tratamento 3 (53 µg L⁻¹).

Olho

No tecido ocular, o perfil de acumulação dos elementos foi variável em função do estágio de desenvolvimento e dos grupos experimentais dos embriões de 50 dias e filhotes. O Ti e o Zn demonstraram tendências de elevação nominal nos filhotes em comparação aos embriões, onde o Ti exibiu valores nominais mais elevados nos grupos tratados (50dT2 e 50dT3). De forma consistente com os demais tecidos, elementos tóxicos como As e Cd apresentaram picos de concentração e elevada dispersão no grupo 50dT2 (Figura 8). O Ba seguiu o padrão observado para o 50dT2, mantendo, contudo, níveis elevados nos filhotes tratados (HT3).

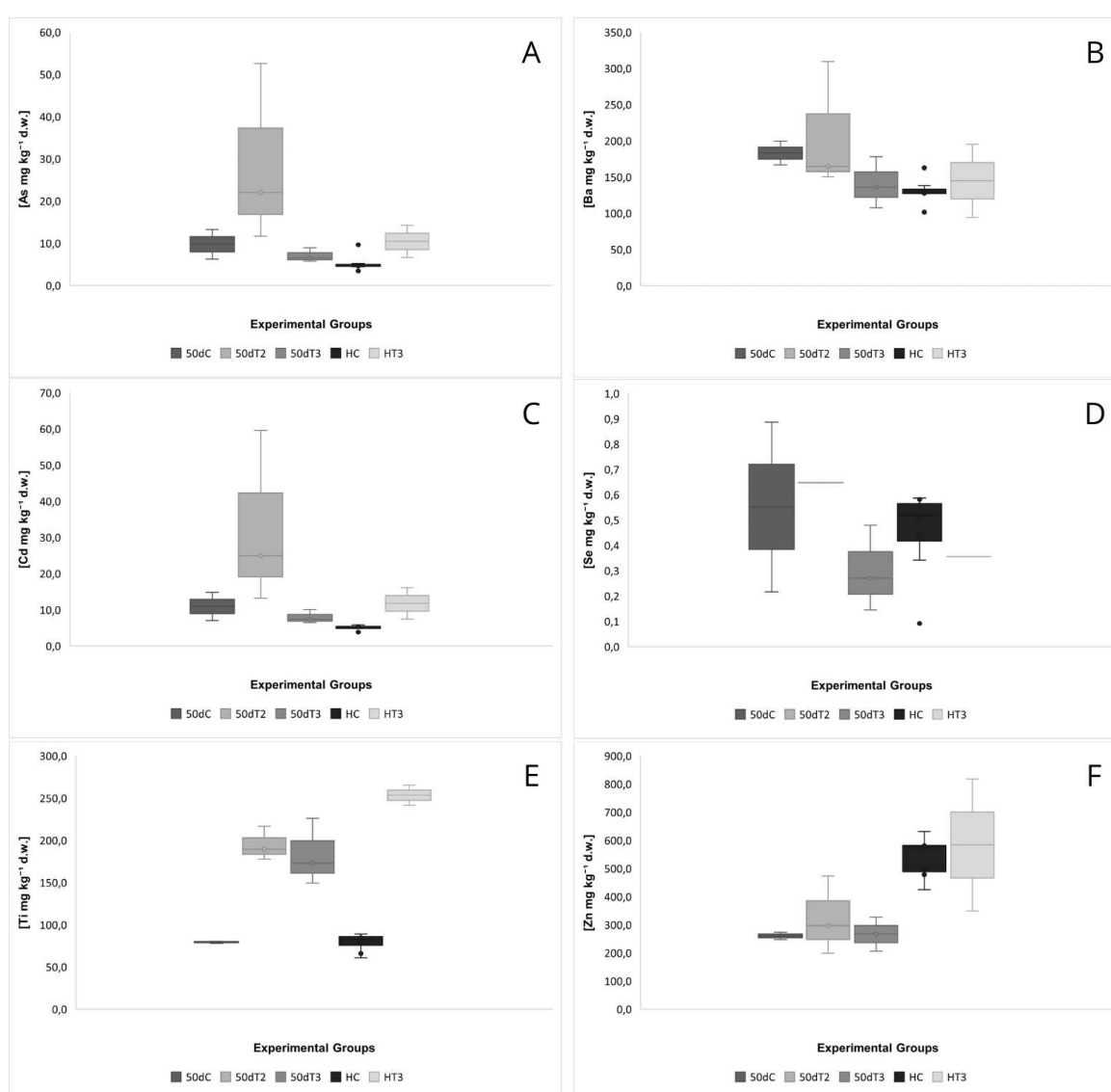


Figura 8. Distribuição das concentrações (mg kg⁻¹) de metais e metaloides em olho de *Podocnemis expansa*, nos diferentes grupos experimentais e estágios de desenvolvimento. (A) Arsênio (As); (B) Bário (Ba); (C) Cádmio (Cd); (D) Selênio (Se); (E) Titânio (Ti); (F) Zinco

(Zn). Legenda: 40d - embriões de 40 dias; 50d - embriões de 50 dias; H - filhotes; C = controle; T1 - tratamento 1 (0,53 $\mu\text{g L}^{-1}$); T2 - tratamento 2 (5,3 $\mu\text{g L}^{-1}$); T3 - tratamento 3 (53 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Discussão

A exposição ao pesticida durante o desenvolvimento de *Podocnemis expansa* não se manifesta apenas com um efeito isolado, mas como um processo de desregulação sistêmica, evidenciado pela integração dos biomarcadores de estresse oxidativo e da distribuição tecidual de metais e metaloides. Os biomarcadores de estresse oxidativo avaliados no presente estudo (GSH, carbonilação proteica e CAOT) evidenciam alterações relacionadas ao estágio de desenvolvimento e concentração de exposição, indicando ativação e reorganização do sistema antioxidante ao longo do desenvolvimento embrionário e pós-eclosão de *P. expansa*.

Considerando que os níveis de GSH refletem a capacidade de neutralização das espécies reativas de oxigênio (ROS) (Ghezzi, 2020), o aumento observado nos grupos submetidos ao tratamento de maior concentração (T3) sugere ativação do sistema antioxidante como resposta adaptativa ao estresse oxidativo induzido pelo pesticida. De forma semelhante ao descrito no estudo de Ullah *et al.* (2018) em que espécimes de carpa rohu (*Labeo rohita*) foram expostos ao malathion e observaram também o aumento de GSH em tecido hepático, interpreta-se os resultados como uma resposta protetora do organismo para mitigar os danos celulares causados pelas ROS geradas pelo pesticida (Ibrahim, 2019).

No entanto, em diferentes tecidos e outros organismos, o pesticida está associado à depleção de GSH, como em tecido ovariano e testicular de ratos (Arab *et al.*, 2018; Taherdehi *et al.*, 2019) e órgãos de carpa prussiana (*Carassius auratus gibelio*) (Huculeci *et al.*, 2009). De modo geral, a literatura indica que a exposição ao malathion nem sempre resulta em aumento dos níveis de GSH, uma vez que pode ser consumida durante a neutralização das espécies reativas de oxigênio, embora possa ocorrer em conjunto a geração de enzimas relacionadas ao metabolismo da GSH como resposta adaptativa ao estresse oxidativo.

Paralelamente, observou-se elevação dos níveis de carbonilação proteica nos grupos tratados, especialmente no T3, indicando maior dano oxidativo irreversível às proteínas. Esses achados, associados ao aumento dos níveis de GSH observado nos mesmos grupos, podem sugerir que, apesar da ativação do sistema antioxidante, os mecanismos de defesa não foram suficientes para prevenir completamente a oxidação proteica, sobretudo nos estágios mais avançados do desenvolvimento. Esse padrão também foi constatado por Ibrahim (2019) em seu estudo que objetivou avaliar as alterações no fígado de tilápias do Nilo (*Oreochromis*

niloticus) expostas cronicamente ao malathion, nas quais a carbonilação proteica aumentou de forma dose-dependente. Além disso, nos filhotes do grupo T3 do presente estudo, os níveis mais elevados desse biomarcador, quando comparados tanto aos embriões quanto aos filhotes do grupo controle, podem refletir a exposição cumulativa ao pesticida durante e após o desenvolvimento embrionário.

A análise da capacidade antioxidante total (CAOT) complementa esses achados, fornecendo uma visão mais geral e integrada da atividade de defesa antioxidante. A redução de CAOT observada em embriões de 50 dias submetidos ao tratamento de maior concentração (50dT3) sugere consumo dos antioxidantes totais frente ao estresse oxidativo, favorecendo o aumento da carbonilação proteica do grupo. Resultados semelhantes foram vistos por Ibrahim (2019), que atribuiu a diminuição da CAOT hepática à superprodução de radicais livres durante a desintoxicação do pesticida.

As variações observadas ao longo do desenvolvimento embrionário e pós-eclosão refletem alterações na capacidade antioxidante e no balanço redox dos organismos avaliados, assim a análise da distribuição de metais e metaloides nos diferentes tecidos auxilia a compreensão dessas respostas, uma vez que muitos desses elementos participam direta ou indiretamente de processos oxidativos, seja como cofatores enzimáticos essenciais ou de modo a induzir estresse oxidativo (Haskins et al., 2017a; Pajarillo et al., 2021; Morão et al., 2022; Zeng et al., 2025).

Um achado recorrente entre os tecidos foi o destaque do tratamento intermediário aos 50 dias de incubação (50dT2), que apresentou concentrações nominais mais elevadas e maior dispersão dos dados para diversos elementos tóxicos e não essenciais, como As, Cd, Ba, Rb e Ti. De modo geral, durante a formação dos ovos, naturalmente ocorre transferência materna de muitos oligoelementos, como o Fe e o Mn, que são nutrientes essenciais para o desenvolvimento embrionário (Keen et al., 1997; Zárate et al., 2013; Kocmoud et al., 2019; Frossard et al., 2020; Frossard et al., 2021). Contudo, durante esse processo natural, metais não essenciais também são transferidos, provavelmente (Frossard et al., 2020). Adicionalmente, esse padrão observado no grupo 50dT2, pode sugerir um possível fenômeno de dose-resposta não monotônica (NMDR), onde o sentido da curva da relação entre dose e efeito se inverte em algum ponto, onde o efeito primeiro cresce e depois diminui, ou o contrário, dentro da faixa de doses estudada (Schoenfelder, 2014; Hill, Myers & Vandenberg, 2018). Como observado nesse caso, em que a presença dos metais foi mais evidente no grupo intermediário do que nos outros tratados.

O aumento nominal de metais de transição como o Cu e o Fe no fígado e músculo favorece a geração de ROS (Zeng et al., 2025), fornecendo uma explicação da redução de CAOT observada nos embriões de 50 dias. Somado a isso, constatou-se a forte presença do Al e Cr no tecido muscular, especialmente no grupo 50dT2. Apesar de não existirem valores limite de toxicidade para metais em quelônios amazônicos, assim como em tartarugas marinhas, sabe-se que elementos não essenciais como Al, As, Cd e Cr são tóxicos mesmo em concentrações mais baixas em diferentes organismos (Jakimska et al., 2011; Morão et al., 2022) e podem potencializar a formação de radicais livres, gerando estresse oxidativo (Igbokwe et al., 2019; Zeng et al., 2025), contribuindo para os dados obtidos de GSH e CAOT. Os níveis nominalmente mais elevados de Cu e Mn podem refletir a atividade antioxidante mais presente, considerando que são cofatores da superóxido dismutase (SOD), Cu/Zn-SOD e Mn-SOD, as quais convertem o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em H_2O_2 , reduzindo dano a DNA, lipídios e proteínas (Wołonciej, Milewska & Roszkowska-Jakimiec, 2016).

No tecido hepático de embriões, elementos como Fe, Cd, As e Mn apresentaram medianas mais elevadas no grupo controle de 40 dias (40dC) em relação aos grupos tratados, sugerindo que o fígado dos embriões de 40 dias possui uma reserva alta desses metais. Possivelmente essas quantidades foram obtidas via transferência materna, considerando que as fêmeas adquirem metais através da cadeia alimentar e esses elementos podem ser armazenados ou eliminados por elas (Burger & Gochfeld, 1991; Frossard et al., 2020), sendo a reprodução uma via viável de excreção do excesso desses metais para as tartarugas, transferindo os poluentes para seus ovos (Sakai et al. 1995). Assim como sugerido por Nagle et al. (2001) com o estudo com tartarugas de água doce (*Trachemys scripta* e *Chrysemis picta*), a transferência materna de elementos tóxicos para os ovos pode ser vantajosa para as fêmeas, considerando que podem diminuir a concentração de metais em seus próprios organismos durante os eventos de nidificação. Ainda, assim como observado no músculo, Sr, Al e Ba apresentaram um pico de concentração e maior dispersão no tratamento intermediário aos 50 dias, reforçando a hipótese de que nesse estágio, essa concentração ocasionou elevada vulnerabilidade sistêmica ou na proteção pela casca do ovo para *P. expansa*.

Em contraste com os embriões, os filhotes expostos ao pesticida (HT3) apresentaram um perfil distinto de distribuição dos metais e metaloides, especialmente em relação aos metais essenciais. Elementos como Zn, Cu e Se demonstraram tendências de maior acúmulo nos filhotes, principalmente em tecidos associados ao crescimento, proteção e atividade metabólica, como carapaça, fígado e músculo. O aumento das concentrações de Se no fígado dos filhotes controle e expostos se torna preocupante ao considerar que existe uma estreita

faixa entre a essencialidade e a toxicidade do elemento, especialmente a nível reprodutivo em vertebrados ovíparos (Janz et al., 2010; Haskins et al., 2017a). De forma semelhante, estudos realizados com tartarugas-de-orelha-amarela (*Trachemys scripta scripta*) evidenciaram o acúmulo de altos níveis de selênio (Se) no tecido hepático, além de sangue e garras (Nagle et al. 2001; Haskins et al. 2017b).

Sabe-se que a exposição a altos níveis de Se também está comumente associada ao estresse oxidativo em vertebrados (Chapman et al. 2009; Haskins et al., 2017a), assim, nesse contexto, considerando também os danos oxidativos induzidos pelo pesticida, além da presença elevada de Cu, um metal com potencial pró-oxidante, o aumento concomitante de GSH e CAOT no fígado dos filhotes expostos sugere uma forte resposta antioxidante hepática sob condições de exposição. Contudo, apesar dessa reorganização antioxidante, os altos níveis de carbonilação proteica observados no tecido hepático filhotes HT3 indicam que tais mecanismos não foram totalmente eficazes em prevenir o dano oxidativo.

A distribuição de metais em filhotes de tartarugas, tanto em espécies marinhas quanto de água doce, tem sido pouco investigada, contudo, pesquisas realizadas em tartarugas adultas e ovos evidenciam que a concentração de metais geralmente segue a ordem: rins, fígado, músculos e ovos (Storelli & Marcotrigiano, 2003; Jakimska et al., 2011; Ross et al., 2017; Frossard et al., 2020). No presente estudo, observou-se um possível fenômeno de sequestro mineral, onde o excesso de metais, como Ba, Cu, Mn e Sr, foi direcionado para tecidos de crescimento contínuo e queratinizados, como a carapaça e as unhas, possivelmente como uma tentativa de reduzir a toxicidade sistêmica ou mesmo atuarem como vias de excreção para elementos inorgânicos (Faust et al., 2014; Aib et al., 2025).

A carapaça apresentou aumento progressivo de Ba e Zn associado ao estágio de desenvolvimento, assim como visto por Frossard et al. (2020), onde foi constatada relação mais forte da carapaça com Al e Zn. Notavelmente, os filhotes do grupo HT3 apresentaram uma elevação acentuada nos níveis de Cu também, o que pode representar uma resposta adaptativa de compartimentalização ou excreção de metais pró-oxidantes para reduzir a toxicidade sistêmica. De modo geral, a detecção de oligoelementos como Fe, Zn, Mn e Sr provavelmente refletem suas funções fisiológicas na substituição mineral, atividade enzimática e metabolismo ósseo, contudo, a presença de elementos não essenciais ou potencialmente tóxicos, incluindo o Ba identificado no presente estudo, sugere contaminação ambiental, reforçando o papel da carapaça como um reservatório passivo para poluentes exógenos (Becker et al., 2025; Aib et al., 2025).

Quanto à análise do tecido queratinizado das unhas, identificou-se um perfil de acumulação mineral que pode refletir tanto a ontogenia quanto a resposta à exposição ao pesticida. Elementos como Mn, Ba e Sr apresentaram aumentos nominais expressivos nos filhotes, com destaque para o grupo exposto, sugerindo também uma estratégia de sequestro mineral ou excreção em tecidos periféricos de crescimento contínuo (Faust et al., 2014). Ainda, o Ti apresentou reduções marcantes nos grupos tratados em comparação aos controles, indicando uma possível interferência do pesticida na homeostase deste elemento, levando ao seu excesso em outros órgãos.

Assim, diferentemente do observado nas unhas, o tecido ocular apresentou aumento de Ti nos grupos expostos, tanto em embriões (50dT2 e 50dT3), quanto em filhotes (HT3). Esses dados sugerem que a exposição ao pesticida pode estar associada a alterações na permeabilidade de barreiras biológicas sensíveis, como a barreira hemato-retiniana facilitando a entrada e retenção de metais, como o Ti, em órgãos sensoriais, potencialmente mais suscetíveis a danos oxidativos. Sabe-se que a exposição a organofosforados está associada ao aumento da permeabilidade de barreiras sensíveis do sistema nervoso central (SNC), especialmente a barreira hematoencefálica, mas os efeitos na barreira hemato-retiniana são plausíveis, embora ainda não tenham sido demonstrados diretamente (Ravid et al., 2018).

De modo geral, a distribuição tecidual de metais e metaloides observada ao longo do desenvolvimento embrionário e pós-eclosão de *Podocnemis expansa* indicam que a exposição ao pesticida pode promover não apenas alterações na concentração desses elementos, mas também uma reorganização da deposição entre os diferentes tecidos. Além disso, foi possível notar o aumento do estresse oxidativo diante da exposição ao malathion, juntamente do aumento das concentrações dos diferentes metais. As demandas ontogenéticas modulam essa redistribuição, mas nesses casos também há mecanismos adaptativos de compartimentalização, objetivando a proteção de órgãos vitais. Entretanto, a exposição contínua contribui com o cenário analisado, sugerindo que tais mecanismos podem ser insuficientes, considerando as estratégias compensatórias com evidências de estresse oxidativo persistente e os danos moleculares observados.

Os resultados obtidos apresentam grande relevância para o estudo e conservação da espécie, contudo, algumas limitações devem ser ressaltadas, como o tamanho amostral reduzido, em particular no grupo de filhotes, o que contribuiu para uma distribuição desigual entre os tratamentos, impossibilitando a realização de análises estatísticas inferenciais, com a interpretação dos resultados sendo apenas descritiva. Essa limitação está relacionada principalmente às perdas ocorridas durante o desenvolvimento embrionário, que pode ocorrer

ao se trabalhar com espécies silvestres, especialmente em estágios iniciais de desenvolvimento. Além disso, as concentrações de malathion utilizadas corresponderam a valores nominais, sem confirmação analítica dos níveis ao longo do tempo na matriz de incubação, não sendo possível confirmar e acompanhar a estabilidade e/ou degradação do pesticida durante o período experimental, o que pode ter influenciado a exposição real dos embriões.

É importante considerar também a influência da transferência materna de contaminantes ou de diferenças fisiológicas entre ninhadas, que podem ter atuado como fatores de confusão, influenciando os níveis de biomarcadores avaliados e contribuindo para a variabilidade observada entre os grupos. Diante do exposto, o presente estudo abre perspectivas para novas pesquisas envolvendo os quelônios amazônicos, assim como a análises de outros órgãos. Estudos futuros devem priorizar delineamentos experimentais com maior número amostral e estratificação por ninhada, minimizando possíveis vieses associados à variabilidade materna e ambiental, possibilitando análises estatísticas inferenciais mais robustas. Novas possibilidades podem considerar a investigação de outros biomarcadores de estresse oxidativo, como a peroxidação lipídica (MDA) e as atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), permitindo uma compreensão mais integrada das respostas fisiológicas. Por fim, estudos com delineamentos experimentais mais amplos e controle rigoroso das variáveis ambientais poderão contribuir para elucidar com maior precisão os efeitos do malathion durante o desenvolvimento embrionário de *Podocnemis expansa*.

Conclusão

Em uma abordagem descritiva, o presente estudo indica que a exposição ao malathion durante a embriogênese de *Podocnemis expansa* está associada a alterações nos perfis de elementos minerais e a respostas relacionadas ao estresse oxidativo, observadas em condições experimentais controladas.

Os resultados sugerem que o estágio embrionário de 50 dias exposto ao pesticida pode representar um período de maior desequilíbrio às variações na homeostase mineral, enquanto os filhotes do grupo tratado refletem possível redistribuição de elementos e efeitos cumulativos da exposição ao longo do desenvolvimento. No entanto, as alterações observadas refletem respostas fisiológicas potenciais associadas à exposição experimental, sem caracterizar, de forma definitiva, efeitos adversos ou comprometimento funcional.

Nesse contexto, estudos futuros maiores, controlados por ninho e com confirmação analítica da exposição por meio de medições ao longo do período de incubação são necessários para elucidar os mecanismos envolvidos e estabelecer relações causais mais robustas, contribuindo para uma compreensão mais precisa das implicações ecológicas da exposição a pesticidas em estágios iniciais do desenvolvimento de quelônios amazônicos.

Referências

- Aib, H., Bakhouch, B., Nyeste, K., Dönczö, B., Chabani, S., Saadi, A., Varga, Z., & Czédli, H. M. (2025). Hard Evidence from Turtle Shells: Tracing Metal and Non-Metallic Elements Bioaccumulation in Freshwater Ecosystems. *Environments*, 12(11), 445. <https://doi.org/10.3390/environments12110445>
- Alho, C. J. R., Reis, R. E., & Aquino, P. P. U. (2015). Amazonian freshwater habitats experiencing environmental and socioeconomic threats affecting subsistence fisheries. *Ambio*, 44(5), 412–425. <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0610-z>
- Arab, S. A., Nikraves, M. R., Jalali, M., & Fazel, A. (2018). Evaluation of oxidative stress indices after exposure to malathion and protective effects of ascorbic acid in ovarian tissue of adult female rats. *Electronic Physician*, 10(5), 6789–6795. <https://doi.org/10.19082/6789>
- Badr, A. M. (2020). Organophosphate toxicity: Updates of malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(21), 26036–26057. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08937-4>
- Becker, D. N., Brown, D. J., Hubbard, J. A., & Anderson, J. T. (2025). Environmental factors influencing bioaccumulation of xenobiotic metals in freshwater turtles. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 37(1). <https://doi.org/10.1080/26395940.2025.2474007>
- Bogen, K. T., & Singhal, A. (2017). Malathion dermal permeability in relation to dermal load: Assessment by physiologically based pharmacokinetic modeling of *in vivo* human data. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 52(2), 138–146. <https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1248150>
- Burger, J., & Gochfeld, M. (1991). Cadmium and lead in common terns (Aves: *Sterna hirundo*): Relationship between levels in parents and eggs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 16(3), 253–258. <https://doi.org/10.1007/BF00397612>

de Azeredo Morgado, M. G., Passos, C. J. S., Garnier, J., de Lima, L. A., de Alcântara Mendes, R., Samson-Brais, É., & Lucotte, M. (2023). Large-Scale Agriculture and Environmental Pollution of Ground and Surface Water and Sediment by Pesticides in the Brazilian Amazon: the Case of the Santarém Region. *Water, Air, & Soil Pollution*, 234(3), 150. <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06152-8>

de Paula Silva, L. A., Michalski, F., & Norris, D. (2025). Anthropogenic threats increase vulnerability of *Podocnemis unifilis* nesting areas in the most protected Brazilian Amazon State. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 13. <https://doi.org/10.3389/fevo.2025.1622535>

Eisemberg, C. C., Machado Balestra, R. A., Famelli, S., Pereira, F. F., Diniz Bernardes, V. C., & Carl Vogt, R. (2016). Vulnerability of Giant South American Turtle (*Podocnemis expansa*) nesting habitat to climate-change-induced alterations to fluvial cycles. *Tropical Conservation Science*, 9(4). <https://doi.org/10.1177/1940082916667139>

Faust, D. R., Hooper, M. J., Cobb, G. P., Barnes, M., Shaver, D., Ertolacci, S., & Smith, P. N. (2014). Inorganic elements in green sea turtles (*Chelonia mydas*): Relationships among external and internal tissues. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(9), 2020–2027. <https://doi.org/10.1002/etc.2650>

Félix-Silva, D., Pezzuti, J. C. B., Alcântara, A., Barboza, R. S. L., Derzi, M. V. (2019). Ameaças aos quelônios amazônicos. In R. V. Lacava & R. A. M. Balestra (Eds.), *Plano de ação nacional para a conservação dos quelônios amazônicos* (Cap. 8, pp. 142–165). Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). <https://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/livros/PANqueloniosamazonicos.pdf>

Ferrara, C. R., Bernardes, V. C. D., Waldez, F., Vogt, R. C., Bernhard, R., Balestra, R. A. M., Bataus, Y. S. L. e Campos, J. V. (2016). História natural e biologia dos quelônios amazônicos. In *Manejo conservacionista e monitoramento populacional de quelônios amazônicos* (pp. 15–28). Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30201.67683>

Forero-Medina, G., Ferrara, C. R., Vogt, R. C., Fagundes, C. K., Balestra, R. A. M., Andrade, P. C. M., Lacava, R., Bernhard, R., Lipman, A. J., Lenz, A. J., Ferrer, A., Calle, A., Aponte, A. F., Calle-Rendón, B. R., Santos Camilo, C., Perrone, E., Miraña, E., Cunha, F. A. G., Loja, E., Horne, B. D. (2021). On the future of the giant South American river turtle *Podocnemis expansa*. *Oryx*, 55(1), 73–80. <https://doi.org/10.1017/S0030605318001370>

- Frossard, A., Vieira, L. V., Carneiro, M. T. W. D., Gomes, L. C., & Chippari-Gomes, A. R. (2020). Accumulation of trace metals in eggs and hatchlings of *Chelonia mydas*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62, 126654. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126654>
- Frossard, A., Coppo, G. C., Lourenço, A. T., Heringer, O. A., & Chippari-Gomes, A. R. (2021). Metal bioaccumulation and its genotoxic effects on eggs and hatchlings of giant Amazon river turtle (*Podocnemis expansa*). *Ecotoxicology*, 30(4), 643–657. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02384-8>
- Geng, X., Shao, H., Zhang, Z., Ng, J. C., & Peng, C. (2015). Malathion-induced testicular toxicity is associated with spermatogenic apoptosis and alterations in testicular enzymes and hormone levels in male Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 659–667. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.01.010>
- Ghezzi, P. (2020). Environmental risk factors and their footprints in vivo – A proposal for the classification of oxidative stress biomarkers. *Redox Biology*, 34. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101442>.
- Guyton, K. Z., Loomis, D., Grosse, Y., el Ghissassi, F., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Scoccianti, C., Mattock, H., & Straif, K. (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*, 16(5), 490–491. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70134-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70134-8)
- Haskins, D. L., Hamilton, M. T., Stacy, N. I., Finger, J. W., & Tuberville, T. D. (2017a). Effects of selenium exposure on the hematology, innate immunity, and metabolic rate of yellow-bellied sliders (*Trachemys scripta scripta*). *Ecotoxicology*, 26(8), 1134–1146. <https://doi.org/10.1007/s10646-017-1839-7>
- Haskins, D. L., Hamilton, M. T., Jones, A. L., Finger, J. W., Bringolf, R. B., & Tuberville, T. D. (2017b). Accumulation of coal combustion residues and their immunological effects in the yellow-bellied slider (*Trachemys scripta scripta*). *Environmental Pollution*, 224, 810–819. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.048>
- Hill, C. E., Myers, J. P., & Vandenberg, L. N. (2018). Nonmonotonic Dose–Response Curves Occur in Dose Ranges That Are Relevant to Regulatory Decision-Making. *Dose-Response*, 16(3). <https://doi.org/10.1177/1559325818798282>

Huculeci, R., Dinu, D., Staicu, A. C., Munteanu, M. C., Costache, M., & Dinischiotu, A. (2009). Malathion-induced alteration of the antioxidant defence system in kidney, gill, and intestine of *Carassius auratus gibelio*. *Environmental Toxicology*, 24(6), 523–530. <https://doi.org/10.1002/tox.20454>

Ibrahim, A. T. (2019). Biochemical and histopathological response of *Oreochromis niloticus* to malathion hepatotoxicity. *Journal of Royal Science*, 1(1), 10–15. https://www.researchgate.net/publication/339124282_Biochemical_and_histopathological_response_of_Oreochromis_niloticus_to_malathion_hepatotoxicity

Igbokwe, I. O., Igwenagu, E., & Igbokwe, N. A. (2019). Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects. *Interdisciplinary Toxicology*, 12(2), 45–70. <https://doi.org/10.2478/intox-2019-0007>

Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Demirel, H. H., Varol, N., Ozyurek, H. A., Zemheri, F., & Kucukkurt, I. (2017). Taurine alleviates malathion induced lipid peroxidation, oxidative stress, and proinflammatory cytokine gene expressions in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, 263–268. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.141>

Jakimska-Nagórska, A., Konieczka, P., Skóra, K., & Namieśnik, J. (2011). Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, part I: the role and impact of heavy metals on organisms. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20, 1117–1125. <https://www.pjoes.com/pdf-88659-22518>

Janz, D. M., DeForest, D. K., Brooks, M. L., Chapman, P. M., Gilron, G., Hoff, D., ... & Wayland, M. (2010). Selenium toxicity to aquatic organisms. *Ecological assessment of selenium in the aquatic environment*, 1, 141–231. <https://doi.org/10.1201/EBK1439826775>

Jenkins, C. N., Athayde, S., Beveridge, C. F., Correa, S. B., Espinoza, J., Heilpern, S. A., Herrera-R, G. A., Victoria-Lacy, L., Olivas, P., Oliveira, A., Piland, N. C., Utsunomiya, R., & Anderson, E. P. (2025). Global importance of Amazonian freshwaters. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 23(10). <https://doi.org/10.1002/fee.2868>

Jomova, K., Makova, M., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., Rhodes, C. J., & Valko, M. (2022). Essential metals in health and disease. *Chemico-Biological Interactions*, 367, 110173. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110173>

- Katerji, M., Filippova, M., & Duerksen-Hughes, P. (2019). Approaches and Methods to Measure Oxidative Stress in Clinical Samples: Research Applications in the Cancer Field. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–29. <https://doi.org/10.1155/2019/1279250>
- Keen, C. L., Taubeneck, M. W., Zidenberg-Cherr, S., Daston, G. P., & Rogers, J. M. (1997). Toxicant exposure and trace element metabolism in pregnancy. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 4(3–4), 301–308. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(97\)10028-X](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(97)10028-X)
- Kiran, T. R., Otlu, O., & Karabulut, A. B. (2023). Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*, 47(1), 1–11. <https://doi.org/10.1515/labmed-2022-0108>
- Kocmoud, A. R., Wang, H.-H., Grant, W. E., & Gallaway, B. J. (2019). Population dynamics of the endangered Kemp's ridley sea turtle following the 2010 oil spill in the Gulf of Mexico: Simulation of potential cause-effect relationships. *Ecological Modelling*, 392, 159–178. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2018.11.014>
- Li, J., Qin, Q., Li, Y.-X., Leng, X.-F., & Wu, Y.-J. (2021). Tri-ortho-cresyl phosphate exposure leads to low egg production and poor eggshell quality via disrupting follicular development and shell gland function in laying hens. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 225, 112771. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112771>
- Magalhães, M. S., Vogt, R. C., Sebben, A., Dias, L. C., de Oliveira, M. F., & de Moura, C. E. B. (2017). Embryonic development of the Giant South American River Turtle, *Podocnemis expansa* (Testudines: Podocnemididae). *Zoomorphology*, 136(4), 523–537. <https://doi.org/10.1007/s00435-017-0365-8>
- Mesquita, C. S., Oliveira, R., Bento, F., Geraldo, D., Rodrigues, J. v., & Marcos, J. C. (2014). Simplified 2,4-dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. *Analytical Biochemistry*, 458, 69–71. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2014.04.034>
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. *Clinical Science*, 84(4), 407–412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>

- Mojiri, A., Zhou, J. L., Robinson, B., Ohashi, A., Ozaki, N., Kindaichi, T., Farraji, H., & Vakili, M. (2020). Pesticides in aquatic environments and their removal by adsorption methods. *Chemosphere*, 253, 126646. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126646>
- Morão, I. F. C., Lemos, M. F. L., Félix, R., Vieira, S., Barata, C., & Novais, S. C. (2022). Stress response markers in the blood of São Tomé green sea turtles (*Chelonia mydas*) and their relation with accumulated metal levels. *Environmental Pollution*, 293, 118490. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118490>
- Mukherjee, D., Ghosh, S., Mandal, A. H., Saha, N. C., Faggio, C., Pastorino, P., & Saha, S. (2025). Silent threats beneath the surface: unraveling the impact of organophosphate toxicity on fish. *Science of The Total Environment*, 985, 179725. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.179725>
- Nagle, R. D., Rowe, C. L. & Congdon, J. D. (2001). Accumulation and Selective Maternal Transfer of Contaminants in the Turtle *Trachemys scripta* Associated with Coal Ash Deposition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40(4), 531–536. <https://doi.org/10.1007/s002440010206>
- Ozsoy, A. Z., Nursal, A. F., Karsli, M. F., Uysal, M., Alici, O., Butun, I., ... & Delibas, I. B. (2016). Protective effect of intravenous lipid emulsion treatment on malathion-induced ovarian toxicity in female rats. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 20(11). <https://www.europeanreview.org/article/10937>
- Norris, D., Michalski, F., & Gibbs, J. (2018). Beyond harm's reach? Submersion of river turtle nesting areas and implications for restoration actions after Amazon hydropower development. *PeerJ*, 6. <https://doi.org/10.7717/peerj.4228>
- Pajarillo, E. A. B., Lee, E., & Kang, D.-K. (2021). Trace metals and animal health: Interplay of the gut microbiota with iron, manganese, zinc, and copper. *Animal Nutrition*, 7(3), 750–761. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.03.005>
- Peterson, G. L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, 83(2), 346–356. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90043-4)

- Rahman, M. S., Islam, S. M. M., Haque, A., & Shahjahan, Md. (2020). Toxicity of the organophosphate insecticide sumithion to embryo and larvae of zebrafish. *Toxicology Reports*, 7, 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.02.004>
- Ravid, O., Elhaik Goldman, S., Macheto, D., Bresler, Y., de Oliveira, R. I., Liraz-Zaltsman, S., Gosselet, F., Dehouck, L., Beeri, M. S., & Cooper, I. (2018). Blood-Brain Barrier Cellular Responses Toward Organophosphates: Natural Compensatory Processes and Exogenous Interventions to Rescue Barrier Properties. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00359>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rebêlo, G. H., Pezzuti, J. C. B., Lugli, L., Moreira, G. (2005). Pesca artesanal de quelônios no Parque Nacional do Jaú (AM). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, 1(1), 109–125. <https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/21755>
- Rico, A., de Oliveira, R., Silva de Souza Nunes, G., Rizzi, C., Villa, S., de Caroli Vizioli, B., Montagner, C. C., & Waichman, A. V. (2022). Ecological risk assessment of pesticides in urban streams of the Brazilian Amazon. *Chemosphere*, 291, 132821. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.132821>
- Sakai, H., Ichihashi, H., Suganuma, H., & Tatsukawa, R. (1995). Heavy metal monitoring in sea turtles using eggs. *Marine Pollution Bulletin*, 30(5), 347–353. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(94\)00185-C](https://doi.org/10.1016/0025-326X(94)00185-C)
- Santos, R., De Sousa Correia, J., & Santos, E. (2021). Freshwater aquatic reptiles (Testudines and Crocodylia) as biomonitor models in assessing environmental contamination by inorganic elements and the main analytical techniques used: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09212-w>
- Sapbamrer, R., & Hongsisong, S. (2019). Effects of prenatal and postnatal exposure to organophosphate pesticides on child neurodevelopment in different age groups: a systematic review. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(18), 18267–18290. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05126-w>

- Schoenfelder, G. (2014). Non-monotonic low-dose effects? *Toxicology Letters*, 229, S36. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.06.169>
- Taherdehi, F. G., Nikraves, M. R., Jalali, M., Fazel, A., & Gorji Valokola, M. (2019). Evaluating the Protective Role of Ascorbic Acid in Malathion-induced Testis Tissue Toxicity of Male Rats. *International Journal of Preventive Medicine*, 10(1). https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_253_17
- Ullah, S., Li, Z., Hasan, Z., Khan, S. U., & Fahad, S. (2018). Malathion induced oxidative stress leads to histopathological and biochemical toxicity in the liver of rohu (*Labeo rohita*, Hamilton) at acute concentration. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 270–280. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.002>
- Wilhelm Filho, D., Torres, M. A., Zaniboni-Filho, E., & Pedrosa, R. C. (2005). Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847). *Aquaculture*, 244(1–4), 349–357. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.024>
- Wołonciej, M., Milewska, E., & Roszkowska-Jakimiec, W. (2016). Trace elements as an activator of antioxidant enzymes. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 70, 1483–1498. <https://doi.org/10.5604/17322693.1229074>
- Zárate, P., Bjorndal, K., Parra, M., Dutton, P., Seminoff, J., & Bolten, A. (2013). Hatching and emergence success in green turtle *Chelonia mydas* nests in the Galápagos Islands. *Aquatic Biology*, 19(3), 217–229. <https://doi.org/10.3354/ab00534>
- Zeng, Y., Song, Z., Song, G., Li, S., Sun, H., Zhang, C., & Li, G. (2025). Oxidative stress and antioxidant biomarker responses in fish exposed to heavy metals: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 197(8), 892. <https://doi.org/10.1007/s10661-025-14376-w>

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição ao malathion na avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e na determinação de metais e metaloides durante o desenvolvimento embrionário de *Podocnemis expansa*. Os resultados foram obtidos a partir de uma abordagem experimental e descritiva, permitindo identificar alterações que podem estar associadas à exposição ao pesticida, apesar de estar dentro de um contexto controlado e com limitações metodológicas do delineamento adotado. Apesar disso, de forma geral, os achados apresentam possíveis modificações na homeostase de metais e na ativação de respostas relacionadas ao estresse oxidativo, que se relacionam com a exposição ao malathion, especialmente em estágios específicos do desenvolvimento embrionário.

O período correspondente a 50 dias de incubação destacou-se como uma fase potencialmente mais sensível por conta das alterações observadas, enquanto os filhotes expostos apresentaram distribuição incomum de metais e metaloides ao longo do desenvolvimento inicial. Entretanto, considerando o tamanho amostral reduzido, a ausência de análises estatísticas inferenciais e a não quantificação analítica das concentrações do pesticida durante o experimento, os resultados obtidos não permitem inferências conclusivas quanto à toxicidade do malathion ou aos impactos diretos sobre a viabilidade fisiológica dos organismos, mas sugerem alterações fisiológicas compatíveis com respostas adaptativas ao estresse em condições experimentais.

O estudo contribui de forma relevante por expandir o conhecimento ecotoxicológico sobre os efeitos de contaminantes em quelônios amazônicos, já que é ainda pouco explorado, especialmente em fases iniciais. Os dados obtidos reforçam a importância de investigações que considerem biomarcadores do equilíbrio redox como ferramentas para a análise precoce de alterações fisiológicas. Por fim, ressalta-se a necessidade de futuros estudos com delineamentos experimentais mais robustos, maior controle por ninhada, quantificação do contaminante nos substratos de incubação e investigação de outros biomarcadores. Essas abordagens permitirão uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos envolvidos e contribuirão para o embasamento científico de estratégias de conservação e manejo.

**CAPÍTULO 2 – EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS AND
METAL(LOID) LEVELS IN EMBRYOS OF THE AMAZON RIVER TURTLE
(Podocnemis expansa) EXPOSED TO MALATHION**

(Artigo experimental)

SUBMETIDO NA HERPETOLOGICAL JOURNAL

QUALIS: Quadriênio 2021-2024: A4

FATOR DE IMPACTO (2024): 1.1

25/01/2026, 17:44

Gmail - Submission Acknowledgement



Ana Lucelha <analucelhavet@gmail.com>

Submission Acknowledgement

1 message

herpjournal@thebhs.org <herpjournal@thebhs.org>

Sun, Jan 25, 2026 at 5:43 PM

Reply-To: Herpetological Journal <bhsherpetologicaljournal@gmail.com>

To: Ana Lucelha dos Santos Silva <analucelhavet@gmail.com>, Myllena Valença Dorgon <myllenaacademico@gmail.com>, Lanna Daniela Printes Monteiro <lannadany@yahoo.com.br>, Marcela dos Santos Magalhães <marcelasmbio@gmail.com>, Rachel Ann Hauser-Davis <rachel.hauser.davis@gmail.com>

Hello,

Carlos Eduardo Moura has submitted the manuscript, "Evaluation of oxidative stress biomarkers and metal(loid) levels in embryos of the Amazon River turtle (*Podocnemis expansa*) exposed to malathion" to The Herpetological Journal.

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

The Herpetological Journal

bhsherpetologicaljournal@gmail.com

ANEXO B - AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA SISBIO



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 98371-1	Data da Emissão: 20/03/2025 19:35:32	Validade*: 20/03/2026
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcela dos Santos Magalhães	CPF: 049.770.054-90
Título do Projeto: IMPACTOS AMBIENTAIS E SUAS IMPLICAÇÕES NA CONSERVAÇÃO DE QUELÔNIOS DA AMAZÔNIA	
Nome da Instituição: Universidade Federal do Amazonas	CNPJ: 04.378.626/0001-97

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Incubação dos ovos ex situ	08/2025	11/2025
2	Coleta dos Ovos	08/2025	09/2025
3	Coletas das amostras biológicas	10/2025	11/2025
4	Microscopia de Luz, Análise sanguínea e Microscopia de Varredura	12/2025	04/2026
5	Monitoramento das áreas de desova	08/2025	12/2025
6	Coleta de filhotes	01/2026	01/2026

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Maria Fabiele Silva Oliveira	Coleta e Análises. Estudante de doutorado	024.187.352-57	Brasileira
2	MYLLENA VALENCA DORGON	Coleta e Análises. Estudante de mestrado	016.319.162-03	Brasileira
3	Louzamira Feitosa Biváqua de Araújo	Bióloga. Coleta de espécimes	808.126.602-00	Brasileira
4	LANNA DANIELLA PRINTES MONTEIRO	Coleta e Análise. Estudante de doutorado	516.898.122-49	Brasileira
5	José Jones Pereira Junior	Veterinário.	044.009.973-08	Brasileira
6	LUCAS CASTANHOLA DIAS	Técnico de Laboratório	008.109.142-71	Brasileira
7	MILENA BRASIL DO MONTE	Análise de dados. Estudante de graduação	029.254.582-70	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0983710120250320

Página 1/5



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 98371-1	Data da Emissão: 20/03/2025 19:35:32	Validade*: 20/03/2026
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcela dos Santos Magalhães	CPF: 049.770.054-90
Título do Projeto: IMPACTOS AMBIENTAIS E SUAS IMPLICAÇÕES NA CONSERVAÇÃO DE QUELÔNIOS DA AMAZÔNIA	
Nome da Instituição: Universidade Federal do Amazonas	CNPJ: 04.378.626/0001-97

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, possessor ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Todos os membros da equipe de pesquisa devem estar cientes das recomendações e boas práticas a serem seguidas neste momento de emergência zoonossanitária no Brasil devido à gripe aviária. Informe-se na página do CEMAVE na Internet: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cemave/destaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1 .
3	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
5	Este documento não dispensa o cumprimento da Lei nº 13.123/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.
6	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia (Decreto nº 98.830, de 15/01/90).
7	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria Nº748/2022, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação do disposto nesta portaria ou em legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, pode, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou cassada pelo Instituto Chico Mendes, por meio da Coordenação Gestora do Sisbio, e está sujeito às sanções previstas na legislação vigente.
11	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
12	Caso seja identificada a ocorrência de espécie exótica dentro ou no entorno de UNIDADE DE CONSERVAÇÃO FEDERAL, além de descrever no relatório de atividades, o pesquisador deve informar à equipe gestora com maior brevidade possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0983710120250320

Página 2/5



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 98371-1	Data da Emissão: 20/03/2025 19:35:32	Validade*: 20/03/2026
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcela dos Santos Magalhães	CPF: 049.770.054-90
Título do Projeto: IMPACTOS AMBIENTAIS E SUAS IMPLICAÇÕES NA CONSERVAÇÃO DE QUELÔNIOS DA AMAZÔNIA	
Nome da Instituição: Universidade Federal do Amazonas	CNPJ: 04.378.626/0001-97

Outras ressalvas

1	RAN Goiânia-GO
---	----------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Rio Uatumã	São Sebastião do Uatumã-AM	Amazônia	Não	Fora de UC Federal
2	Balbina	Presidente Figueiredo-AM	Amazônia	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Atividades ex-situ (fora da natureza)
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Podocnemis sextuberculata	60
2	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Podocnemis sextuberculata	-
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Podocnemis sextuberculata	-
4	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Podocnemis erythrocephala	60
5	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Podocnemis erythrocephala	-
6	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Podocnemis erythrocephala	-
7	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Podocnemis expansa	100
8	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Podocnemis expansa	-
9	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Podocnemis expansa	-
10	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Peltocephalus dumerilianus	40
11	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Peltocephalus dumerilianus	-
12	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Podocnemis unifilis	-
13	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Podocnemis unifilis	80

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0983710120250320

Página 3/5



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 98371-1	Data da Emissão: 20/03/2025 19:35:32	Validade*: 20/03/2026
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcela dos Santos Magalhães	CPF: 049.770.054-90
Título do Projeto: IMPACTOS AMBIENTAIS E SUAS IMPLICAÇÕES NA CONSERVAÇÃO DE QUELÔNIOS DA AMAZÔNIA	
Nome da Instituição: Universidade Federal do Amazonas	CNPJ: 04.378.626/0001-97

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
14	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Podocnemis unifilis	-

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município.

A quantidade significa: por espécie X localidade X ano.

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Répteis)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele, Fragmento de tecido/órgão, Ovos inviáveis, Sangue, Outras amostras biológicas (Ovos viáveis)
2	Método de captura/coleta (Répteis)	Coleta manual, Captura manual

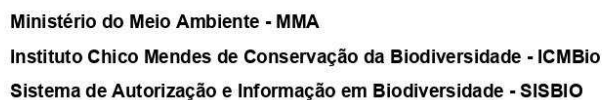
Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Universidade Federal do Amazonas	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0983710120250320

Página 4/5



Número: 98371-1	Data da Emissão: 20/03/2025 19:35:32	Validade*: 20/03/2026
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Nome: Marcela dos Santos Magalhães	CPF: 049.770.054-90
Título do Projeto: IMPACTOS AMBIENTAIS E SUAS IMPLICAÇÕES NA CONSERVAÇÃO DE QUELÔNIOS DA AMAZÔNIA	
Nome da Instituição: Universidade Federal do Amazonas	CNPJ: 04.378.626/0001-97

De acordo com Portaria ICMBIO Nº 748, Art. 24. A coleta imprevista de amostras biológicas, espécimes ou de material abiótico em unidades de conservação e cavernas, não contemplados na autorização ou na licença permanente, deve ser imediatamente anotada em campo específico do documento.

[illegible]

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0983710120250320

Página 5/5

ANEXO C - CERTIFICADO CEUA/UFAM



Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Comitê de Ética em Experimentação Animal

CERTIFICADO CEUA/UFAM

Certificamos que a proposta intitulada "**Efeitos do Malathion sobre o desenvolvimento embrionário de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-amazônia)**", registrada com o nº 23105.020280/2024-85, sob a responsabilidade de Marcela dos Santos Magalhães - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	até dezembro de 2027
Espécie/linhagem/raça	Tartaruga-da-amazônia (<i>Podocnemis expansa</i>)
Nº de animais	160
Peso/Idade	15g - 30g (Ovos/Embriões/Filhotes)
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Praias artificiais localizadas a jusante da UHE de Balbina

PROCESSO:

APROVADO/DATA: 08 de outubro de 2024
TÍTULO: Efeitos do Malathion sobre o desenvolvimento embrionário de <i>Podocnemis expansa</i> (tartaruga-da-amazônia)

AUTORES: Marcela dos Santos Magalhães

DEPARTAMENTO/UFAM: Departamento de Morfologia/ ICB

Manaus, 09 de outubro de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Marcus Vinícius Alves da Silva, Médico Veterinário**, em 09/10/2024, às 17:28, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufam.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2275986** e o código CRC **AAFF9CD6**.

Av. Rodrigo Otávio, 6200 - Bairro Coroado Campus Universitário Senador Arthur Virgílio Filho, Setor Sul, Bloco D, ao lado do Biotério Central - Telefone:
CEP 69077-000, Manaus/AM, ceuamaneus@ufam.edu.br

Referência: Processo nº 23105.020280/2024-85

SEI nº 2275986