

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, BEM-ESTAR E PRODUÇÃO
ANIMAL SUSTENTÁVEL NA FRONTEIRA SUL

PATRICK LUIZ BOLA GONSALES

PADRONIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMOGASOMÉTRICOS
PARA *PHRYNOPS WILLIAMSII* E *PHRYNOPS GEOFFROANUS* (TESTUDINES,
CHELIDAE) DE VIDA LIVRE: PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU

REALEZA

2026

PATRICK LUIZ BOLA GONSALES

**PADRONIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMOGASOMÉTRICOS
PARA *PHRYNOPS WILLIAMSI* E *PHRYNOPS GEOFFROANUS* (TESTUDINES,
CHELIDAE) DE VIDA LIVRE: PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul (PPG-SBPAS) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde, Diagnóstico e Bem-estar animal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Braz

REALEZA

2026

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Gonsales, Patrick Luiz Bola
PADRONIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E
HEMOGASOMÉTRICOS PARA PHRYNOPS WILLIAMSI E PHRYNOPS
GEOFFROANUS (TESTUDINES, CHELIDAE) DE VIDA LIVRE: PARQUE
NACIONAL DO IGUAÇU / Patrick Luiz Bola Gonsales. --
2026.
75 f.:il.

Orientador: Doutor Paulo Henrique Braz

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Saúde,
Bem-Estar e Produção Animal Sustentável Na Fronteira
Sul, Realeza, PR, 2026.

1. Ecologia populacional. 2. Biomarcadores
bioquímicos. 3. Impacto antrópico. I. Braz, Paulo
Henrique, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

PATRICK LUIZ BOLA GONSALES

**PADRONIZAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMOGASOMÉTRICOS
PARA *PHRYNOPS WILLIAMSI* E *PHRYNOPS GEOFFROANUS* (TESTUDINES,
CHELIDAE) DE VIDA LIVRE: PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul (PPG-SBPAS) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde, Diagnóstico e Bem-estar animal.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 23/07/2026.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Henrique Braz – UFFS
Orientador

Prof.^a Dr.^a Polyana Mayume Pereira da Silva – UNIDERP
Avaliadora

Prof.^a Dr.^a Gislaine Taimara Dalazen – FAM
Avaliadora

Dedico este trabalho aos animais,
especialmente às espécies mais frágeis e
vulneráveis que compartilham este planeta
conosco. A cada ser vivo que enfrenta
diariamente os desafios impostos pelas
transformações ambientais, pela perda de
habitat e pelas ações humanas, dedico esta
pesquisa com a esperança de que o
conhecimento científico possa contribuir para
sua conservação e proteção.

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação só foi possível graças ao apoio, incentivo e colaboração de pessoas e instituições que contribuíram de diferentes formas ao longo desta jornada.

Agradeço ao EcoPark pelo patrocínio dos materiais utilizados na pesquisa, cuja contribuição foi fundamental para a execução das atividades de campo e para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), expresso minha profunda gratidão pelo apoio institucional, suporte logístico e parceria durante todas as etapas da pesquisa. Em especial, agradeço à equipe de Ciência e Pesquisa do Parque Nacional do Iguaçu, que esteve presente de forma constante, compartilhando conhecimentos, auxiliando nas atividades e contribuindo significativamente para a qualidade dos resultados alcançados.

À equipe do S.A.A.S./UFFS, meu sincero agradecimento pela amizade construída ao longo dos anos, pelos conhecimentos compartilhados, pelas discussões enriquecedoras e pelos ensinamentos que contribuíram para minha formação acadêmica e profissional.

Aos meus amigos de vida, que sempre estiveram ao meu lado durante o desenvolvimento deste trabalho, oferecendo apoio, incentivo e compreensão nos momentos mais desafiadores. Em especial, agradeço ao Fernando Wons, pela amizade, companheirismo e constante apoio ao longo desta caminhada.

À minha companheira, Djuliana, deixo minha mais profunda gratidão pela paciência, compreensão e carinho durante os momentos mais difíceis desta trajetória. Seu apoio incondicional, incentivo constante e auxílio nos desafios enfrentados foram essenciais para que eu pudesse concluir esta etapa tão importante.

Por fim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta pesquisa e para minha formação pessoal e profissional. Cada gesto de apoio, incentivo e colaboração foi fundamental para a concretização deste trabalho.

“O fato é que nenhuma espécie jamais teve um controle tão abrangente sobre tudo na Terra, vivo ou morto, como nós temos agora. Isso nos impõe, quer queiramos ou não, uma responsabilidade imensa. Em nossas mãos está agora não apenas o nosso próprio futuro, mas o de todas as outras criaturas vivas com quem compartilhamos a Terra.” - Sir David Attenborough - documentário Life On Earth.

RESUMO

Os ecossistemas aquáticos globais enfrentam uma severa deterioração decorrente de pressões antrópicas urbanas, industriais e agrícolas, o que compromete a viabilidade de diversas populações biológicas. Nesse cenário, o Rio Iguaçu destaca-se negativamente como o segundo mais poluído do Brasil. Contudo, em seu trecho terminal (Baixo Iguaçu), o rio margeia o Parque Nacional do Iguaçu (PNI), uma Unidade de Conservação de Proteção Integral que abriga um expressivo remanescente de Mata Atlântica e atua como uma zona de amortecimento biológico regional. Apesar dessa proteção, sub-bacias que drenam para o parque, como a do Rio Silva Jardim, sofrem forte influência agropecuária, contrastando diretamente com áreas altamente preservadas, como a sub-bacia do Rio Floriano. Para mensurar a eficiência dessas áreas protegidas e os impactos dos gradientes de degradação ambiental, o biomonitoramento da fauna local torna-se imprescindível. Os répteis, em virtude de sua sensibilidade fisiológica (como ectotermia e metabolismo lento) e alta fidelidade ao habitat, atuam como excelentes bioindicadores ecotoxicológicos. Diante disso, o presente estudo objetiva estabelecer perfis integrados e valores de referência de bioquímica sérica e gasometria venosa para populações de vida livre de duas espécies com ecologias distintas: *Phrynops geoffroanus*, uma espécie generalista e tolerante a ambientes impactados, e *Phrynops williamsi*, um especialista reofílico de corredeiras, vulnerável à extinção e ameaçado pela fragmentação decorrente de usinas hidrelétricas. Objetiva-se avaliar a influência do tamanho corporal sobre esses parâmetros e caracterizar as correlações entre os analitos, fornecendo subsídios inéditos para o monitoramento sanitário e a conservação desses táxons. A avaliação do estado homeostático, adaptativo e sanitário dessas populações será realizada por meio do perfil bioquímico sérico, cuja fundamentação teórica abrange a estabilidade pré-analítica das amostras e o comportamento dinâmico de biomarcadores essenciais. Por fim, a integração e a comparação das respostas bioquímicas e fisiológicas interespecíficas sob diferentes gradientes de conservação fornecerão subsídios fundamentais para compreender a resiliência desses animais frente à poluição e à fragmentação de habitat, gerando dados robustos para direcionar estratégias eficientes de conservação para a ordem Testudines na Mata Atlântica. Este trabalho justifica-se pela primeira descrição de valores hemogasométricos das duas espécies estudadas, bem como a primeira descrição bioquímica do *Phrynops williamsi*.

Palavras-chave: Ecologia populacional; Biomarcadores bioquímicos; Impacto antrópico.

ABSTRACT

Global aquatic ecosystems are undergoing severe degradation due to urban, industrial, and agricultural anthropogenic pressures, compromising the viability of numerous biological populations. In this context, the Iguaçu River stands out negatively as the second most polluted river in Brazil. However, along its terminal stretch (Lower Iguaçu), the river borders the Iguaçu National Park (INP), a Strict Protection Conservation Unit that harbors a significant remnant of the Atlantic Forest and functions as a regional biological buffer zone. Despite this protection, sub-basins draining into the park, such as the Silva Jardim River basin, are strongly influenced by agricultural activities, directly contrasting with highly preserved areas such as the Floriano River basin. To assess the effectiveness of these protected areas and the impacts of environmental degradation gradients, biomonitoring of local fauna is essential. Reptiles, due to their physiological sensitivity (such as ectothermy and slow metabolism) and high habitat fidelity, serve as excellent ecotoxicological bioindicators. Therefore, the present study aims to establish integrated profiles and reference values for serum biochemistry and venous blood gas analysis in free-ranging populations of two species with distinct ecological traits: *Phrynops geoffroanus*, a generalist species tolerant of impacted environments, and *Phrynops williamsi*, a rheophilic specialist inhabiting fast-flowing waters, vulnerable to extinction and threatened by habitat fragmentation resulting from hydroelectric power plants. The study also aims to evaluate the influence of body size on these parameters and to characterize correlations among analytes, providing unprecedented support for health monitoring and conservation of these taxa. The assessment of the homeostatic, adaptive, and health status of these populations will be conducted through serum biochemical profiling, whose theoretical framework encompasses both the pre-analytical stability of samples and the dynamic behavior of essential biomarkers. Finally, the integration and comparison of interspecific biochemical and physiological responses under different conservation gradients will provide fundamental insights into the resilience of these animals to pollution and habitat fragmentation, generating robust data to guide effective conservation strategies for the order Testudines in the Atlantic Forest. This study is justified by the first description of blood gas parameters for both species investigated, as well as the first biochemical characterization of *Phrynops williamsi*.

Keywords: Population ecology; Biochemical biomarkers; Anthropogenic impact.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO I

Figura 1 - Spearman correlations between serum biochemical analytes and body size (MCL) in <i>Phrynops geoffroanus</i>	32
Figura 2 - Spearman correlations between serum biochemical analytes and body size (MCL) in <i>Phrynops williamsi</i>	33
Figura 3 - Spearman correlation matrix of serum biochemical parameters in <i>Phrynops geoffroanus</i>	34
Figura 4 - Spearman correlation matrix of serum biochemical parameters in <i>Phrynops williamsi</i>	35
Figura 5 - Spearman correlation matrix of blood gas and electrolyte parameters in <i>Phrynops geoffroanus</i>	39
Figura 6 - Spearman correlation matrix of blood gas and electrolyte parameters in <i>Phrynops williamsi</i>	40

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Table 1 - Serum biochemical profile of <i>Phrynops geoffroanus</i> (n=56)	30
Table 2 - Serum biochemical profile of <i>Phrynops williamsi</i> (n=23).....	31
Table 3 - Blood gas and electrolyte profile of <i>Phrynops geoffroanus</i> (n = 45).....	37
Table 4 - Blood gas and electrolyte profile of <i>Phrynops williamsi</i> (n = 21).....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
ICMBIO	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
PNI	Parque Nacional do Iguaçu
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	IMPACTOS ANTRÓPICOS EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS E A BACIA DO RIO IGUAÇU	15
2.2	RÉPTEIS COMO BIOINDICADORES DE QUALIDADE AMBIENTAL	16
2.3	BIOLOGIA, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DO GÊNERO <i>PHRYNOPS</i>	19
2.4	BIOQUÍMICA SÉRICA E GASOMETRIA EM RÉPTEIS.....	20
3	OBJETIVO	24
3.1	OBJETIVO GERAL	24
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
4	RESULTADOS.....	25
5	ARTIGO I.....	26
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS	52
	ANEXO A – AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA.....	67
	ANEXO B – DECLARAÇÃO DE COLABORAÇÃO E RECEBIMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO	73
	ANEXO C – NORMAS DA REVISTA JOURNAL OF ZOOLOGY	74

1 INTRODUÇÃO

Os ecossistemas aquáticos sofrem intensa deterioração decorrente de pressões antrópicas, destacando-se a industrialização, a expansão urbana e as atividades agrícolas (Yamamoto *et al.*, 2016; Bárcenas-García *et al.*, 2022; Santos; Laranja, 2024). Esse dinamismo impulsiona o aporte de contaminantes nesses ambientes (Cazenave *et al.*, 2009), promovendo alterações drásticas na qualidade da água e na dinâmica ecológica local (Crespo-López *et al.*, 2011; Lehun *et al.*, 2021). No cenário global, a contaminação química crônica de longo prazo, associada à perda de habitats, compromete a viabilidade dos organismos e culmina no declínio ou extinção local de diversas populações (Ferretti *et al.*, 2026; Alter *et al.*, 2021; Baghmaleki, 2026 Poletta *et al.*, 2008).

Há seis décadas a comunidade científica adverte sobre os impactos deletérios de longo prazo de poluentes nos ecossistemas (Arp *et al.*, 2023). Os corpos hídricos atuam como o destino final da maioria dos contaminantes antrópicos, incluindo compostos orgânicos persistentes com potencial genotóxico ou carcinogênico, como as bifenilas policloradas (PCBs), pesticidas organoclorados (OCPs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Consequentemente, a biota aquática expõe-se a complexas misturas químicas cujos componentes podem interagir, resultando em efeitos tóxicos aditivos, sinérgicos ou antagônicos (Barata *et al.*, 2006; BannI *et al.*, 2009; Bouraoui *et al.*, 2009; Hossain *et al.*, 2026).

Nesse contexto, destaca-se a bacia hidrográfica do Rio Iguaçu, sistema fluvial de elevada relevância na região sul do Brasil (IAT, 2023) que, contudo, ocupa a segunda posição no ranking dos rios mais poluídos do país (Lehun *et al.*, 2021). Esse estresse ambiental decorre do expressivo volume de efluentes recebidos ao longo de sua extensão, a qual abrange os estados do Paraná e Santa Catarina, além de porções do nordeste argentino (Iat, 2023). Em contrapartida, em sua porção terminal, o rio margeia um dos maiores fragmentos remanescentes de Mata Atlântica do país, protegido pelo Parque Nacional do Iguaçu (PNI) (MapBiomias, 2024; Silva *et al.*, 2022). Por constituir uma Unidade de Conservação de Proteção Integral, a legislação brasileira restringe seu manejo ao uso direto dos recursos naturais (Brasil, 2000), funcionando como uma zona de amortecimento (buffer zone) essencial para resguardar a integridade biológica regional (Roe; Georges, 2007). Apesar disso, a eficácia dessas reservas em mitigar danos externos depende diretamente do uso e ocupação do solo nas matrizes circundantes (Mammides, 2020).

Para mensurar a eficiência dessas áreas protegidas e quantificar o nível de degradação antrópica, o monitoramento da fauna local torna-se imprescindível. Os répteis são considerados

bioindicadores fidedignos da saúde ecossistêmica devido à alta sensibilidade a oscilações ambientais e capacidade de resposta rápida a estressores bióticos e abióticos (Baptista *et al.*, 2022; Carlsson, 2019; Humphries; Benitez-Nelson; Combrink, 2022). Nos ecossistemas aquáticos e semiaquáticos do PNI, os quelônios *Phrynops geoffroanus* (cágado-de-barbela) e *Phrynops williamsi* (cágado-rajado) destacam-se como importantes representantes da herpetofauna (Brites; Rantin, 2004; Venancio *et al.*, 2013). Ambos compartilham atributos ecológicos marcantes, como acentuada longevidade, hábito alimentar oportunista, metabolismo braditálico e alta fidelidade ao habitat, características que os tornam vulneráveis à bioacumulação e aos efeitos crônicos de defensores agrícolas, metais pesados e patógenos (Fonseca *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2021; Vogt *et al.*, 2023).

Todavia, *P. williamsi* apresenta especificidades ecológicas restritas. Ao contrário de congêneres generalistas, a espécie habita prioritariamente ambientes lóticos de corredeiras e rios encachoeirados com afloramentos rochosos utilizados para termorregulação (Spier *et al.*, 2011; Spier *et al.*, 2014). Essas áreas servem também como sítios de forrageamento, onde consomem macroinvertebrados bentônicos, especialmente crustáceos do gênero *Aegla* (Kunz *et al.*, 2018). Com ocorrência geográfica limitada ao sul do Brasil, Uruguai e Argentina (Trd, 2022), *P. williamsi* é classificado como globalmente vulnerável à extinção. No cenário nacional, suas populações sofrem severas ameaças decorrentes da fragmentação de habitats promovida pela instalação de usinas hidrelétricas, que alteram a dinâmica hidrodinâmica original dos corpos hídricos (Regolin *et al.*, 2023).

Diante do cenário de impacto ambiental, o estabelecimento do perfil bioquímico sérico surge como ferramenta diagnóstica essencial. Essa análise fornece dados robustos sobre o estado clínico, metabólico e adaptativo da espécie a partir de volumes amostrais reduzidos (Lumeij *et al.*, 1990; Valle, 2008; Ashraf *et al.*, 2025). A quantificação de biomarcadores dos metabolismos energético, proteico e mineral oferece subsídios fundamentais para avaliar as funções hepática, renal e muscular, conferindo maior segurança à avaliação ecológica das populações afetadas (Camilo-Cotrim *et al.*, 2022).

Investigar quelônios sob diferentes gradientes de conservação ambiental contribui para a compreensão de seus ajustes fisiológicos e viabiliza comparações interespecíficas futuras. Como *P. geoffroanus* frequentemente coloniza áreas antropizadas, avaliar as respostas bioquímicas e fisiológicas de ambas as espécies auxilia na compreensão da resiliência destes animais à poluição. Portanto, a integração de dados ecológicos e biomarcadores fisiológicos é fundamental para subsidiar estratégias de conservação eficientes para a ordem Testudines.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 IMPACTOS ANTRÓPICOS EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS E A BACIA DO RIO IGUAÇU

O Rio Iguaçu é considerado um dos principais cursos d'água da Região Sul do Brasil, drenando uma bacia hidrográfica de aproximadamente 70.800 km² que abrange os estados do Paraná, Santa Catarina e parte do nordeste argentino. Sua nascente está localizada na Serra do Mar, no município de Curitiba-PR, e seu percurso estende-se por cerca de 1.320 km até sua confluência com o rio Paraná (IAT, 2023).

Em razão de sua extensão, a bacia do rio é dividida nas seguintes Unidades Hidrográficas de Gestão de Recursos Hídricos (Resolução nº 49 de 2006, CERH/PR): o Alto Iguaçu, porção entre a nascente e o município de Porto Amazonas; o Médio Iguaçu, que se estende até as proximidades de União da Vitória; e o Baixo Iguaçu, correspondente ao último trecho antes da foz na região da Tríplice Fronteira entre Brasil, Argentina e Paraguai (Iat, 2023; Lehun *et al.*, 2021).

Ao longo de sua trajetória, o rio Iguaçu atravessa regiões com intensa ocupação antrópica, caracterizadas por atividades urbanas, industriais e agropecuárias. Esse uso do solo contribui para a degradação da qualidade da água e o lançamento de efluentes de diferentes naturezas. Estudos recentes indicam que o rio Iguaçu ocupa a segunda posição entre os rios mais poluídos do Brasil, atrás apenas do Rio Tietê, do estado de São Paulo (Lehun *et al.*, 2021).

Na porção terminal do rio, observa-se um contraste marcante entre suas margens esquerda e direita. A margem direita atravessa o Parque Nacional do Iguaçu (PNI), unidade de conservação federal criada em 1939 (Decreto Federal nº 1.035) com área de 185.262,5 hectares, que abriga um dos mais extensos remanescentes contínuos de Mata Atlântica do Brasil. Nessa margem, o rio recebe contribuições dos rios Floriano e Silva Jardim, cujas sub-bacias estão parciais ou totalmente inseridas no PNI (MapBiomias, 2024).

A sub-bacia do rio Floriano encontra-se quase integralmente protegida, apresentando cobertura vegetal nativa de 99,31% (calculado à partir de MapBiomias, 2024), o que favorece sua utilização como área de referência ou controle para definição de parâmetros de conservação e monitoramento (Silva *et al.*, 2022). Por outro lado, o rio Silva Jardim nasce e percorre uma região sujeita a uso agropecuário intensivo antes de adentrar a zona protegida do parque. Essa diferença no uso do solo entre as sub-bacias se reflete em sua cobertura vegetal remanescente,

estimada em apenas 45,89% (MapBiomias, 2024), o que o torna potencial vetor de aporte de nutrientes, sedimentos e contaminantes ao Baixo Iguaçu (Santos; Laranja, 2024).

Já a margem esquerda do Rio Iguaçu, nesse trecho, permanece influenciada por áreas fragmentadas e regiões de uso totalmente antrópico (Mapbiomas, 2024). No leito principal do Baixo Rio Iguaçu, ocorre a formação de ilhas fluviais, que constituem habitats essenciais para diversas espécies aquáticas e semiaquáticas, como a Ilha do Sol e a Ilha do Geninho. Essas ilhas, portanto, estão sujeitas a um regime hídrico misto, resultante da combinação de águas oriundas da zona de proteção do PNI com aquelas provenientes de áreas não protegidas, de uso agroindustrial (Santos; Laranja, 2024).

O rio Iguaçu é reconhecido pelo alto índice de endemismo de sua fauna, onde cerca de 70% de suas espécies de peixes, por exemplo, não são encontradas em nenhum outro lugar do planeta (Baumgartner *et al.*, 2012; Roxo *et al.*, 2017). O local configura-se como um cenário de grande relevância ambiental, a despeito disso, suas populações aquáticas e semiaquáticas estão continuamente expostas à descarga de contaminantes em quase toda a extensão de sua bacia (Morais *et al.*, 2024; Poletta *et al.*, 2013; Yamamoto *et al.*, 2016).

Já foi relatado que o Baixo Iguaçu apresenta considerável redução da poluição em relação aos trechos associados às grandes metrópoles. Embora seja comprovada o menor valor de alguns compostos, como a cromo, fósforo alumínio e chumbo, os valores ainda estão acima do permitido pelo CONAMA (Resolução nº 357 de 2005) (Rubio-Vargas *et al.*, 2024; Yamamoto *et al.*, 2016). Estudos têm demonstrado que a poluição presente ao longo do curso de todo Rio Iguaçu causa tanto danos genotóxicos, quanto relações desequilibradas entre parasitismo e fauna local (Lehun *et al.*, 2021; Lehun; Duarte; Takemoto, 2023; Yamamoto *et al.*, 2018).

Nesse contexto, a análise dos impactos antrópicos, por meio de abordagens ecotoxicológicas, sobre a qualidade da água e a biota são importantes ferramentas na conservação ambiental (Corredor-Santamaría; Gómez; Velasco-Santamaría, 2016; CrespoLópez *et al.*, 2011; Lehun, *et al.*, 2021; Mitkovska; Chassovnikarova, 2020; Zapata *et al.*, 2016).

2.2 RÉPTEIS COMO BIOINDICADORES DE QUALIDADE AMBIENTAL

Os répteis são um grupo de animais composto por lagartos, serpentes, anfisbenas, quelônios e jacarés (ICMBio, 2018). Eles possuem características biológicas marcantes, como a pele recoberta por escamas e a ectotermia, a capacidade de utilizar fontes externas de calor

para regular a temperatura corporal. Dispersos em diversas biotas, desempenham papéis fundamentais nos ecossistemas como predadores, presas, dispersores de sementes e espécies comensais, possuindo hábitos carnívoros, herbívoros ou onívoros. Por sofrerem alterações previsíveis quando em contato com compostos xenobióticos (substâncias estranhas ao organismo), esses animais têm se destacado globalmente nas pesquisas como excelentes bioindicadores ou biomonitores, fornecendo informações singulares para análises de riscos biológicos e avaliação da qualidade ambiental (Zapata *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2020; Dos Santos *et al.*, 2021; Arienzo, 2023). Embora os estudos com bioindicadores historicamente se concentrem na botânica e na zoologia de invertebrados (Knasmüller, 2019), os organismos do filo Vertebrata, e os répteis em particular, têm desempenhado um papel excelente na análise dos efeitos de poluentes químicos e da radiação ionizante (Stark *et al.*, 2022).

O alto potencial dos répteis como sentinelas ambientais está diretamente ligado à sua ecologia e fisiologia peculiar. Muitas espécies apresentam baixas taxas de deslocamento e forte fidelidade ao habitat, o que as torna altamente sensíveis às mudanças ambientais locais e mais vulneráveis a riscos ecológicos (Burger *et al.*, 2004; Gibbons *et al.*, 2000; Raza *et al.*, 2025). Desse modo, as alterações do meio são rapidamente refletidas em seu modo de vida, comportamento e até mesmo em sua genética (Hayden Bofill; Blom, 2024). Outro fator determinante é a sua fisiologia ectotérmica, que inclui períodos de redução natural da atividade metabólica; essa característica faz com que a recuperação a nível celular seja significativamente mais lenta quando os indivíduos são submetidos a danos provocados por agentes tóxicos (Odetti *et al.*, 2024).

Esses animais ilustram a realidade do cenário nocivo gerado por atividades antrópicas através de vias complexas de exposição e absorção. A contaminação ocorre usualmente pela ingestão voluntária de alimentos ou pela ingestão acidental de água, fragmentos de solo e sedimentos enriquecidos geogenicamente ou antropogenicamente por elementos tóxicos (Wings, 2007). Há também a via respiratória (pulmonar), por meio da inalação e expiração de poluentes gasosos, e o contato dérmico direto com substratos contaminados. Adicionalmente, destaca-se a absorção e a eliminação através do sistema tegumentar, uma característica particular de répteis que realizam trocas transcutâneas de água e gases (Simonyan *et al.*, 2018; Santalucia, 2025; Kurnaz, 2026;). Por outro lado, os metais e compostos que não são absorvidos no intestino dos vertebrados acabam sendo eliminados através das fezes, tornando essa matriz orgânica uma amostra valiosa e não invasiva para análises devido à sua elevada concentração de rejeitos e metais pesados (Xu *et al.*, 2006; Eccles *et al.*, 2024).

Em habitats de água doce e salgada, os répteis aquáticos e semiaquáticos demonstraram ser extremamente úteis para monitorar a contaminação por metais pesados, dado que esses elementos possuem capacidade de bioacumulação variada em diferentes tecidos (Burger *et al.*, 2009; Adel *et al.*, 2015). Pertencentes a elevados níveis tróficos, espécies classificadas nas ordens Squamata, Crocodilia e Chelonia proporcionam um largo perfil de contaminação ao longo do fluxo alimentar, evidenciando processos de biomagnificação. No ambiente aquático, em adição às relações predatórias, o comportamento migratório dessas espécies oferece informações valiosas sobre diferentes regiões geográficas, ajudando a mapear a dispersão da poluição em corpos d'água (Silva, 2020; Hayden Bofill; Blom, 2024).

A exposição a poluentes orgânicos como os agroquímicos e compostos derivados do petróleo, carvão e explosivos acarreta sérias consequências fisiológicas. O contato prolongado ou a ingestão dessas substâncias pelos lagartos pode provocar graves alterações morfológicas nos testículos, fígado, rins e tireoide. Além disso, desencadeia prejuízos sistêmicos severos, tais como a alteração das atividades enzimáticas, o estresse oxidativo e profundos distúrbios metabólicos e hormonais (Amaral *et al.*, 2012; Cardone, 2015; Chang *et al.*, 2016; Mingo *et al.*, 2016; Freitas *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2020; Onoja *et al.*, 2025; Guimarães, 2025).

Da mesma forma, a exposição a agentes inorgânicos e radionuclídeos reflete grandes alterações negativas no organismo desses animais (Stark *et al.*, 2022). Elementos químicos e metais pesados como sódio (Na), alumínio (Al), níquel (Ni), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), enxofre (S), silício (Si), chumbo (Pb), radônio (Rn), cádmio (Cd), zinco (Zn), cobre (Cu) e mercúrio (Hg) têm sido frequentemente identificados e quantificados em amostras de sangue de lagartos submetidos a diferentes fontes poluidoras ao redor do mundo (Schaumburg *et al.*, 2012; Nasri *et al.*, 2017; Simonyan *et al.*, 2018; Salvador *et al.*, 2018; Marambio-Alfaro *et al.*, 2020; Ceríaco *et al.*, 2024; Salice, 2025).

Essas pesquisas científicas acumulam resultados sólidos em diversas regiões do planeta. Citam-se os efeitos de poluentes inorgânicos em indivíduos de *Salvator merianae* na Argentina (Schaumburg *et al.*, 2012); *Acanthodactylus boskianus* na Tunísia (Nasri *et al.*, 2017); *Darevskia raddei* e *Darevskia armeniaca* na Armênia (Sargsyan *et al.*, 2019; Simonyan *et al.*, 2018); *Trachylepis wahlbergii* na Angola (Ceríaco *et al.*, 2024); *Microlophus atacamensis* no Chile (Marambio-Alfaro *et al.*, 2020) e *Anolis sagrei* nos Estados Unidos (Salice, 2025). No cenário brasileiro, destacam-se os estudos com *Tropidurus torquatus* e *Phyllorhynchus periosus* (Salvador *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2021). Inclusive, um estudo realizado na Caatinga do Rio Grande do Norte utilizou essa espécie endêmica de lagarto (*P. periosus*) para analisar os efeitos

causados pelo gás radônio a nível celular, comprovando que o grupo é altamente sensível à toxicidade e à radioatividade natural do ambiente (Silva *et al.*, 2021).

Em suma, as atividades antrópicas e os compostos xenobióticos influenciam diretamente o comportamento, a biologia e a sobrevivência dos répteis de vida livre. Seja pela contaminação química por metais e defensivos agrícolas, ou pelos impactos da radiação ionizante e natural, esses poluentes acometem negativamente os animais a nível celular. Como consequência direta dos danos à saúde, observa-se a redução das taxas de reprodução e sobrevivência das espécies (Hueza *et al.*, 2008; Parker, 2023), o que ameaça à integridade das populações de répteis e desequilibra os processos biológicos e ecológicos dos ecossistemas em que estão inseridos.

2.3 BIOLOGIA, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DO GÊNERO *PHRYNOPS*

As tartarugas possuem uma história evolutiva de cerca de 300 milhões de anos e representam hoje um dos grupos de animais mais ameaçados pelas pressões antrópicas (Rhodin *et al.*, 2018; Poletta *et al.*, 2013). Entre os quelônios, os cágados exercem funções ecológicas vitais em ambientes dulcícolas, participando ativamente da ciclagem de nutrientes, do controle populacional de invertebrados e pequenas presas, bem como da dispersão de sementes e do aumento da heterogeneidade do habitat (Bárcenas-García *et al.*, 2022; Ribeiro; Utta; Barreto, 2017).

Esses animais são considerados excelentes organismos-sentinela devido à sua ampla distribuição, comportamento territorial, longevidade e suscetibilidade fisiológica à bioacumulação de poluentes nos tecidos ao longo do tempo (Borges *et al.*, 2022; Castaño *et al.*, 2020; Poletta *et al.*, 2013). Pesquisas com *Podocnemis expansa*, por exemplo, evidenciaram a acumulação de metais em ovos e filhotes via transferência materna ou direta do ambiente, acarretando danos citogenéticos teciduais (Frossard *et al.*, 2021). Adicionalmente, por estarem presentes em múltiplos níveis tróficos, jovens ou adultos acumulam e biomagnificam contaminantes por meio da ingestão hídrica e alimentar (peixes e plantas), bem como pela absorção via mucosa e pele (Bárcenas-García *et al.*, 2022; Frossard *et al.*, 2013; Ribeiro; Utta; Barreto, 2017).

Um exemplo notável da resiliência desses quelônios em ambientes impactados por efluentes é o cágado-de-barbela (*Phrynops geoffroanus*), pertencente à família Chelidae e amplamente distribuído em rios e córregos da América do Sul. Trata-se de um carnívoro oportunista e tolerante a ecossistemas degradados, sendo frequentemente encontrado em trechos urbanos (Souza; Abe, 2000). Contudo, essa tolerância ecológica não o exime de sofrer

efeitos subletais decorrentes de poluentes (Brites; Rantin, 2004; Venancio *et al.*, 2013). De fato, exames de amostras biológicas de *P. geoffroanus* demonstraram a sensibilidade da espécie à exposição de contaminantes através de severas alterações hematológicas, bioquímicas e genotóxicas (Brites; Rantin, 2004; Fonseca *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2021).

Por outro lado, enquanto espécies generalistas como *P. geoffroanus* enfrentam a poluição química nas cidades, espécies especialistas sofrem com a degradação física de seus habitats naturais provocada por grandes obras de infraestrutura. É o caso de *Phrynops williamsi* Rhodin & Mittermeier, 1983, popularmente conhecida como cágado-rajado. Também pertencente à família Chelidae, a espécie ocorre no sul do Brasil, Uruguai e Argentina (TRD, 2022), habitando preferencialmente ambientes lóticos, como corredeiras em rios com pedras e lajes sobressalentes à água, estruturas que utiliza para fins de termorregulação (Spier *et al.*, 2011; Spier *et al.*, 2014). Essas áreas de corredeiras são igualmente cruciais para o seu forrageio, onde consome macroinvertebrados associados a esses substratos, a exemplo de crustáceos do gênero *Aegla* (Kunz *et al.*, 2018).

Atualmente considerada vulnerável à extinção em nível global (Rhodin *et al.*, 2018), *P. williamsi* distribui-se em Santa Catarina por diferentes bacias hidrográficas do planalto, oeste e sul (Kunz *et al.*, 2018). Ocorre que, em muitas dessas bacias, há um cenário crescente de instalação e planejamento de diversas usinas hidrelétricas de diferentes potências e tamanhos, o que afeta e descaracteriza diretamente o habitat reofílico utilizado pela espécie (Regolin *et al.*, 2023). Alertas sobre os impactos severos desses barramentos em *P. williamsi* vêm sendo formalizados há mais de uma década e constantemente enfatizados pela comunidade científica, com especial destaque para o estado catarinense (Bérnils *et al.*, 2004; Spier *et al.*, 2011; Spier *et al.*, 2014; Kunz *et al.*, 2018; Regolin *et al.*, 2023). Essa problemática reflete uma tendência global para diferentes espécies de cágados, caracterizada por uma profusão de alertas e sugestões teóricas na literatura, mas poucas ações práticas e raras implementações de soluções efetivamente testadas em campo (Bárcenas-García *et al.*, 2022).

2.4 BIOQUÍMICA SÉRICA E GASOMETRIA EM RÉPTEIS

O perfil bioquímico sérico ou plasmático é uma ferramenta imprescindível, pois fornece um amplo panorama do estado homeostático a partir de pequenos volumes de amostra, auxiliando no diagnóstico e prognóstico de enfermidades (Bowes, 1989; Lumeij *et al.*, 1990; Valle, 2008; Louth *et al.*, 2024; Morel *et al.*, 2025). Contudo, a interpretação fidedigna desses

resultados exige o conhecimento dos intervalos de referência específicos e das limitações metodológicas (Ritchie *et al.*, 1994; Berg *et al.*, 2021; Nieto-Claudín *et al.*, 2024).

Os valores bioquímicos em répteis são altamente dinâmicos, variando conforme a espécie, idade, sexo, manejo, nutrição, além de fatores sazonais e ambientais, como temperatura, umidade, desmatamento e poluição por contaminantes (Marques *et al.*, 2025; Sobrino-Yacobi *et al.*, 2025).

Um dos grandes desafios na rotina clínica de animais silvestres refere-se à estabilidade analítica dos analitos durante o acondicionamento (Ehsani *et al.*, 2008). Devido à escassez frequente de laboratórios especializados próximos aos locais de atendimento, o congelamento ou refrigeração das amostras torna-se obrigatório para preservar elementos termolábeis e evitar erros pré-analíticos (Cray *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2015). Particularmente em quelônios, as análises em plasma são frequentemente preferidas em detrimento do soro, visto que o processamento plasmático otimiza o volume total obtido a partir de coletas restritas e complexas (Bryant *et al.*, 2012; Kelly *et al.*, 2015; Zhou *et al.* 2024; Madhumathi; Mohandoss, 2025).

Dentre os analitos dinâmicos, a glicose destaca-se como um parâmetro metabólico altamente instável em répteis, oscilando tipicamente entre 60 a 120 mg/dL sob a influência de fatores sazonais (níveis mais altos no verão), nutricionais e de manejo, como estresse pós-captura, mergulho e uso de anestésicos (Troiano, 2018; Duncan *et al.*, 2022; Lind *et al.*, 2024). Enquanto a hiperglicemia correlaciona-se ao estresse ou terapias com glicocorticoides, a hipoglicemia pode decorrer de desnutrição, septicemia ou graves hepatopatias; ademais, oscilações térmicas ambientais provocam efeitos paradoxais, reduzindo a glicemia em tartarugas e elevando-a em jacarés (Almosny, 2014; Troiano, 2018).

Paralelamente ao metabolismo de carboidratos, o colesterol e os triglicerídeos atuam como importantes marcadores nutricionais e reprodutivos, embora sua dosagem clínica não seja rotineira. Ambos apresentam elevações fisiológicas expressivas em fêmeas durante a vitelogênese, devido à produção endógena hepática regulada por lipoproteínas, enquanto flutuações sazonais também são descritas (Christopher *et al.*, 1999; González; Silva, 2006; Zaias *et al.*, 2006; Barbosa-Moyano *et al.*, 2020). Em contrapartida, declínios nos níveis de colesterol em serpentes estão associados ao período de ecdise (Silvestre, 2005; Almosny, 2014).

A integridade nutricional e o estado de hidratação também podem ser monitorados pelas proteínas totais (Innis; Knotek, 2020; Campbell, 2022; Pulcherio *et al.*, 2022). Durante a fase folicular ativa de fêmeas, ocorre uma hiperproteinemia induzida por estrógenos, caracterizada pelo aumento específico de globulinas destinadas à formação da gema do ovo (Almosny *et al.*, 2007; Campbell, 2015; Pulcherio *et al.*, 2022). A albumina, por sua vez, representa cerca de

50% das proteínas circulantes; sintetizada no fígado, ela é responsável por 80% da osmolaridade plasmática, pelo transporte de metabólitos e pela modulação do pH sanguíneo (González; Silva, 2006). Desse modo, a hipoalbuminemia aponta para desnutrição ou perdas proteicas, enquanto a hiperalbuminemia restringe-se quase exclusivamente a quadros de desidratação (Gonzalez *et al.*, 2006; Sobrino-Yacobi *et al.*, 2025). Clinicamente, o valor das globulinas e a relação albumina/globulina são calculados por subtração aritmética, embora a eletroforese represente o método de determinação mais seguro (Troiano, 2018).

Referente a creatina quinase (CK), para diferenciar o acometimento hepático do dano muscular, a CK destaca-se como marcador altamente específico para o tecido muscular esquelético e cardíaco; sua elevação sérica, influenciada pelo sexo e sazonalidade, decorre de traumas, infecções sistêmicas ou do estresse gerado pela contenção física vigorosa no momento da coleta de sangue (Zaias *et al.*, 2006; Chaffin *et al.*, 2008; Almosny, 2014). Em *Phrynos geoffroanus*, a captura e manejo dos indivíduos promove um aumento significativo das concentrações séricas de creatina quinase (CK), indicando que a liberação dessa enzima para a corrente sanguínea persiste após a captura. Esse aumento pode estar associado à ocorrência de microlesões musculares decorrentes do esforço físico, da contenção, da manipulação dos animais e/ou da resposta fisiológica ao estresse. Em contrapartida, os níveis de lactato apresentaram redução significativa ao longo do período de manejo, retornando aos valores basais após 24 horas. Esse padrão sugere uma recuperação metabólica progressiva e o restabelecimento gradual da homeostase energética, evidenciando a capacidade dos indivíduos de compensar as alterações fisiológicas induzidas pelos procedimentos de captura e manipulação (De Azevedo, *et al.*, 2026).

Completando o painel de glândulas anexas, a amilase é uma substância pancreática de função amilolítica (e eventualmente lipolítica) otimizada em pH alcalino, sendo utilizada para o diagnóstico de lesões no pâncreas de répteis (Divers, 2000). Já a fosfatase alcalina (FAL), composta por isoenzimas ósseas e hepáticas, exibe concentrações fisiologicamente mais elevadas em animais jovens devido ao intenso desenvolvimento da matriz óssea, podendo elevar-se também frente a distúrbios endócrinos como o hipoparatiroidismo (Hernandez-Divers, *et al.*, 2001; Fernandez *et al.*, 2007; Campbell, 2014).

Ao contrário dos mamíferos, a determinação de um perfil bioquímico para o diagnóstico de doenças renais em répteis é complexa devido às particularidades anatômicas e fisiológicas de seus órgãos excretadores (Campbell, 2015). O ácido úrico é o principal catabólito nitrogenado de répteis terrestres, representando de 80 a 90% do total de nitrogênio excretado (Campbell, 1996; THORNTON *et al.*, 2025). Sintetizado no fígado e parcialmente nos túbulos renais, a

hiperacidemia pode indicar perda de até dois terços da função renal decorrente de infecções bacterianas ou, alternativamente, ser reflexo de uma dieta hiperproteica (Capitelli; Crosta, 2013; Almosny, 2014; Campbell, 2015). A ureia e a creatinina possuem valor diagnóstico limitado na maioria dos répteis; a creatinina sérica é virtualmente irrelevante (< 1 mg/dL), e a ureia não é específica, elevando-se temporariamente após grande ingestão proteica (Almosny, 2014; Campbell, 2006). Contudo, a dosagem plasmática de ureia torna-se útil na avaliação de nefropatias em répteis de hábitos aquáticos, os quais a excretam majoritariamente (Campbell, 2015).

Para confirmar lesões renais em animais uricotélicos, recomenda-se a análise conjunta do ácido úrico com o equilíbrio mineral. O cálcio e o fósforo têm seus níveis modulados pelo paratormônio, calcitonina e forma ativa da vitamina D, mantendo a calcemia da maioria dos répteis entre 8 e 11 mg/dL, com flutuações fisiológicas mais altas em fêmeas (Campbell, 2014). Cerca de 88% do cálcio orgânico está depositado na matriz óssea e o restante circula na forma ionizada (Ca^{++}), desempenhando funções vitais (gonzález; Silva, 2006). O monitoramento do cálcio é indicado em distúrbios metabólicos e neoplasias, sendo que a hipercalcemia se correlaciona a hipervitaminose D, desidratação e nefropatias, enquanto a hipocalcemia está associada a erros nutricionais, hiperfosfatemia e hipoalbuminemia (Almosny, 2014; Campbell, 2015). O magnésio, mineral eminentemente intracelular concentrado nos ossos (70%) e tecidos moles (29%), atua como ativador essencial de mais de 300 enzimas ligadas ao ATP (González; Silva, 2006; Rosol; Capen, 1997).

Por fim, o metabolismo inorgânico é complementado pelo íon ferro, que circula carregado pela transferrina e atua como cofator proteico indispensável, sendo absorvido no intestino e reciclado via hemocaterese (Harvey, 2008). A dosagem de ferro auxilia na caracterização de anemias hipocrômicas e microcíticas; o aumento nos níveis séricos vincula-se a hemossiderose, anemias hemolíticas e necrose hepática aguda, ao passo que o declínio sérico indica má absorção crônica, perdas de sangue ou restrição na liberação dos estoques orgânicos decorrente de processos inflamatórios sistêmicos (Almosny, 2014; Stacy, 2011; Campbell, 2015).

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo estabelecer os perfis basais de bioquímica sérica e hemogasometria em *Phrynops geoffroanus* e *Phrynops williamsi* de vida livre do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar e estabelecer os valores de referência para os parâmetros bioquímicos séricos e de gasometria sanguínea em populações de vida livre de *Phrynops geoffroanus* e *Phrynops williamsi* no Parque Nacional do Iguaçu;
- b) Avaliar a influência do tamanho corporal (comprimento e largura da carapaça e plastrão) e da massa muscular/peso sobre os perfis bioquímicos e gasométricos das duas espécies amostradas;
- c) Identificar e caracterizar as correlações e interações existentes entre os diferentes analitos bioquímicos e os parâmetros gasométricos analisados para cada espécie;
- d) Comparar os perfis ecológico-sanitários obtidos entre *P. geoffroanus* e *P. williamsi*, discutindo as variações fisiológicas associadas às particularidades de hábitat (generalista vs. especialista de corredeiras);
- e) Disponibilizar uma linha de base fisiológica inédita que sirva como ferramenta de diagnóstico e subsídio para o monitoramento sanitário, manejo e estratégias de conservação de quelônios dulcícolas na região do bioma Mata Atlântica.

4 RESULTADOS

Os resultados da pesquisa estão de acordo com as autorizações SISBIO n° 98471-1 e CEUA n° 7664021224 e foram descritos na forma de um artigo científico, conforme estabelece a normatização de trabalhos acadêmicos do Programa de Pós-graduação em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul (PPG-SBPAS).

Os dados e discussões referentes ao perfil bioquímico sérico e gasometria sanguínea estão relatados no Artigo I, seguindo as normas pertinentes do periódico “*Journal of Zoology*”, disponível em <https://zslpublications.onlinelibrary.wiley.com/hub/journal/14697998/author-guidelines>

5 ARTIGO I

Serum biochemical and blood gas profiles of two South American freshwater chelonians

Abstract

Freshwater turtles of the genus *Phrynops* are important ecological indicators in South American river systems. Comprehensive reference intervals for blood biochemistry and blood gas parameters are essential for health monitoring, conservation medicine, and interspecific comparisons. Seventy-nine specimens (56 *Phrynops geoffroanus* and 23 *Phrynops williamsi*) were captured in the Iguaçu River Basin within Iguaçu National Park, southern Brazil. Blood was collected by dorsal cervical sinus puncture. Twenty serum biochemical analytes were measured on an automated analyzer using commercial kits, and 11 blood gas parameters were assessed with a portable field analyzer. Data distribution was evaluated by the Shapiro-Wilk test; associations between analytes and body size (maximum carapace length, MCL) and inter-analyte correlations were assessed by Spearman's rank coefficient. Notable interspecific differences were observed in amylase (*P. geoffroanus* median 1,941 U/L vs. *P. williamsi* median 90 U/L), triglycerides (112 vs. 26.5 mg/dL), and hematocrit (16% vs. 20%). Creatine kinase showed wide variability in both species (medians 1,770 and 3,482 U/L, respectively). Body size correlated negatively with AST, lactate, and glucose, and positively with albumin, total protein, and ALP. Blood pH ranged from 7.30 to 7.34, with pCO₂ values between 42 and 52 mmHg. Inter-analyte correlations supported expected coupling between bicarbonate and total CO₂, and between albumin and total protein. This study provides the first simultaneous characterization of serum biochemical and blood gas profiles for free-ranging *P. geoffroanus* and *P. williamsi*, revealing interspecific biochemical divergence, allometric effects, and metabolic coupling patterns relevant to conservation programs.

Keywords: Chelidae; hematobiochemistry; hemogasometry; Iguaçu National Park; reptile physiology; reference intervals; wildlife medicine

Introduction

Freshwater turtles occupy a central position in aquatic ecosystems, acting simultaneously as predators, scavengers, and prey (Brito et al. 2025). Their longevity, aquatic fidelity, and sensitivity to habitat degradation, water contamination, and anthropogenic disturbance, have made them effective biological sentinels of ecosystem integrity and environmental quality (Venancio et al. 2013; da Silva et al. 2024). Characterizing baseline blood parameters for free-ranging populations is therefore an essential component of conservation medicine and ecotoxicological monitoring in chelonians (Innis et al. 2014; Adamovicz et al. 2018).

The genus *Phrynops* (Wagler, 1830) comprises side-necked turtles of the family Chelidae, distributed across major river drainages of central and southern South America. *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) is

most widely distributed member, colonizes environments from urban streams and agricultural channels to relatively pristine rivers (Souza and Abe 2000; Brites and Rantin 2004; Ferronato et al. 2009) and its persistence in polluted waterways makes it a valuable model for ecophysiological research in altered landscapes (Silva, Oliveira & Bonini-Domingos 2011; Venancio et al. 2013).

In contrast, *Phrynops williamsi* (Rhodin & Mittermeier, 1983) occupies a narrower niche, associated with lotic systems and fast-flowing rocky streams in the upper Paraná and Uruguay Rivers basins, from southern Brazil to Argentina and Uruguay (Brito et al. 2025). Its restricted habitat and limited range underlie its classification as Vulnerable on the IUCN Red List, underscores the urgency of baseline physiological data to support conservation planning (Rhodin et al. 2018).

Previous work on *P. geoffroanus* has focused mainly on hematological parameters and the influence of season, origin, and sex on erythrocyte indices (Ferronato et al. 2009; Zago et al. 2010; Pulcherio et al. 2023), with little attention to body-size effects on biochemical analytes or to blood gas parameters in free-ranging populations (Venancio et al. 2013). For *P. williamsi*, no blood biochemical or blood gas reference data have been published to date.

The present study aimed to (1) establish serum biochemical and blood gas reference profiles for free-ranging *P. geoffroanus* and *P. williamsi* in the Iguaçu National Park; (2) investigate the relationship between body size and selected biochemical analytes; and (3) characterize inter-analyte correlations within each panel. These data represent the first integrated biochemical and blood gas reference framework for these species, supporting health-based monitoring of freshwater chelonians.

Material and Methods

The study was authorized by the Brazilian Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO), under permit number 98471-1, and was approved by the Institutional Animal Ethics Committee (CEUA), under protocol number 7664021224.

Study area and capture

Specimens were captured in the Iguaçu River Basin within Iguaçu National Park (Paraná, Brazil), a protected area of approximately 185,000 ha of Atlantic Forest and a UNESCO World Heritage Site harboring one

of the best-preserved remnants of subtropical Atlantic Forest in South America. Captures used funnel traps ($80 \times 46 \times 20$ cm) installed along suitable aquatic habitats margins, set in the morning (08:00 h) and checked every 24 h. Upon capture, individuals were physically restrained and placed in cloth bags to minimize handling stress until sample collection.

Biometric assessment

Standard morphometric measurements were recorded for each individual using a digital caliper, including maximum carapace length, maximum carapace width, maximum plastron length, and maximum plastron width. Body mass was measured in grams using a spring scale, and sex was determined by external morphology following Rueda-Almonacid et al. (2007). Each individual also underwent a directed physical examination of the shell, skin, ocular and oral mucosae, and oral cavity; animals with open wounds, lesions, or visible skin/shell blemishes and necrotic areas were excluded, and only individuals judged clinically healthy were sampled.

Blood collection

Blood was collected by puncture of the dorsal cervical venous sinus, following aseptic preparation of the venipuncture site with povidone-iodine. A heparinized 1 mL syringe equipped with a 21G $1\frac{1}{4}$ needle (0.8×30 mm) was used for all collections. Sample volume did not exceed 0.8% of body mass (in grams) for any individual, in accordance with established guidelines for blood sampling in reptiles.

Blood gas analysis

An aliquot of whole blood was dispensed immediately after collection into the Epoc® Blood Gas Analyzer/NXS (Siemens Healthineers), a portable point-of-care device capable of measuring pH, partial pressures of oxygen (pO_2) and carbon dioxide (pCO_2), bicarbonate ($cHCO_3^-$), total CO_2 (TCO_2), electrolytes (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-), hematocrit (Hct), and blood urea nitrogen (BUN). Analyses were performed within one minute of collection to minimize pre-analytical variation.

Serum biochemistry

The remaining blood was centrifuged at 5,000 rpm for five minutes to obtain sérum and biochemical analyses were performed with commercial kits on an automated analyzer (Wiener lab CM 250®). The 20-analyte panel included: uric acid, ALT, amylase, AST, calcium, CK, total cholesterol, creatinine, ALP, phosphorus, glucose, HDL, lactate, lipase, magnesium, total protein, urea, GGT, and triglycerides. Because circulating blood volume was limited in the smallest individuals by the 0.8% sampling ceiling, the complete panel could not be run on every specimen; amylase, lipase, and HDL, were most often affected by insufficient serum volume. The number of animals evaluated per analyte is indicated in Tables 1 and 2.

Statistical analysis

Data were tested for normality using the Shapiro-Wilk test. Variables conforming to normality ($p > 0.05$) are presented as mean $\pm$ standard deviation (SD), whereas non-normally distributed variables are expressed as median with minimum and maximum values, along with the 25th and 75th percentiles (P25-P75). Spearman's rank correlation coefficient (ρ) was used to assess associations between body size (MCL) and each biochemical and blood gas analyte, and to construct inter-analyte correlation matrices for each species. A significance threshold of $p < 0.05$ was adopted throughout. Statistical analyses were performed in Rstudio [Version 2025.05.1+513 (2025.05.1+513)].

Results

A total of 79 individuals were sampled: 56 *Phrynops geoffroanus* and 24 *Phrynops williamsi*. In *P. geoffroanus*, MCL ranged from 118.58 to 375.32 mm, with a median of 178.68 mm and an interquartile interval of 153.77 to 242.84 mm. Body mass ranged from 170 to 3,800 g (median 615 g; IQR 381.25-1,250 g). For *P. williamsi*, MCL averaged 198.79 ± 47.98 mm (P25-P75: 160.89-240.50 mm), and body mass showed a median of 595 g [255-2,440 g] with an interquartile range of 381.25 to 1,290 g, values broadly similar to those of the conspecific population.

Serum biochemical profile

Phrynosops geoffroanus (Table 1). Most analytes showed wide individual variation, as reflected in the broad ranges recorded for CK (187-14,522 U/L), ALP (82-3,261 U/L), lactate (14.7-283.3 mg/dL), and triglycerides (15-673 mg/dL). Albumin and total protein showed distributions consistent with normality (means 1.59 ± 0.28 g/dL and 3.77 ± 0.76 g/dL, respectively).

The strong protein covariation (see below) is expected given albumin's role as the major plasma protein fraction in chelonians. Glucose averaged 171.24 ± 54.22 mg/dL, and lactate, sensitive to muscular exertion and anaerobic metabolism, showed a median of 90.3 mg/dL with long the upper tail (maximum 283.3 mg/dL).

Among hepatic enzymes, ALT was markedly lower than AST (medians 9 and 91 U/L), reflecting the lower tissue specificity of ALT and relatively high AST activity in both hepatic and muscular tissue in reptiles. Lipid analytes included total cholesterol (median 104 mg/dL), HDL (22 mg/dL), and triglycerides (112 mg/dL), and amylase activity was high (mean $1,897.6 \pm 442.30$ U/L).

Table 1. Serum biochemical profile of *Phrynosops geoffroanus* (n=56).

	Median	Mean	SD	Min	Max	P25	P75
Uric Acid (mg/dL)	2.4	2.32	0.71	0.8	4	1.85	2.7
Albumin (g/dL)	1.6	1.59	0.28	0.8	2.3	1.4	1.75
ALT (U/L)*	9*	14.43	15.98	0	89	5.5	17
Amylase (U/L)	1941	1897.6	442.30	855	2552	1694	2142.5
AST (U/L)*	91	101.74	52.66	0	275	67	127.5
Calcium (mg/dL)*	9	8.89	1.19	4.7	11	8.3	9.47
CK (U/L)*	1770.0	3321.08	3912.55	187	14522	752	3672.25
Cholesterol (mg/dL)*	104	108.47	42.81	26	238	80.5	127
Creatinine (mg/dL)*	0.17	0.20	0.12	0	0.45	0.11	0.3
ALP (U/L)*	491	584.2	496.05	82	3261	283.5	657.5
Phosphorus (mg/dL)	3.1	3.34	0.92	2	6.9	2.7	3.7
Glucose (mg/dL)	168	171.24	54.22	45	316	134.25	199
HDL (mg/dL)*	22	29.39	20.11	8	89	16.5	37.5
Lactate (mg/dL)*	90.3	97.26	52.11	14.7	283.3	61.1	127.6
Lipase (U/L)*	10	19.25	22.43	6	98	8.75	21.5
Magnesium (mg/dL)*	2	1.95	0.59	0.1	4	1.65	2.2
Total Protein (g/dL)	3.8	3.77	0.76	1.8	5.3	3.35	4.3
Urea (mg/dL)*	14	19.37	20.12	0	108	7	23.5
GGT (U/L)*	2.71	6.63	10.33	0	56.28	0.09	9.30
Triglycerides (mg/dL)*	112	127.02	105.44	15	673	64	152.5

Alanine aminotransferase (ALT), amylase, aspartate aminotransferase (AST), calcium (Ca), creatine kinase (CK), alkaline phosphatase (ALP), high-density lipoprotein (HDL), gamma-glutamyl transferase (GGT). Values marked with an asterisk (*) indicate non-normal distribution according to Shapiro-Wilk test ($p < 0.05$).

Prynops williamsi (Table 2). Several analytes differed from the pattern observed in *P. geoffroanus*. Amylase was markedly lower (median 90 U/L vs 1,941 U/L, ~20-fold), as were triglycerides (median 26.5 mg/dL vs 112 mg/dL). CK was higher and even more variable (median 3,482 U/L; range 2-40,089 U/L), and ALP was also more variable, with a higher mean ($1,287.23 \pm 2,236.15$ U/L), driven by high-value outliers. Glucose was lower (mean 118.77 vs. 171.24 mg/dL) and creatinine higher (mean 0.30 vs 0.20 mg/dL) than in *P. geoffroanus*. Albumin and total protein were similar between species.

Table 2. Serum biochemical profile of *Phrynosops williamsi* (n=23).

	Median	Mean	SD	Min	Max	P25	P75
Uric Acid (mg/dL)	2.7	2.94	1.38	0.6	5.7	2	3.5
Albumin (g/dL)	1.8	1.81	0.24	1.4	2.3	1.62	2
ALT (U/L)*	3	13.73	37.57	0	180	2	11.5
Amylase (U/L)*	90	561.69	762.77	17	2251	42	1000
AST (U/L)*	89	100	50.14	42	262	63	123.75
Calcium (mg/dL)*	8	6.18	4.52	0	13.6	0	9.1
CK (U/L)*	3482.0	6243.09	8712.66	2	40089	1014.5	6366.25
Cholesterol (mg/dL)	85.5	87.95	29.49	4	145	73.25	104.75
Creatinine (mg/dL)	0.32	0.30	0.13	0.04	0.47	0.20	0.41
ALP (U/L)*	437.5	1287.23	2236.15	11	8240	139.5	737.5
Phosphorus (mg/dL)*	3.85	4.14	1.59	2.4	10.3	3.32	4.52
Glucose (mg/dL)	117.5	118.77	26.90	80	191	104.5	132.5
HDL (mg/dL)	34	36.43	10.19	19	53	32	40.5
Lactate (mg/dL)	102	111.11	45.54	36.6	198.3	76.75	155.17
Lipase (U/L)*	9	17.54	15.72	5	53	8	22
Magnesium (mg/dL)*	1.9	1.50	1.04	0.1	3	0.2	2.3
Total Protein (g/dL)*	3.75	3.68	0.97	0.2	5.2	3.4	4.17
Urea (mg/dL)*	19.5	21.95	11.08	7	48	15	26.75
GGT (U/L)	5.29	5.76	4.06	0	16.88	4.17	7.2
Triglycerides (mg/dL)*	26.5	30.41	14.72	14	66	20.75	32.25

Alanine aminotransferase (ALT), amylase, aspartate aminotransferase (AST), calcium (Ca), creatine kinase (CK), alkaline phosphatase (ALP), high-density lipoprotein (HDL), gamma-glutamyl transferase (GGT). Values marked with an asterisk (*) indicate non-normal distribution according to Shapiro-Wilk test ($p < 0.05$).

Correlations between body size and biochemical analytes

In *P. geoffroanus*, MCL correlated negatively with uric acid ($\rho = -0.377$; $p = 0.006$), AST ($\rho = -0.505$; $p < 0.001$), lactate ($\rho = -0.459$; $p = 0.001$), and glucose ($\rho = -0.426$; $p = 0.002$), and positively with albumin ($\rho = 0.420$; $p = 0.002$), total protein ($\rho = 0.449$; $p = 0.001$), and ALP ($\rho = 0.345$; $p = 0.014$); remaining analytes showed no significant association ($p > 0.05$) (Fig. 1).

In *P. williamsi*, a broader set of analytes correlated with body size: negatively for uric acid ($\rho = -0.579$; $p = 0.006$), ALT ($\rho = -0.665$; $p = 0.001$), AST ($\rho = -0.654$; $p = 0.001$), phosphorus ($\rho = -0.657$; $p = 0.001$), lipase ($\rho = -0.668$; $p = 0.013$), HDL ($\rho = -0.731$; $p = 0.005$), and GGT ($\rho = -0.753$; $p < 0.001$), and positively for calcium ($\rho = 0.631$; $p = 0.002$) and ALP ($\rho = 0.566$; $p = 0.008$); remaining analytes showed no significant correlation ($p > 0.05$) (Fig. 2).

Inter-analyte correlation matrices (serum biochemistry)

In *P. geoffroanus*, the strongest correlation observed was between albumin and total protein ($\rho = 0.88$), consistent with the dominant contribution of albumin to total circulating protein. Among hepatic and muscular enzymes, ALT and AST showed moderate positive correlation ($\rho = 0.38$), and AST correlated more strongly with CK ($\rho = 0.64$), suggesting substantial muscular contribution to circulating AST activity. Uric acid co-varied positively with both calcium ($\rho = 0.52$) and AST ($\rho = 0.42$). Among mineral electrolytes, calcium correlated with lactate ($\rho = 0.48$) and magnesium with lactate ($\rho = 0.34$). A strong positive correlation was found between total cholesterol and HDL ($\rho = 0.80$). Amylase co-varied with total protein ($\rho = 0.64$) and AST ($\rho = 0.45$) (Fig. 3).

In *P. williamsi*, the albumin-total protein correlation was even stronger ($\rho = 0.93$). Albumin also correlated with total cholesterol ($\rho = 0.70$) and triglycerides ($\rho = 0.63$). Among hepatic enzymes, ALT and AST were positively correlated ($\rho = 0.73$), and both were associated with uric acid (ALT: $\rho = 0.66$; AST: $\rho = 0.77$) and phosphorus (ALT: $\rho = 0.67$; AST: $\rho = 0.75$). AST also correlated with CK ($\rho = 0.61$). Uric acid showed positive associations with ALT, AST, CK ($\rho = 0.61$), phosphorus ($\rho = 0.69$), HDL ($\rho = 0.70$), and GGT ($\rho = 0.70$). Calcium

and magnesium were strongly correlated ($\rho = 0.76$), and both were associated with ALP (calcium: $\rho = 0.73$) and amylase (magnesium: $\rho = 0.84$). ALP and amylase showed the strongest positive correlation in this matrix ($\rho = 0.86$). Notable negative correlations included HDL with calcium ($\rho = -0.62$) and HDL with magnesium ($\rho = -0.68$) (Fig. 4).

Blood gas profile

Phrynosaurus geoffroanus (Table 3). Blood pH ranged from 7.001 to 7.51, with a median of 7.313 (mean 7.30 ± 0.11), indicating a slightly acidotic tendency relative to standard mammalian values and consistent with the expected range for aquatic chelonians. $p\text{CO}_2$ showed a median of 49.8 mmHg (mean 51.84 ± 13.64 mmHg), while $p\text{O}_2$ had a median of 61.8 mmHg (mean 61.93 ± 13.12 mmHg). Bicarbonate and total CO_2 were closely aligned, with medians of 25.1 and 24.9 mmol/L, respectively. Hematocrit averaged $15.47 \pm 3.21\%$ (range 10-24%). Sodium showed a median of 138 mmol/L, potassium a mean of 3.83 ± 0.45 mmol/L, ionized calcium 6.20 ± 0.54 mmol/L, and chloride 97.98 ± 4.21 mmol/L. BUN ranged widely from 3 to 44 mg/dL (median 6 mg/dL).

Table 3. Blood gas and electrolyte profile of *Phrynosaurus geoffroanus* (n = 45).

	Median	Mean	SD	Min	Max	P25	P75
pH	7.313	7.30	0.11	7.001	7.51	7.236	7.371
$p\text{CO}_2$ (mmHg)*	49.8	51.84	13.64	32.2	79.4	40.4	64.1
$p\text{O}_2$ (mmHg)*	61.8	61.93	13.12	40.2	86.8	49.5	71.4
cHCO_3^- (mmol/L)	25.1	24.92	4.77	15.9	33.5	21.4	29
TCO_2 (mmol/L)	24.9	137.89	3.42	130	143	136	140
Na^+ (mmol/L)*	138	3.83	0.45	3	5	3.6	4
K^+ (mmol/L)	3.8	6.20	0.54	4.9	7.8	5.8	6.6
Ca^{2+} (mmol/L)	6.2	97.98	4.21	90	109	95	102
Cl^- (mmol/L)	98	25.06	5.06	15.4	34.5	21.2	29.4
Hct (%)	16	15.47	3.21	10	24	13	17
BUN (mg/dL)*	6	7.81	7.59	3	44	3	9

$p\text{CO}_2$, partial pressure of carbon dioxide; $p\text{O}_2$, partial pressure of oxygen; cHCO_3^- , bicarbonate; TCO_2 , total CO_2 ; Hct, hematocrit; BUN, blood urea nitrogen. Asterisks (*) indicate non-normal distribution (Shapiro-Wilk, $p < 0.05$).

Phrynops williamsi (Table 4). Blood pH in this species was slightly higher than in *P. geoffroanus*, with a median of 7.355 (mean 7.34 ± 0.11). $p\text{CO}_2$ was lower (median 44.1 mmHg; mean 42.43 ± 12.48 mmHg), and $p\text{O}_2$ was notably higher (mean 78.17 ± 11.84 mmHg; range 47.4-95.3 mmHg). Bicarbonate and total CO_2 averaged 22.37 ± 4.54 and 22.34 ± 4.84 mmol/L, respectively, somewhat lower than in *P. geoffroanus*. Hematocrit was higher (mean $20.10 \pm 2.71\%$; range 16-27%). Sodium, potassium, and chloride were comparable between species, while ionized calcium showed a lower median in *P. williamsi* (5.5 vs 6.2 mmol/L). BUN ranged from 3 to 24 mg/dL (median 6 mg/dL).

Table 4. Blood gas and electrolyte profile of *Phrynops williamsi* (n = 21).

	Median	Mean	SD	Min	Max	P25	P75
pH	7.355	7.34	0.11	7.124	7.50	7.287	7.419
$p\text{CO}_2$ (mmHg)*	44.1	42.43	12.48	25.5	81.2	31.1	49
$p\text{O}_2$ (mmHg)	79.6	78.17	11.84	47.4	95.3	72	85.4
cHCO_3^- (mmol/L)	22.1	22.37	4.54	14.5	30.8	19.5	24.2
TCO_2 (mmol/L)	139	139.86	4.45	132	151	137	142
Na^+ (mmol/L)	3.65	3.68	0.37	3.1	4.3	3.375	3.925
K^+ (mmol/L)	5.5	5.48	1.08	2	7.8	5.1	6.1
Ca^{2+} (mmol/L)*	99	99.24	4.13	93	112	97	101
Cl^- (mmol/L)*	22	22.34	4.84	14.4	30.9	19.1	24.4
Hct (%)	20	20.10	2.71	16	27	18.5	22
BUN (mg/dL)*	6	8.11	5.12	3	24	5.5	8.5

$p\text{CO}_2$, partial pressure of carbon dioxide; $p\text{O}_2$, partial pressure of oxygen; cHCO_3^- , bicarbonate; TCO_2 , total CO_2 ; Hct, hematocrit; BUN, blood urea nitrogen. Asterisks (*) indicate non-normal distribution (Shapiro-Wilk, $p < 0.05$).

Inter-analyte correlation matrices (blood gas parameters)

In *P. geoffroanus*, the expected inverse relationship between pH and $p\text{CO}_2$ was confirmed ($\rho = -0.70$), and pH was also negatively associated with $p\text{O}_2$ ($\rho = -0.33$). $p\text{CO}_2$ showed positive correlations with cHCO_3^- ($\rho = 0.40$) and TCO_2 ($\rho = 0.44$). The correlation between cHCO_3^- and TCO_2 was near-perfect ($\rho = 0.97$), as expected from their shared dependence on the bicarbonate buffer system. $p\text{O}_2$ correlated negatively with cHCO_3^- ($\rho = -0.41$) and TCO_2 ($\rho = -0.37$). Among electrolytes, sodium and chloride co-varied positively ($\rho = 0.56$). Potassium correlated positively with $p\text{O}_2$ ($\rho = 0.32$) and negatively with cHCO_3^- ($\rho = -0.36$) (Fig. 5).

In *P. williamsi*, the pH-pCO₂ inverse correlation was also present ($\rho = -0.60$). pCO₂ correlated positively with cHCO₃⁻ ($\rho = 0.58$) and TCO₂ ($\rho = 0.63$), and the cHCO₃⁻-TCO₂ correlation was again near-perfect ($\rho = 0.99$). Sodium correlated with both chloride ($\rho = 0.63$) and pCO₂ ($\rho = 0.48$). Potassium showed negative correlations with pH ($\rho = -0.48$) and cHCO₃⁻ ($\rho = -0.41$). BUN correlated positively with chloride ($\rho = 0.39$) (Fig. 6).

Exploratory stratification by venous pO₂

No direct behavioral record of respiratory state (surfaced/ventilating vs. Submerged/apneic) was available at capture. As an exploratory, descriptive approach rather than a validated physiological classification, animals with complete blood gas data were stratified post hoc around the species-specific median venous pO₂. In *P. geoffroanus* (n=45), the lower-pO₂ subgroup (median 49.0 mmHg, n=22) and the higher-pO₂ subgroup (median 71.4 mmHg, n=23) did not differ significantly in pCO₂ (52.3 vs. 45.5 mmHg; $p=0.72$) or pH (7.33 vs. 7.29; $p=0.14$), but the lower-pO₂ subgroup showed significantly higher cHCO₃⁻ (27.7 vs. 23.5 mmol/L; $p=0.024$) and TCO₂ (27.2 vs. 22.8 mmol/L; $p=0.030$), while ionized calcium was higher in the higher-pO₂ subgroup (6.40 vs. 5.95 mmol/L; $p=0.015$). Venous pO₂ also correlated positively with lactate ($\rho=0.51$; $p<0.001$) and glucose ($\rho=0.41$; $p=0.009$), and negatively with MCL ($\rho=-0.30$; $p=0.044$). In *P. williamsi* (n=21), no significant differences were detected between pO₂ subgroups for any variable, likely reflecting the smaller sample.

Discussion

Serum biochemistry: inter-species comparisons and baseline characterization

The biochemical profiles reported here represent the most comprehensive baseline data available for free-ranging populations of both species. Differences between *P. geoffroanus* and *P. williamsi* were apparent for several analytes, with some of the most striking contrasts involving amylase, triglycerides, and hematocrit. In *P. geoffroanus*, amylase activity (median 1,941 U/L) was roughly 20-fold higher than in *P. williamsi* (median 90 U/L).

Although amylase reference data for freshwater chelonians are scarce, this magnitude of difference exceeds what analytical variability could explain. *P. geoffroanus* is a generalist omnivore tolerant of diverse food sources, including organic matter from polluted environments (Ferronato et al. 2009; Ribeiro, Utta & Barreto

2017), whereas *P. williamsi* occupies more restricted lotic habitats with a narrower, more carnivore dietary niche (Brito et al. 2025). Greater dietary diversity may drive higher pancreatic amylase secretion in *P. geoffroanus*, though untested. Amylase is also modulated by reproductive state, being elevated during nesting in hawksbill turtles (Ehsanpour et al. 2015).

Triglyceride concentrations were also markedly lower in *P. williamsi* (median 26.5 vs 112 mg/dL). Plasma triglycerides in chelonians are sensitive to reproductive status and nutritional condition: in female green turtles, triglycerides peak during vitellogenesis and courtship and decline after the last clutch (Hamann, Limpus & Whittier 2002). The higher values in *P. geoffroanus* may reflect a more eclectic diet, lipid-rich diet, a higher proportion of reproductive females, or a more anabolic nutritional state at the time of capture, whereas the lower triglycerides in *P. williamsi* could indicate lower caloric intake or greater energy expenditure in its rheophilic (Price 2017), which reviewed lipid physiology across reptiles and emphasized the sensitivity of triglycerides to nutritional and reproductive status.

Glucose concentrations were higher in *P. geoffroanus* (mean 171.24 vs 118.77 mg/dL), despite this species appearing less behaviorally reactive during restraint than *P. williamsi*, which also showed higher and more variable CK and lactate, both more consistent with greater capture-related muscular exertion. This pattern argues against differential catecholamine-driven stress hyperglycemia as the main driver of the interspecies glucose difference and instead points to a metabolic or dietary basis: baseline glycemia in reptiles is shaped by diet and digestive physiology (Neuman-Lee et al. 2019), and the more generalist, carbohydrate-inclusive diet of *P. geoffroanus*, already reflected in its markedly higher amylase activity, may sustain higher baseline circulating glucose than the more strictly carnivorous *P. williamsi*.

CK values were elevated and highly variable in both species, with *P. williamsi* showing even wider dispersion (range 2-40,089 U/L), typical wild-caught reptiles. Arguedas (2024), reviewing CK/AST data from 17 wild reptile studies, concluded that such variation is inherent to free-ranging populations, reflecting muscle exertion during capture and restraint: struggling induces intense isometric contraction, transiently releasing CK and AST into circulation. This variability means that isolated elevated CK or AST should not be read as myopathy or hepatic pathology without supporting clinical signs (Adamovicz et al. 2018; Arguedas 2024).

The AST-CK correlation ($\rho = 0.64$ in *P. geoffroanus*; $\rho = 0.61$ in *P. williamsi*) supports a shared muscular origin for both enzymes. Studies of tissue enzyme activities in eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) demonstrated that CK activity is highest in skeletal and cardiac muscle, while AST is relatively non-specific across tissues including muscle, liver, and gastrointestinal tract (Adamovicz et al., 2019). Parallel co-elevation of these

enzymes after restraint is thus most parsimoniously explained by muscle-derived release rather than concurrent hepatic injury, particularly in the absence of other signs of liver dysfunction. (Divers and Stahl 2019).

Lactate values were high and variable in both species (*P. geoffroanus* median 90.3 mg/dL; *P. williamsi* median 102 mg/dL). Reptiles have limited aerobic scope relative to endotherms, and brief muscular activity during capture readily induce anaerobic metabolism and lactate accumulation (Bennett 1978; Warren and Jackson 2008). This response has been documented in chelonians: plasma lactate rose rapidly in gopher tortoises after trap capture, preceding glucocorticoid elevation (Goessling and Mendonça 2021). Lactate in turtles captured by funnel traps and immediately restrained therefore reflects capture exertion rather than chronic metabolic disturbance.

Allometric effects of body size on biochemical analytes

Understanding how biochemical parameters vary with body size is particularly important in chelonians, whose prolonged ontogeny results in marked variation in age, metabolic rate, reproductive status, and dietary ecology among individuals within the same population. Allometric relationships between body size and blood analytes have been described in numerous reptilian taxa, including freshwater and marine turtles, where enzymes, proteins, and metabolites shift systematically during growth (Bolten and Bjorndal 1992; Deem et al. 2006; Stacy, Alleman & Saylor 2011). Failure to account for ontogenetic variation may therefore broaden reference intervals artificially and obscure biologically meaningful patterns.

The negative correlations between MCL and tissue enzymes (AST, ALT in *P. williamsi*; AST in both species), metabolites (lactate, glucose, uric acid), and enzymatic markers (GGT, lipase, phosphorus in *P. williamsi*) are consistent with allometric scaling of metabolic rate. Ultsch (2013) confirmed that mass-specific metabolic rate decreases with body mass; larger turtles generate less metabolic heat and accumulate less lactate during equivalent exertion than smaller conspecifics (Bennett 1978; Ultsch 2013), matching pattern here, where smaller, metabolically active individuals showed the highest exertion-sensitive values.

The positive correlations between MCL and albumin, total protein, and ALP have a different basis. In sea turtles, positive relationships between carapace length and total protein, albumin, and globulin fractions have been attributed to growing liver mass and hepatic synthetic capacity during somatic growth, and dietary shifts toward protein-rich prey at larger sizes (Anderson et al. 2011; Stacy et al. 2018; Kucinick et al. 2024). Albumin is the principal plasma protein in chelonians (Osborne et al. 2010), and its increase with size likely reflects greater hepatic

capacity in larger, more replete individuals, also reported in juvenile loggerhead from Madeira (Delgado et al. 2011).

ALP activity increasing with body size is consistent with bone remodeling: ALP is produced by osteoblasts, and its activity reflects bone formation and mineralization (Sharma et al. 2014). Although most shell growth occurs early in ontogeny, continuous remodeling persists throughout life, and larger animals, with greater shell surface and bone mass, may sustain higher osteoblast turnover (Divers and Stahl 2019). The positive ALP-size relationship likely reflects ontogenetic skeletal activity rather than pathological.

The broader set of size-dependent analytes in *P. williamsi* (ALT, phosphorus, HDL, GGT, lipase, calcium, ALP) may reflect a wider range of ontogenetic stages in its smaller sample, amplifying size-related variance, or a stronger selection for size-dependent resource allocation in its energetically demanding lotic habitat (Rhodin et al. 2018; Brito et al. 2025). The positive size-calcium correlation is notable, since calcium is critical for muscle contraction, neural signaling, and shell mineralization, and its size-dependent dynamics in freshwater chelonians remain unexplored.

Inter-analyte correlations within biochemical panels

The albumin-total protein correlation was the strongest in both species (*P. geoffroanus*: $\rho = 0.88$; *P. williamsi*: $\rho = 0.93$). This is physiologically expected: albumin is the dominant plasma protein in chelonians, and its synthesis-driven variation will inevitably drive parallel changes in total protein. Osborne et al. (2010) demonstrated this relationship in loggerhead and green sea turtles, where albumin and total protein were tightly coupled across both healthy and ill individuals, reinforcing its conservation across chelonian taxa.

The cholesterol-HDL correlation in *P. geoffroanus* ($\rho = 0.80$) reflects HDL as the dominant circulating lipoprotein in many reptile; VLDL and LDL represent smaller fractions of total cholesterol; in nesting sea turtles, cholesterol and triglycerides rise together during vitellogenesis (Hamann et al. 2002; Kucinick et al. 2024). The weaker relationship in *P. williamsi* may reflect lower absolute lipid concentrations or genuine differences in lipoprotein composition.

In *P. williamsi*, uric acid co-varied with ALT, AST, CK, phosphorus, HDL, and GGT. Uric acid is the principal nitrogenous waste product in uricotelic reptiles, generated in the liver through xanthine oxidase-mediated oxidation of purines from nucleic acid turnover and dietary protein catabolism (Moyle 1949; Halán et al. 2022). Its association with hepatic enzymes may reflect shared dependence on hepatic activity, since higher protein

turnover generates more purine substrate. The CK and phosphorus association may similarly reflect higher muscular activity or tissue breakdown in smaller, more metabolically active individuals. These correlations deserve follow-up in larger, seasonally stratified datasets.

The ALP-amylase correlation in *P. williamsi* ($\rho = 0.86$) lacks an obvious mechanistic explanation. Both enzymes associated positively with calcium and magnesium, cofactors for multiple enzyme families, suggesting shared dependence on divalent cation availability. Alternatively, a subset of animals in a specific state, such as peak growth or post-prandial anabolism, may have upregulated both ALP (osteoblast activity) and amylase (active digestion). Given the small *P. williamsi* sample, outliers could disproportionately influence this correlation, and it should be interpreted cautiously.

Blood gas parameters and acid-base physiology

Blood pH in both species (medians of 7.313 and 7.355 for *P. geoffroanus* and *P. williamsi*) falls within the expected range for aquatic chelonians sampled in the field. The slightly acidic values relative to mammalian norms reflect handling-induced lactate accumulation, CO₂ retention during apnea, and the temperature-dependence of blood pH in ectotherms. In reptiles, blood pH decreases by approximately 0.013-0.016 pH units per degree Celsius increase in body temperature, a relationship first described systematically by Reeves (1972) under the alphastat hypothesis and subsequently quantified in multiple chelonian species (Reeves 1972; Wang and Jackson 2016). Since body temperature at the time of sampling was not standardized across individuals, some of the inter-individual pH variation in both species likely reflects differences in body temperature rather than intrinsic acid-base disturbance.

The lower pCO₂ and higher pO₂ observed in *P. williamsi* (pCO₂ mean 42.43 vs 51.84 mmHg; pO₂ mean 78.17 vs 61.93 mmHg) may reflect differences in the respiratory physiology of turtles inhabiting distinct aquatic environments. *P. williamsi* occupies lotic habitats with higher dissolved oxygen and lower dissolved CO₂ than the lentic or low-velocity water used by *P. geoffroanus*, and chronic exposure to well-oxygenated water may shift the habitual pCO₂ set point through differences in ventilatory drive or cutaneous gas exchange. Blood gas parameters in free-ranging chelonians are also known to be strongly influenced by activity level, PCV, and season, with more active animals showing lower pH and pO₂ and higher pCO₂ and lactate (Adamovicz et al. 2018). The higher pO₂ in *P. williamsi* may therefore reflect better habitual oxygenation, more active surface ventilation during capture,

or both, consistent with this species' greater behavioral reactivity during restraint, also reflected in its higher CK and lactate values.

The higher hematocrit in *P. williamsi* (mean 20.10 vs 15.47%) is consistent with greater oxygen-carrying capacity. In air-breathing aquatic vertebrates, increased erythrocyte mass is one of the principal mechanisms for extending aerobic dive duration by enlarging blood oxygen stores (Lutz and Dunbar-cooper 1987). Whether the higher hematocrit in *P. williamsi* reflects a species-level adaptation to the more energetically demanding rheophilic lifestyle or simply inter-individual variation in nutritional state and activity level at the time of sampling cannot be determined from the current cross-sectional dataset, but this difference is physiologically plausible given the species' ecology.

The absence of a significant $p\text{CO}_2$ or pH difference between the lower- and higher- $p\text{O}_2$ subgroups of *P. geoffroanus* argues against a simple model in which $p\text{O}_2$ depression was driven mainly by ventilatory apnea with proportional CO_2 retention. This is consistent with continuous arterial PO_2 recordings in undisturbed freshwater turtles, which show that blood O_2 tension is not tightly coupled to ventilation because of the incomplete anatomical separation between pulmonary and systemic circulations in the chelonian heart; intracardiac right-to-left shunting, which increases during apnea, diverts deoxygenated blood into the systemic circulation without a corresponding rise in PCO_2 (Williams and Hicks 2016). Cardiac shunting, rather than ventilatory frequency alone, may therefore account for much of the individual variability in $p\text{O}_2$ observed here, independently of whether an animal was breathing or submerged at capture.

Instead of a respiratory acidosis pattern, the lower- $p\text{O}_2$ subgroup showed higher bicarbonate and total CO_2 without a corresponding fall in pH, compatible with the high plasma buffering capacity long described in freshwater chelonians, which allows CO_2 and bicarbonate to shift over a wide range while pH is defended (Belkin 1968), and with the general reliance of intermittently breathing reptiles on bicarbonate buffering, rather than moment-to-moment ventilatory adjustment, to stabilize acid-base status between breaths (Burggren and Shelton 1979).

The positive correlation between venous $p\text{O}_2$ and both lactate and glucose is compatible with the capture-stress interpretation discussed above: animals that struggled more vigorously likely combined a stronger catecholamine-driven glycolytic response with more active surface ventilation, elevating $p\text{O}_2$, lactate, and glucose together, whereas calmer or more recently submerged individuals showed lower values across all three. The negative correlation between $p\text{O}_2$ and MCL is likewise consistent with allometric scaling of metabolic rate: larger individuals, with lower mass-specific demands and greater tolerance of extended apnea (Ultsch 2013), may sustain

longer voluntary submergence before a comparable drop in oxygenation. These associations remain descriptive and hypothesis-generating rather than direct evidence of apnea, since respiratory state was not recorded independently of the blood gas values themselves; confirming this would require paired behavioral observation in future studies.

The near-perfect correlation between cHCO_3^- and TCO_2 in both species ($\rho = 0.97$ and 0.99) is analytically expected, since TCO_2 is the sum of dissolved CO_2 , carbamino compounds, and HCO_3^- , the last accounting for over 90% under physiological conditions. The strong negative pH-pCO_2 correlation ($\rho = -0.70$ and -0.60) directly reflects the Henderson-Hasselbalch relationship and confirms active respiratory modulation of acid-base balance, consistent with blood gas data reported for other chelonians under field conditions (Innis et al. 2014; Adamovicz et al. 2018).

The positive $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ correlations in both species ($\rho = 0.56$ and 0.63) reflect the electrochemical coupling of these major extracellular ions, maintained by active renal and epithelial transport. The negative potassium-bicarbonate relationship ($\rho = -0.36$ and -0.41) reflects a classical trans-membrane exchange: in metabolic alkalosis, extracellular K^+ shifts intracellularly in exchange for H^+ , reducing plasma K^+ as HCO_3^- rises, a well established reciprocal relationship whose detection here supports the internal consistency of the dataset.

The overall stability of Na^+ and Cl^- in both species is also consistent with the broader role of the chelonian urinary and cloacal bladders in extracellular electrolyte and water homeostasis, which buffer plasma ion concentrations against short-term fluctuations in hydration and intake (Jørgensen 1998).

Methodological considerations and limitations

Methodological considerations affect interpretation. Blood was collected by venous puncture, rather than arterial blood; venous pO_2 is lower and more directly reflects tissue oxygen extraction, so comparisons with arterial data should be made cautiously. Capture-to-sampling time and ambient temperature were not standardized across and could have added variability to lactate, glucose, CK, and blood gas parameters. Sample sizes, particularly for *P. williamsi* ($n=24$), suffice description and Spearman correlations but may limit power for smaller associations or narrow-confidence reference intervals. Larger, seasonally, stratified samples would strengthen this framework. Finally, the Iguazu National Park is relatively well-preserved, these profiles may differ from degraded or urban habitats populations.

Conclusions

This study provides the first simultaneous characterization of serum biochemical and blood gas parameters for free-ranging *P. geoffroanus* and *P. williamsi* from Iguaçu National Park. Both species showed wide intra-species variability in capture-sensitive analytes, particularly CK, AST, and lactate, reinforcing the need to interpret these markers within the pre-analytical context of field capture and restraint.

The two species differed notably in amylase activity, triglyceride and glucose concentrations, hematocrit, and pO₂, differences that likely reflect genuine dietary, metabolic, and ecological divergence rather than methodological artifacts. Body size was a consistent predictor of several analytes in both species, with allometric scaling of mass-specific metabolic rate best explaining the negative correlations between MCL and metabolically labile enzymes and metabolites, and hepatic growth accounting for the positive correlations with plasma proteins and ALP.

Blood gas data confirm functional acid-base homeostasis in both species under field conditions. Differences in pO₂ and hematocrit suggest that *P. williamsi* may sustain greater oxygen-carrying capacity, potentially related to the energetic demands of its rheophilic ecology. The reference intervals and correlational patterns documented here provide a practical foundation for veterinary health assessments of captive and wild *Phrynops* and support evidence-based conservation programs for these South American chelonians.

Author Contributions Statement

All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by ALRM, PLBG, MM, AFFM, AGF, APGL, and RMV. The first draft of the manuscript was written by ALRM and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript. The authors declare that all data were generated in-house and that no paper mill was used.

Funding

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001. This study was also supported by the Fundação Araucária through the PIBIC program (Edital N° 72/GR/UFFS/2025).

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest to disclose.

Data availability

All data generated or analysed during this study are included in this published article. The data that support the findings of this study are available from the corresponding author, upon reasonable request.

Ethics approval

The study was authorized by the Brazilian Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO), under permit number 98471-1, and was approved by the Institutional Animal Ethics Committee (CEUA), under protocol number 7664021224.

Declaration of Generative AI

The authors declare that generative artificial intelligence (AI) tools were used during the preparation of this manuscript. Specifically, Claude (Anthropic, version Sonnet 4.5) was employed to assist with the drafting and structural organization and english revision of sections of the manuscript, including the Introduction, Material and Methods, and Results. AI tools were not used for data collection, statistical analysis, or the generation of figures and tables. The AI-generated text and image were reviewed, edited, and validated by the authors, who assume full accountability for the final content of this work. The authors take full responsibility for the accuracy, integrity, and originality of all content presented herein.

References

- Adamovicz L, Leister K, Byrd J, et al (2018) Venous blood gas in free-living eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) and effects of physiologic, demographic and environmental factors. *Conserv Physiol* 6:. <https://doi.org/10.1093/conphys/coy041>
- Anderson ET, Harms CA, Stringer EM, Cluse WM (2011) Evaluation of Hematology and Serum Biochemistry of Cold-Stunned Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) in North Carolina, USA. *J Zoo Wildl Med* 42:247–255. <https://doi.org/10.1638/2010-0217.1>
- Arguedas R (2024) On the significance of aspartate aminotransferase and creatine kinase in wild reptile health studies. *J Comp Physiol B* 194:47–51. <https://doi.org/10.1007/s00360-024-01535-7>
- Bennett AF (1978) Activity Metabolism of the Lower Vertebrates. *Annu Rev Physiol* 40:447–469. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.40.030178.002311>
- Bolten AB, Bjorndal KA (1992) Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *J Wildl Dis* 28:407–413. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.3.407>
- Brites VL de C, Rantin FT (2004) The influence of agricultural and urban contamination on leech infestation of

- freshwater turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha River. Environ Monit Assess 96:273–281. <https://doi.org/10.1023/B:EMAS.0000031733.98410.3c>
- Brito ES, Valadão RM, Malvasio A, et al (2025) Quelônios Continentais e Crocodilianos do Brasil. In: 1st edn. Agência Estadual de Meio Ambiente, Brasil, p 346
- Cash WB, Holberton RL, Knight SS (1997) Corticosterone Secretion in Response to Capture and Handling in Free-Living Red-Eared Slider Turtles. Gen Comp Endocrinol 108:427–433. <https://doi.org/10.1006/gcen.1997.6999>
- da Silva DT, Guedes T de A, França RT, et al (2024) Hematological and genotoxic biomarkers in a natural population of freshwater turtles *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) (Testudines: Emydidae) living in an urban area in Southern Brazil. Environ Sci Pollut Res 31:37215–37228. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33515-3>
- Deem SL, Dierenfeld ES, Sounguet GP, et al (2006) Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the coast of the republic of gabon. J Zoo Wildl Med 37:464–471. <https://doi.org/10.1638/05-102.1>
- Delgado C, Valente A, Quaresma I, et al (2011) Blood biochemistry reference values for wild juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from madeira archipelago. J Wildl Dis 47:523–529. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-47.3.523>
- Divers SJ, Stahl SJ (2019) Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery, Third Edit. Elsevier
- Ehsanpour M, Ahmadi MR, Bahri AH, et al (2015) Plasma biochemistry values in wild female hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*), during nesting and foraging seasons in Qeshm Island, Persian Gulf. Comp Clin Path 24:561–566. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-1945-3>
- Ferronato BO, Genoy-Puerto A, Piña CI, et al (2009) Notes on the hematology of free-living *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) in polluted rivers of Southeastern Brazil. Zool 26:795–798. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702009000400027>
- Goessling JM, Mendonça MT (2021) Physiological responses of gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*) to trapping. Conserv Physiol 9:. <https://doi.org/10.1093/conphys/coab003>
- Halán M, Kottferová L, Račka K, Lam A (2022) The Amount of Food Ingested and Its Impact on the Level of Uric Acid in the Blood Plasma of Snakes. Animals 12:2959. <https://doi.org/10.3390/ani12212959>
- Hamann M, Limpus C, Whittier J (2002) Patterns of lipid storage and mobilisation in the female green sea turtle (*Chelonia mydas*). J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol 172:485–493. <https://doi.org/10.1007/s00360-002-0271-2>
- Hunt KE, Innis CJ, Kennedy AE, et al (2016) Assessment of ground transportation stress in juvenile Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*). Conserv Physiol 4:cov071. <https://doi.org/10.1093/conphys/cov071>
- Innis CJ, Merigo C, Cavin JM, et al (2014) Serial assessment of the physiological status of leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) during direct capture events in the northwestern Atlantic Ocean: comparison of post-capture and pre-release data. Conserv Physiol 2:cou048–cou048. <https://doi.org/10.1093/conphys/cou048>
- Kucinick M, Charles KE, Carter K, et al (2024) Comparative plasma biochemistry analyte data in nesting leatherback (*Dermochelys coriacea*), foraging green (*Chelonia mydas*) and foraging and nesting hawksbill (*Eretmochelys imbricata*) sea turtles in Grenada, West Indies. Conserv Physiol 12:. <https://doi.org/10.1093/conphys/coae028>
- Lutaz PL, Dunbar-cooper ANN (1987) Variations in the blood chemistry of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. Fish Bull 85:37–43
- Moyle V (1949) Nitrogenous excretion in Chelonian reptiles. Biochem J 44:581–4. <https://doi.org/10.1042/bj0440581>
- Neuman-Lee LA, Hudson SB, Webb AC, French SS (2019) Investigating the relationship between corticosterone and glucose in a reptile. J Exp Biol. <https://doi.org/10.1242/jeb.203885>
- Osborne AG, Jacobson ER, Bresette MJ, et al (2010) Reference intervals and relationships between health status, carapace length, body mass, and water temperature and concentrations of plasma total protein and protein electrophoretogram fractions in Atlantic loggerhead sea turtles and green turtles. J Am Vet Med Assoc 237:561–567. <https://doi.org/10.2460/javma.237.5.561>
- Price ER (2017) The physiology of lipid storage and use in reptiles. Biol Rev 92:1406–1426.

- <https://doi.org/10.1111/brv.12288>
- Pulcherio RSL, Rocha MNA, de Barros RVP, et al (2023) Influence of season, environment, and sex on selected blood parameters of geoffroy's side-necked turtles, *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812). J Zoo Wildl Med 54:. <https://doi.org/10.1638/2022-0094>
- Reeves RB (1972) An imidazole alphastat hypothesis for vertebrate acid-base regulation: Tissue carbon dioxide content and body temperature in bullfrogs. Respir Physiol 14:219–236. [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(72\)90030-8](https://doi.org/10.1016/0034-5687(72)90030-8)
- Rhodin AGJ, Bressan RF, Buskirk JR, et al (2018) *Phrynops williamsi*. IUCN Red List Threat. Species
- Ribeiro LE de S, Uta AC da S, Barreto L (2017) Diet of *phrynops geoffroanus* (Schweigger 1812) (chelidae) in an environmental protection area in the amazon region of Maranhão state, Brazil. Herpetol Conserv Biol 12:556–564
- Sharma U, Pal D, Prasad R (2014) Alkaline Phosphatase: An Overview. Indian J Clin Biochem 29:269–278. <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0408-y>
- Silva MIA da, Oliveira MTV de A, Bonini-Domingos CR (2011) Acid phosphatase in blood smears of *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae). Rev Bras Hematol Hemoter 33:166–166. <https://doi.org/10.5581/1516-8484.20110041>
- Souza FL, Abe AS (2000) Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil . J Zool 252:437–446. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2000.tb01226.x>
- Stacy NI, Alleman AR, Sayler KA (2011) Diagnostic Hematology of Reptiles. Clin Lab Med 31:87–108. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006>
- Stacy NI, Bjorndal KA, Perrault JR, et al (2018) Blood analytes of oceanic-juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Azorean waters: reference intervals, size-relevant correlations and comparisons to neritic loggerheads from western Atlantic coastal waters. Conserv Physiol 6:. <https://doi.org/10.1093/conphys/coy006>
- Ulsch GR (2013) Metabolic scaling in turtles. Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol 164:590–597. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.01.012>
- Venancio LPR, Silva MIA, da Silva TL, et al (2013) Pollution-induced metabolic responses in hypoxia-tolerant freshwater turtles. Ecotoxicol Environ Saf 97:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.06.035>
- Wang T, Jackson DC (2016) How and why pH changes with body temperature: the α -stat hypothesis. J Exp Biol 219:1090–1092. <https://doi.org/10.1242/jeb.139220>
- Warren DE, Jackson DC (2008) Lactate metabolism in anoxic turtles: an integrative review. J Comp Physiol B 178:133–148. <https://doi.org/10.1007/s00360-007-0212-1>
- Zago CES, da Silva TL, da Silva MIA, et al (2010) Morphological, morphometrical and ultrastructural characterization of *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) blood cells, in different environments. Micron 41:1005–1010. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.06.006>

References

- Adamovicz, L., Leister, K., Byrd, J., Phillips, C.A. & Allender, M.C. (2018). Venous blood gas in free-living eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) and effects of physiologic, demographic and environmental factors. Conserv. Physiol. 6, coy041. <https://doi.org/10.1093/conphys/coy041>
- Adamovicz, L., Griffioen, J., Cerreta, A., Lewbart, G.A. & Allender, M.C. (2019). Tissue enzyme activities in free-living eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*). J. Zoo Wildl. Med. 50, 45-54. <https://doi.org/10.1638/2018-0079>

- Anderson, E.T., Harms, C.A., Stringer, E.M. & Cluse, W.M. (2011). Evaluation of hematology and serum biochemistry of cold-stunned green sea turtles (*Chelonia mydas*) in North Carolina, USA. J. Zoo Wildl. Med. 42, 247-255. <https://doi.org/10.1638/2010-0217.1>
- Arguedas, R. (2024). On the significance of aspartate aminotransferase and creatine kinase in wild reptile health studies. J. Comp. Physiol. B 194, 47-51. <https://doi.org/10.1007/s00360-024-01535-7>
- Belkin, D.A. (1968). Aquatic respiration and underwater survival of two freshwater turtle species. Respir. Physiol. 4, 1-14. [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(68\)90002-9](https://doi.org/10.1016/0034-5687(68)90002-9)
- Bennett, A.F. (1978). Activity metabolism of the lower vertebrates. Annu. Rev. Physiol. 40, 447-469. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.40.030178.002311>
- Bolten, A.B. & Bjorndal, K.A. (1992). Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. J. Wildl. Dis. 28, 407-413. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.3.407>
- Brites, V.L. de C. & Rantin, F.T. (2004). The influence of agricultural and urban contamination on leech infestation of freshwater turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha River. Environ. Monit. Assess. 96, 273-281. <https://doi.org/10.1023/B:EMAS.0000031733.98410.3c>
- Brito, E.S., Valadão, R.M., Malvasio, A., Freitas, A.F.F. de, Muniz, F. de L., Molina, F. de B., Souza, F.L. de, Moura, G.J.B. de, Costa, H.C., Bassetti, L.A.B., Friol, N.R., Bressan, R.F., Rocha, S.B. da, Gomides, S.C., Marques, T.S. & Portelinha, T.C.G. (2025). Quelônios Continentais e Crocodilianos do Brasil. 1st edn. Brasil: Agência Estadual de Meio Ambiente.
- Burggren, W.W. & Shelton, G. (1979). Gas exchange and transport during intermittent breathing in chelonian reptiles. J. Exp. Biol. 82, 75-92. <https://doi.org/10.1242/jeb.82.1.75>
- da Silva, D.T., Guedes, T. de A., França, R.T., Martins, C. de M.G. & Loebmann, D. (2024). Hematological and genotoxic biomarkers in a natural population of freshwater turtles *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) (Testudines: Emydidae) living in an urban area in Southern Brazil. Environ. Sci. Pollut. Res. 31, 37215-37228. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33515-3>
- Deem, S.L., Dierenfeld, E.S., Sounguet, G.P., Alleman, A.R., Cray, C., Poppenga, R.H., Norton, T.M. & Karesh, W.B. (2006). Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the coast of the Republic of Gabon. J. Zoo Wildl. Med. 37, 464-471. <https://doi.org/10.1638/05-102.1>
- Delgado, C., Valente, A., Quaresma, I., Costa, M. & Dellinger, T. (2011). Blood biochemistry reference values for wild juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Madeira archipelago. J. Wildl. Dis. 47, 523-

529. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-47.3.523>
- Divers, S.J. & Stahl, S.J. (2019). Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery. 3rd edn. St. Louis: Elsevier.
- Ehsanpour, M., Ahmadi, M.R., Bahri, A.H., Afkhami, M. & Reich, K.J. (2015). Plasma biochemistry values in wild female hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*), during nesting and foraging seasons in Qeshm Island, Persian Gulf. Comp. Clin. Pathol. 24, 561-566. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-1945-3>
- Ferronato, B.O., Genoy-Puerto, A., Piña, C.I., Souza, F.L., Verdade, L.M. & Matushima, E.R. (2009). Notes on the hematology of free-living *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) in polluted rivers of Southeastern Brazil. Zoologia 26, 795-798. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702009000400027>
- Goessling, J.M. & Mendonça, M.T. (2021). Physiological responses of gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*) to trapping. Conserv. Physiol. 9, coab003. <https://doi.org/10.1093/conphys/coab003>
- Halán, M., Kottferová, L., Račka, K. & Lam, A. (2022). The amount of food ingested and its impact on the level of uric acid in the blood plasma of snakes. Animals 12, 2959. <https://doi.org/10.3390/ani12212959>
- Hamann, M., Limpus, C. & Whittier, J. (2002). Patterns of lipid storage and mobilisation in the female green sea turtle (*Chelonia mydas*). J. Comp. Physiol. B 172, 485-493. <https://doi.org/10.1007/s00360-002-0271-2>
- Innis, C.J., Merigo, C., Cavin, J.M., Hunt, K.E., Dodge, K.L. & Lutcavage, M. (2014). Serial assessment of the physiological status of leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) during direct capture events in the northwestern Atlantic Ocean: comparison of post-capture and pre-release data. Conserv. Physiol. 2, cou048. <https://doi.org/10.1093/conphys/cou048>
- Jørgensen, C.B. (1998). Role of urinary and cloacal bladders in chelonian water economy: historical and comparative perspectives. Biol. Rev. 73, 347-366. <https://doi.org/10.1017/S0006323198005210>
- Kucinick, M., Charles, K.E., Carter, K., Edwards, J., Costlow, C., Wilkerson, M., Seddon, D. & Marancik, D. (2024). Comparative plasma biochemistry analyte data in nesting leatherback (*Dermochelys coriacea*), foraging green (*Chelonia mydas*) and foraging and nesting hawksbill (*Eretmochelys imbricata*) sea turtles in Grenada, West Indies. Conserv. Physiol. 12, coae028. <https://doi.org/10.1093/conphys/coae028>
- Lutz, P.L. & Dunbar-Cooper, A. (1987). Variations in the blood chemistry of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. Fish. Bull. 85, 37-43.
- Moyle, V. (1949). Nitrogenous excretion in chelonian reptiles. Biochem. J. 44, 581-584.

<https://doi.org/10.1042/bj0440581>

- Neuman-Lee, L.A., Hudson, S.B., Webb, A.C. & French, S.S. (2019). Investigating the relationship between corticosterone and glucose in a reptile. *J. Exp. Biol.* 222, jeb203885. <https://doi.org/10.1242/jeb.203885>
- Osborne, A.G., Jacobson, E.R., Bresette, M.J., Singewald, D.A., Scarpino, R.A. & Bolten, A.B. (2010). Reference intervals and relationships between health status, carapace length, body mass, and water temperature and concentrations of plasma total protein and protein electrophoretogram fractions in Atlantic loggerhead sea turtles and green turtles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 237, 561-567.
- <https://doi.org/10.2460/javma.237.5.561>
- Price, E.R. (2017). The physiology of lipid storage and use in reptiles. *Biol. Rev.* 92, 1406-1426.
- <https://doi.org/10.1111/brv.12288>
- Pulcherio, R.S.L., Rocha, M.N.A., de Barros, R.V.P., Brito, E.S., dos Santos, D.P., Mendonça, A.J., Strüssmann, C. & Ferraz, R.H.S. (2023). Influence of season, environment, and sex on selected blood parameters of Geoffroy's side-necked turtles, *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812). *J. Zoo Wildl. Med.* 54, 484-497.
- <https://doi.org/10.1638/2022-0094>
- Reeves, R.B. (1972). An imidazole alaphstat hypothesis for vertebrate acid-base regulation: tissue carbon dioxide content and body temperature in bullfrogs. *Respir. Physiol.* 14, 219-236.
- [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(72\)90030-8](https://doi.org/10.1016/0034-5687(72)90030-8)
- Rhodin, A.G.J., Bressan, R.F., Buskirk, J.R., Cabrera, M.R., Carreira, S., Estrades, A., Mittermeier, R.A., Vinke, S. & Vinke, T. (2018). *Phrynops williamsi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018, e.T172024A1339018.
- Ribeiro, L.E. de S., Uta, A.C. da S. & Barreto, L. (2017). Diet of *Phrynops geoffroanus* (Schweigger 1812) (Chelidae) in an environmental protection area in the Amazon region of Maranhão state, Brazil. *Herpetol. Conserv. Biol.* 12, 556-564.
- Rueda-Almonacid, J.V., Carr, J.L., Mittermeier, R.A., Rodríguez-Mahecha, J.V., Mast, R.B., Vogt, R.C., Rhodin, A.G.J., de la Ossa-Velásquez, J., Rueda, J.N. & Mittermeier, C.G. (2007). Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos del trópico. Serie de Guías Tropicales de Campo N° 6. Bogotá: Conservación Internacional / Editorial Panamericana, Formas e Impresos.
- Sharma, U., Pal, D. & Prasad, R. (2014). Alkaline phosphatase: an overview. *Indian J. Clin. Biochem.* 29, 269-278. <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0408-y>
- Silva, M.I.A. da, Oliveira, M.T.V. de A. & Bonini-Domingos, C.R. (2011). Acid phosphatase in blood smears of

- Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae). Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 33, 166.
<https://doi.org/10.5581/1516-8484.20110041>
- Souza, F.L. & Abe, A.S. (2000). Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. J. Zool. 252, 437-446.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2000.tb01226.x>
- Stacy, N.I., Alleman, A.R. & Sayler, K.A. (2011). Diagnostic hematology of reptiles. Clin. Lab. Med. 31, 87-108. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006>
- Stacy, N.I., Bjorndal, K.A., Perrault, J.R., Martins, H.R. & Bolten, A.B. (2018). Blood analytes of oceanic-juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Azorean waters: reference intervals, size-relevant correlations and comparisons to neritic loggerheads from western Atlantic coastal waters. Conserv. Physiol. 6, coy006. <https://doi.org/10.1093/conphys/coy006>
- Ultsch, G.R. (2013). Metabolic scaling in turtles. Comp. Biochem. Physiol. A 164, 590-597.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.01.012>
- Venancio, L.P.R., Silva, M.I.A., da Silva, T.L., Moschetta, V.A.G., de Campos Zuccari, D.A.P., Almeida, E.A. & Bonini-Domingos, C.R. (2013). Pollution-induced metabolic responses in hypoxia-tolerant freshwater turtles. Ecotoxicol. Environ. Saf. 97, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.06.035>
- Wang, T. & Jackson, D.C. (2016). How and why pH changes with body temperature: the α -stat hypothesis. J. Exp. Biol. 219, 1090-1092. <https://doi.org/10.1242/jeb.139220>
- Warren, D.E. & Jackson, D.C. (2008). Lactate metabolism in anoxic turtles: an integrative review. J. Comp. Physiol. B 178, 133-148. <https://doi.org/10.1007/s00360-007-0212-1>
- Williams, C.L. & Hicks, J.W. (2016). Continuous arterial PO₂ profiles in unrestrained, undisturbed aquatic turtles during routine behaviors. J. Exp. Biol. 219, 3616-3625. <https://doi.org/10.1242/jeb.141010>
- Zago, C.E.S., da Silva, T.L., da Silva, M.I.A., Venancio, L.P.R., Mendonça, P.P., Falleiros Junior, L.R., Vizotto, L.D., Taboga, S.R., Bonini-Domingos, C.R., de Azeredo-Oliveira, M.T.V. & de Oliveira, C. (2010). Morphological, morphometrical and ultrastructural characterization of *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) blood cells, in different environments. Micron 41, 1005-1010.
<https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.06.006>

Figure legends

Fig. 1 Spearman correlations between serum biochemical analytes and body size (MCL) in *Phrynosops geoffroanus*. Scatter plots show the nine analytes with statistically significant correlations ($p < 0.05$). Lines represent fitted regression curves with 95% confidence bands (ρ and p values are shown for each panel).

Fig. 2 Spearman correlations between serum biochemical analytes and body size (MCL) in *Phrynosops williamsi*. Scatter plots show the nine analytes with statistically significant correlations ($p < 0.05$). Lines represent fitted regression curves with 95% confidence bands (ρ and p values are shown for each panel).

Fig. 3 Spearman correlation matrix of serum biochemical parameters in *Phrynosops geoffroanus*. Color scale ranges from -1 (blue; strong negative correlation) to +1 (red; strong positive correlation); color intensity is proportional to the magnitude of the coefficient. Only statistically significant correlations ($p < 0.05$) are shown.

Fig. 4 Spearman correlation matrix of serum biochemical parameters in *Phrynosops williamsi*. Color scale ranges from -1 (blue; strong negative correlation) to +1 (red; strong positive correlation); color intensity is proportional to the magnitude of the coefficient. Only statistically significant correlations ($p < 0.05$) are shown.

Fig. 5 Spearman correlation matrix of blood gas and electrolyte parameters in *Phrynosops geoffroanus*. Color scale ranges from -1 (blue; strong negative correlation) to +1 (red; strong positive correlation); color intensity is proportional to the magnitude of the coefficient. Only statistically significant correlations ($p < 0.05$) are shown.

Fig. 6 Spearman correlation matrix of blood gas and electrolyte parameters in *Phrynosops williamsi*. Color scale ranges from -1 (blue; strong negative correlation) to +1 (red; strong positive correlation); color intensity is proportional to the magnitude of the coefficient. Only statistically significant correlations ($p < 0.05$) are shown.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A intensa deterioração antrópica observada na bacia do Rio Iguaçu, em contraste com a integridade ecológica resguardada pelo Parque Nacional do Iguaçu, consolida este cenário como um modelo ideal para estudos de ecotoxicologia e conservação. Diante do declínio global das populações de répteis, o uso de quelônios dulcícolas como bioindicadores mostra-se uma estratégia robusta, dada a sua capacidade de refletir bioacumulação e estresse ambiental a longo prazo.

Ao propor o estabelecimento de perfis bioquímicos e gasométricos para *Phrynops geoffroanus* e *Phrynops williamsi*, este estudo preenche uma lacuna crítica na literatura sobre a herpetofauna da Mata Atlântica. A comparação entre uma espécie generalista e uma especialista de corredeiras, esta última globalmente ameaçada, permitirá compreender não apenas as respostas fisiológicas individuais, mas também o nível de resiliência e vulnerabilidade desses animais frente às pressões exógenas. Em última análise, a determinação desta linha de base inédita fornecerá uma ferramenta diagnóstica essencial, subsidiando órgãos de gestão ambiental na elaboração de estratégias de manejo e conservação baseadas em evidências fisiológicas.

REFERÊNCIAS

- ADEL, M.; SARAVI, H. N.; DADAR, M.; NIYAZI, L.; LEY-QUINONEZ, C. P. Mercury, lead, and cadmium in tissues of the Caspian pond turtle (*Mauremys caspica*) from the southern basin of Caspian Sea. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 4, p. 3244–3250, 2017. DOI: 10.1007/s11356-015-5905-5.
- ALMOSNY, N. R. P. Patologia clínica em vertebrados ectotérmicos. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (org.). **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. cap. 84.
- ALMOSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. O. Patologia clínica. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (org.). **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. cap. 59, p. 939–966.
- ALTER, S. E.; TARIQ, L.; CREED, J. K.; MEGAFU, E. Evolutionary responses of marine organisms to urbanized seascapes. **Evolutionary Applications**, v. 14, n. 1, p. 210-232, 2021. DOI: 10.1111/eva.13048.
- AMARAL, M. J.; BICHO, R. C.; CARRETERO, M. A.; SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; FAUSTINO, A. M.; SOARES, A. M. V. M.; MANN, R. M. The use of a lacertid lizard as a model for reptile ecotoxicology studies: part 2 – biomarkers of exposure and toxicity among pesticide-exposed lizards. **Chemosphere**, v. 87, n. 7, p. 765–774, 2012. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.01.048.
- ARIENZO, M. Progress on the impact of persistent pollutants on marine turtles: a review. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 11, n. 2, 266, 2023. DOI: 10.3390/jmse11020266.
- ARP, H. P. H.; AURICH, D.; SCHYMANSKI, E. L.; SIMS, K.; HALE, S. E. Avoiding the next silent spring: our chemical past, present, and future. **Environmental Science & Technology**, v. 57, n. 16, p. 6355-6359, 2023. DOI: 10.1021/acs.est.3c01735.
- ASHRAF, M. K.; ULLAH, S.; BILAL, M.; MULTISANTI, C. R.; FAGGIO, C. Multi-biomarker assessment of essential and toxic element accumulation in *Labeo gonius* from Khushab Lake (Pakistan). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, p. 104814, 2025. DOI: 10.1016/j.etap.2025.104814
- BAGHMALEKI, M. K. Biodiversity Dynamics and Ecological Stressors in the Caspian Sea: Integrating Pollution, Climate Change, and Microbial Interactions. **Zenodo**, 2026. Disponível em: <https://atlas.winnowlabs.com/papers/2415>. Acesso em: 12 mai. 2026.
- BANNI, M.; BOURAOUI, Z.; CLERANDEAU, C.; NARBONNE, J. F.; BOUSSETTA, H. Mixture toxicity assessment of cadmium and benzo[a]pyrene in the sea worm *Hediste diversicolor*. **Chemosphere**, v. 77, p. 902-906, 2009. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.08.041.
- BAPTISTA, C. J.; SEIXAS, F.; GONZALO-ORDEN, J. M.; OLIVEIRA, P. A. Biomonitoring metals and metalloids in wild mammals: invasive versus non-invasive

sampling. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 13, p. 18398-18407, 2022. DOI: 10.1007/s11356-022-18658-5.

BARATA, C.; BAIRD, D. J.; NOGUEIRA, A. J. A.; SOARES, A. M. V. M.; RIVA, M. C. Toxicity of binary mixtures of metals and pyrethroid insecticides to *Daphnia magna* Straus: implications for multi-substance risk assessment. **Aquatic Toxicology**, v. 78, p. 1-14, 2006. DOI: 10.1016/j.aquatox.2006.01.013.

BARBOSA-MOYANO, H.; RODRÍGUEZ-CHAPARRO, S.; SANTOS, R. L. S. R.; RAMÍREZ-PINILLA, M. P. Plasma estradiol and progesterone concentrations during the female reproductive cycle in a highly placentotrophic viviparous lizard, *Mabuya* sp. **General and Comparative Endocrinology**, v. 295, art. 113530, 2020. DOI: 10.1016/j.ygcen.2020.113530.

BÁRCENAS-GARCÍA, A.; MICHALSKI, F.; MORGAN, W. H.; SMITH, R. K.; SUTHERLAND, W. J.; GIBBS, J. P.; NORRIS, D. Impacts of dams on freshwater turtles: a global review to identify conservation solutions. **Tropical Conservation Science**, v. 15, p. 1-21, 2022. DOI: 10.1177/19400829221103709.

BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C. S.; BAUMGARTNER, D.; BIFI, A. G.; DEBONA, T.; FRANA, V. A. **Peixes do baixo rio Iguaçu**. 1. ed. Maringá: EDUEM, 2012. v. 1. DOI: <https://doi.org/10.7476/9788576285861>.

BERG, K. J.; SCHEXNAYDER, M.; GRASPERGE, B. J.; DIAZ-FIGUEROA, O.; MITCHELL, M. A.; NEVAREZ, J. G. Single time point reference intervals for complete blood counts and select biochemistries in juvenile red-footed tortoises (*Chelonoidis carbonaria*). **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v. 31, n. 2, p. 124–131, 2021. DOI: 10.5818/JHMS-S-20-00006.

BÉRNILS, R. S.; MOURA-LEITE, J. C.; MORATO, S. A. A. Répteis. In: MIKICH, S. B.; BÉRNILS, R. S. (org.). **Livro vermelho da fauna ameaçada no estado do Paraná**. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, 2004. p. 501–535. Acesso em: 01 jun. 2026.

BORGES, Â. O.; ERICKSON, J.; SILVA, L. A. da; FANTINI, C.; DOMINGOS-MOREIRA, F. X. V. Mercury bioaccumulation, genotoxic and biochemical biomarkers reveal the health status of yellow-spotted Amazon River turtles (*Podocnemis unifilis*) in an environmental protection area in the Amazon. **Acta Amazonica**, v. 52, n. 3, p. 254–263, 2022. DOI: 10.1590/1809-4392202201230.

BOURAOUI, Z.; BANNI, M.; GHEDIRA, J.; CLERANDEAU, C.; NARBONNE, J. F.; BOUSSETTA, H. Evaluation of enzymatic biomarkers and lipoperoxidation level in *Hediste diversicolor* exposed to copper and benzo[a]pyrene. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 1893-1898, 2009. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2009.05.011.

BOWES, V. A.; JULIAN, R. J.; STIRTZINGER, T. Comparison of serum biochemical profiles of male broilers with female broilers and White Leghorn chickens. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 53, n. 1, p. 7–11, 1989. PMID: 2914228.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, DF: CONAMA, 2005. Disponível em: https://conama.mma.gov.br/?option=com_sisconama&task=arquivo.download&id=450. Acesso em: 6 jun. 2026.

BRASIL. **Decreto-Lei nº 1.035, de 10 de janeiro de 1939**. Cria o Parque Nacional do Iguaçu e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 10 jan. 1939. Seção 1, p. 867. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/declei/1930-1939/decreto-lei-1035-10-janeiro-1939-372797-publicacaooriginal-1-pe.html>. Acesso em: 6 jun. 2026.

BRASIL. Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000. Regulamenta o art. 225, § 1º, incisos I, II, III e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 jul. 2000. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9985.htm. Acesso em: 28 abr. 2026.

BRITES, V. L. C.; RANTIN, F. T. The influence of agricultural and urban contamination on leech infestation of freshwater turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha River. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 96, n. 1-3, p. 273-281, 2004. DOI: 10.1023/B:EMAS.0000031733.98410.3C.

BRYANT, G. L.; FLEMING, P. A.; TWOMEY, L.; WARREN, K. A. Factors affecting hematology and plasma biochemistry in the Southwest Carpet Python (*Morelia spilota imbricata*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48, n. 2, p. 282–294, 2012. DOI: 10.7589/0090-3558-48.2.282.

BURGER, J.; CAMPBELL, K. R.; CAMPBELL, T. S. Gender and spatial patterns in metal concentrations in brown anoles (*Anolis sagrei*) in southern Florida, USA. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 712–718, 2004. DOI: 10.1897/02-647.

BURGER, J.; JEITNER, C.; SCHNEIDER, L.; VOGT, R.; GOCHFELD, M. Arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury, and selenium levels in blood of four species of turtles from the Amazon in Brazil. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 73, n. 1, p. 33–40, 2010. DOI: 10.1080/15287390903248877.

CAMILO-COTRIM, C. F.; DE SOUZA ONDEI, L.; DE ALMEIDA, E. A.; TERESA, F. B. Fish biomarker responses reflect landscape anthropic disturbance in savanna streams. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 58, p. 87828-87843, 2022. DOI: 10.1007/s11356-022-21865-9.

CAMPBELL, T. W. Clinical chemistry of reptiles. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (ed.). **Veterinary hematology, clinical chemistry and cytology**. 3. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2022. p. 617–624.

CAMPBELL, T. W. Clinical pathology of reptiles. In: MADER, D. R. (ed.). **Reptile medicine and surgery**. 2. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006. p. 453-470.

CAMPBELL, T. W. Clinical pathology. In: MADER, D. R. (ed.). **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders, 1996. cap. 22, p. 248-257.

CAMPBELL, T. W. Clinical pathology. In: MADER, D. R.; DIVERS, S. J. **Current therapy in reptile medicine and surgery**. St. Louis: Elsevier, 2014. p. 70-92. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781455708932000089>. Acesso em: 6 jun. 2026.

CAMPBELL, T. W. Hematologia dos répteis. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2015. cap. 20, p. 239–251.

CAMPBELL, T. W.; GRANT, K. R. **Exotic animal hematology and cytology**. 5. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2022.

CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 16, n. 1, p. 71-120, 2013. DOI: 10.1016/j.cvex.2012.10.002.

CARDONE, A. Imidacloprid induces morphological and molecular damages on testis of lizard (*Podarcis sicula*). **Ecotoxicology**, v. 24, n. 1, p. 66–74, 2015. DOI: 10.1007/s10646-014-1361-0.

CARLSSON, G. Effect-based environmental monitoring for thyroid disruption in Swedish amphibian tadpoles. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 7, art. 454, 2019. DOI: 10.1007/s10661-019-7590-1.

CASTAÑO, G. V.; CABAGNA ZENKLUSEN, M.; PRIETO, Y.; MANZANO, A. S. Analysis of genotoxicity in erythrocytes of turtles (*Phrynops hilarii*) from anthropized and natural sites of Entre Ríos, Argentina. **Journal of Basic and Applied Genetics**, v. 31, n. 1, p. 15–22, 2020. DOI: 10.35407/bag.2020.31.01.02.

CAZENAVE, J.; BACCHETTA, C.; PARMA, M. J.; SCARABOTTI, P. A.; WUNDERLIN, D. A. Multiple biomarkers responses in *Prochilodus lineatus* allowed assessing changes in the water quality of Salado River Basin (Santa Fe, Argentina). **Environmental Pollution**, v. 157, p. 3025-3033, 2009. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.05.055.

CERÍACO, L. M.; MARQUES, M. P.; PARRINHA, D.; TIUTENKO, A.; WEINELL, J. L.; BUTLER, B. O.; BAUER, A. M. The *Trachylepis* (Squamata: Scincidae) of Angola: an integrative taxonomic review with the description of seven new species. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 2024, n. 465, p. 1-153, 2024. DOI: 10.1206/0003-0090.465.1.1.

CHAFFIN, K.; NORTON, T. M.; GILARDI, K.; POPPENG, R.; JENSEN, J. B.; MOLER, P.; CRAY, C.; DIERENFELD, E. S.; CHEN, T.; OLIVA, M.; ORIGGI, F. C.; GIBBS, S.; MAZZARO, L.; MAZET, J. K. Health assessment of free-ranging alligator snapping turtles (*Macrochelys temminckii*) in Georgia and Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 44, n. 3, p. 670-686, 2008. DOI: 10.7589/0090-3558-44.3.670.

CHANG, J.; LI, J.; WANG, H.; WANG, Y.; GUO, B.; YIN, J.; HAO, W.; LI, W.; LI, J.; XU, P. Tissue distribution, metabolism and hepatic tissue injury in Chinese lizards (*Eremias argus*) after a single oral administration of lambda-cyhalothrin. **Environmental Pollution**, v. 218, p. 965–972, 2016. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.08.045.

CHRISTOPHER, M. M.; BERRY, K. H.; WALLIS, I. R.; NAGY, K. A.; HENEN, B. T.; PETERSON, C. C. Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave Desert. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 35, n. 2, p. 212–238, 1999. DOI: 10.7589/0090-3558-35.2.212.

CORREDOR-SANTAMARÍA, W.; GÓMEZ, M. S.; VELASCO-SANTAMARÍA, Y. M. Using genotoxic and haematological biomarkers as evidence of environmental contamination in the Ocoa River native fish, Villavicencio-Meta, Colombia. **SpringerPlus**, v. 5, n. 1, p. 351, 2016. DOI: 10.1186/s40064-016-1753-0.

CRAY, C.; RODRIGUEZ, M.; ZAIAS, J.; ALTAIAN, N. H. Effects of storage temperature and time on clinical biochemical parameters from rat serum. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 48, n. 2, p. 202–204, 2009. PMCID: PMC2679668.

CRESPO-LÓPEZ, M. E.; MACÊDO, G. L.; ARRIFANO, G. P. F.; PINHEIRO, M. D. C. N.; DO NASCIMENTO, J. L. M.; HERCULANO, A. M. Genotoxicity of mercury: contributing for the analysis of Amazonian populations. **Environment International**, v. 37, p. 136-141, 2011. DOI: 10.1016/j.envint.2010.08.009.

DIVERS, S. J. **Reptilian renal and reproductive disease diagnosis**. In: FUDGE, A. M. (ed.). *Laboratory medicine: avian and exotic pets*. Philadelphia: W. B. Saunders, 2000. cap. 25, p. 217-222.

DUNCAN, W. P.; NUNES JÚNIOR, J.; MENDONÇA, W. C.; SANTA CRUZ, I. F.; SAMONEK, J. F.; MORAIS, E. J. et al. Physiological stress response in free-living Amazonian caimans following experimental capture. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, v. 337, n. 4, p. 282–292, 2022. DOI: 10.1002/jez.2565.

ECCLES, K. M.; BOUTET, V.; BRANIGAN, M.; DYCK, M.; VAN COEVERDEN DE GROOT, P.; LOUGHEED, S. C.; et al. Non-invasive biomonitoring of polar bear feces can be used to estimate concentrations of metals of concern in traditional food. **PLoS ONE**, v. 19, n. 6, e0305398, 2024. DOI: 10.1371/journal.pone.0305398.

EHSANI, A.; AFSHARI, A.; BAHADORI, H.; MOHRI, M.; SEIFI, H. A. Serum constituent analyses in dairy cows: effects of duration and temperature of the storage of clotted blood. **Research in Veterinary Science**, v. 84, n. 3, p. 473–475, 2008. DOI: 10.1016/j.rvsc.2008.02.004.

FERNANDEZ, N. J.; KIDNEY, B. A. Alkaline phosphatase: beyond the liver. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 3, p. 223-233, 2007. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2007.tb00216.x.

FERRETTI, F.; BARBAROSSA, A.; BARDHI, A. An overview of the impact of PFAS on animals, humans, and the environment using a One Health approach. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-29, 2026. DOI: 10.1007/s11356-026-37412-9.

FONSECA, C. F.; SILVA, I. J. S.; RODRIGUES, S. M.; SILVA, B. H. S.; SOARES, P. C.; MOURA, G. J. B.; OLIVEIRA, J. B. Evaluation of metal exposure through the composition of essential and toxic micro-minerals in freshwater turtles (*Phrynops geoffroanus*) from a Brazilian river. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 19, p. 54871-54884, 2023. DOI: 10.1007/s11356-023-26127-w.

FREITAS, L. M.; PARANAIBA, J. F. F. S.; PEREZ, A. P. S.; MACHADO, M. R. F.; LIMA, F. C. Toxicity of pesticides in lizards. **Human and Experimental Toxicology**, v. 39, n. 5, p. 596–604, 2020. DOI: 10.1177/096032711989998.

FROSSARD, A.; COPPO, G. C.; LOURENÇO, A. T.; HERINGER, O. A.; CHIPPARI-GOMES, A. R. Metal bioaccumulation and its genotoxic effects on eggs and hatchlings of giant Amazon river turtle (*Podocnemis expansa*). **Ecotoxicology**, v. 30, n. 4, p. 643–657, 2021. DOI: 10.1007/s10646-021-02384-8.

FROSSARD, A.; FERREIRA, P. D.; CARNEIRO, M. T. W. D.; HERINGER, O. A.; ENDRINGER, D. C.; GOMES, L. C. Effect of dietary cadmium on fitness, growth, genotoxicity and accumulation in the yellow-spotted river turtle, *Podocnemis unifilis*. **Aquatic Toxicology**, v. 140–141, p. 239–247, 2013. DOI: 10.1016/j.aquatox.2013.06.002.

GIBBONS, J. W.; SCOTT, D. E.; RYAN, T. J.; BUHLMANN, K. A.; TUBERVILLE, T. D.; METTS, B. S.; GREENE, J. L.; MILLS, T.; LEIDEN, Y.; POPPY, S.; WINNE, C. T. The Global Decline of Reptiles, Déjà Vu Amphibians: Reptile species are declining on a global scale. Six significant threats to reptile populations are habitat loss and degradation, introduced invasive species, environmental pollution, disease, unsustainable use, and global climate change. **BioScience**, v. 50, n. 8, p. 653-666, 2000. DOI: 10.1641/0006-3568(2000)050[0653:TGDORD]2.0.CO;2

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2006. 364 p.

GUIMARÃES, A. Aquatic reptiles as model organisms to evaluate environmental pollution and biomonitoring. In: **Aquatic ecotoxicology of legacy pollutants and emerging contaminants in animals and plants**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2025. p. 367–377. DOI: 10.1007/978_2024_1183.

HARVEY, J. W. Iron metabolism and its disorders. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. Burlington: Academic Press, 2008. p. 259-286. DOI: 10.1016/B978-0-12-370491-7.X0001-3.

HAYDEN BOFILL, S. I.; BLOM, M. PK. Climate change from an ectotherm perspective: evolutionary consequences and demographic change in amphibian and reptilian populations. **Biodiversity and Conservation**, v. 33, n. 3, p. 905-927, 2024. DOI: 10.1007/s10531-023-02772-y.

HERNANDEZ-DIVERS, S. J.; KNOTT, C. D.; MACDONALD, J. Diagnosis and surgical treatment of thyroid adenoma-induced hyperthyroidism in a green iguana (*Iguana iguana*). **Journal of zoo and wildlife medicine**, v. 32, n. 4, p. 465-475, 2001. DOI: 10.1638/1042-7260(2001)032[0465:DASTOT]2.0.CO;2.

HOSSAIN, M. S.; LIMA, M. A.; JAMEE, M. F.; JAHAN, T.; DITTHAKIT, P.; RAHMAN, M. S.; HRIDOY, M. A. A. M. Assessing the genotoxic effects of emerging organic contaminants in water systems: current trends and future directions. **Scientifica**, v. 2026, n. 1, art. 5677364, 2026. DOI: 10.1155/sci5/5677364.

HUEZA, I. M.; SANT'ANA, M. G.; PALERMO-NETO, J. Toxicologia do chumbo, mercúrio, arsênio e outros metais. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; PALERMO-NETO, J. (org.). **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Manole, 2008. p. 641–662.

HUMPHRIES, M.; BENITEZ-NELSON, N.; COMBRINK, X. Trace metal accumulation in eggs of wild Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) from Lake St Lucia, South Africa: implications for biomonitoring in a global biodiversity hotspot. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 83, n. 3, p. 214-225, 2022. DOI: 10.1007/s00244-022-00960-5.

INNIS, C.; KNOTEK, Z. Tortoises and freshwater turtles. In: HEATLEY, J. J.; RUSSELL, K. E. (ed.). **Exotic animal laboratory diagnosis**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2020. p. 255–290. DOI: 10.1002/9781119108610.ch16.

INSTITUTO ÁGUA E TERRA. **Qualidade das águas da Bacia do Iguaçu: baixo, médio, alto Iguaçu e Ribeira, 2016-2023**. Curitiba: IAT, 2023. Disponível em: <https://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Monitoramento-da-Qualidade-das-Aguas>. Acesso em: 8 abr. 2026.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção: volume IV – répteis**. Brasília: ICMBio, 2018. 252 p.

KELLY, T. R.; MCNEIL, J. B.; AVENS, L.; HALL, A. G.; GOCHE, L. R.; HOHN, A. A.; GODFREY, M. H.; MIHNOVETS, A. N.; CLUSE, W. M.; HARMS, C. A. Clinical pathology reference intervals for an in-water population of juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in Core Sound, North Carolina. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 3, e0115739, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0115739.

KNASMÜLLER, S.; FENECH, M. **The micronucleus assay in toxicology**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, n. 39, 2019.

KUNZ, T. S.; GHIZONI-JR., I. R.; CHEREM, J. J.; BRESSAN, R. F.; LEONARDI, S. B.; ZANOTELLI, J. C. New records, threats and conservation of *Phrynops williamsi* (Testudines: Chelidae) in Southern Brazil. **Herpetology Notes**, v. 11, p. 147-152, 2018.

KURNAZ, M. Physiological responses and adaptive mechanisms of amphibians and reptiles to multiple interacting environmental stressors: an integrative review. **Frontiers in Physiology**, v. 17, p. 1785483, 2026. DOI: 10.3389/fphys.2026.1785483.

LEHUN, A. L.; DUARTE, G. S. C.; TAKEMOTO, R. M. Nematodes as indicators of environmental changes in a river with different levels of anthropogenic impact. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 95, n. 4, e20200307, 2023. DOI: 10.1590/0001-3765202320200307.

LEHUN, A. L.; MENDES, A. B.; TAKEMOTO, R. M.; BUENO KRAWCZYK, A. C. D. Genotoxic effects of urban pollution in the Iguaçu River on two fish populations. **Journal of Environmental Science and Health Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 56, n. 9, p. 984-991, 2021. DOI: 10.1080/10934529.2021.1956229.

LIND, C. M.; AGUGLIARO, J.; ORTEGA, J.; PALMISANO, J. N.; LORCH, J. M.; TRUONG, T. B.; FARRELL, T. M. Glucocorticoid and glycemic responses to immune challenge in a viviparous snake afflicted with an emerging mycosis. **Journal of Experimental Biology**, v. 227, n. 22, p. jeb247962, 2024. DOI: 10.1242/jeb.247962.

LOUTH, B. J.; HEATLEY, J. J.; RUSSELL, K. E. Determination of blood biochemistry reference intervals in eastern collared lizards (*Crotaphytus collaris*). **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v. 34, n. 1, p. 22–31, 2024. DOI: 10.5818/JHMS-D-21-00035.

LUMEIJ, J. T.; OVERDUIN, L. M. Avian plasma chemistry reference values in Psittaciformes. **Avian Pathology**, v. 19, p. 235-244, 1990. DOI: 10.1080/03079459008418676.

MADHUMATHI, R.; MOHANDOSS, R. Analysis of preanalytical variable: stability of common biochemical analytes under different storage conditions and temperatures. **Journal of Health and Technology**, p. 137–144, 2025. DOI: 10.65129/health.v1i3.44.

MAMMIDES, C. A global analysis of the drivers of human pressure within protected areas at the national level. **Sustainability Science**, v. 15, n. 4, p. 1223-1232, 2020. DOI: 10.1007/s11625-020-00809-7.

MAPBIOMAS PROJECT. **Collection 9 of the annual land cover and land use maps of Brazil (1985-2023)**. MapBiomass Data, v. 1, 2024. DOI: 10.58053/MapBiomass/XXUKA8. Disponível em: <https://tinyurl.com/yqf86qgf>. Acesso em: 5 mai. 2026.

MARAMBIO-ALFARO, Y.; VALDÉS SAAVEDRA, J.; NACARI ENCISO, L.; LÓPEZ MARRAS, A.; SERRANO, A. E.; MARTÍNEZ PELÁEZ, R.; CASTILLO BRUNA, A.; ÁLVAREZ AVALOS, G.; VIDAL MALDONADO, M. *Microlophus atacamensis* as a biomonitor of coastal contamination in the Atacama Desert, Chile: an evaluation through a non-lethal technique. **Environmental Pollution**, v. 269, p. 115739, 2021. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115739.

MARQUES, G. N.; GUERRA, J. S.; LEAL, M. O.; NEVES, J. Hematological and blood chemistry profiles of the Mediterranean pond turtle (*Mauremys leprosa*) in a Portuguese wildlife rehabilitation center. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 12, p. 1504336, 2025. DOI: 10.3389/fvets.2025.1504336.

MINGO, V.; LÖTTTERS, S.; WAGNER, N. The use of buccal swabs as a minimally invasive method for detecting effects of pesticide exposure on enzymatic activity in common wall lizards. **Environmental Pollution**, v. 220, p. 1370–1377, 2017. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.09.022.

MITKOVSKA, V.; CHASSOVNIKAROVA, T. Chlorpyrifos levels within permitted limits induce nuclear abnormalities and DNA damage in the erythrocytes of the common carp. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 7, p. 7166–7176, 2020. DOI: 10.1007/s11356-019-07408-9.

MORAIS, T. P.; BARRETO, L. S.; SOUZA, T. L.; POZZAN, R.; VARGAS, D. Á. R.; YAMAMOTO, F. Y.; PRODOCIMO, M. M.; NETO, F. F.; RANDI, M. A. F.; RIBEIRO, C. A. de O. Assessing the pollution and ecotoxicological status of the Iguazu River, southern Brazil: a review. **Integrated Environmental Assessment and Management**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 1280–1305, 2024. DOI: 10.1002/ieam.4865.

MOREL, M.; GUMPENBERGER, M.; KEMPF, H.; GREEN, S.; NEDERLOF, R. A.; BAKKER, J. Biochemical and hepatic determinants of reproductive failure in reptiles: a review of dystocia pathophysiology and management. **Veterinary Sciences**, v. 13, n. 1, p. 30, 2025. DOI: 10.3390/vetsci13010030.

NASRI, I.; HAMMOUDA, A.; HAMZA, F.; ZRIG, A.; SELMI, S. Heavy metal accumulation in lizards living near a phosphate treatment plant: possible transfer of contaminants from aquatic to terrestrial food webs. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 13, p. 12009–12014, 2017. DOI: 10.1007/s11356-015-5390-x.

NIETO-CLAUDÍN, A.; PALMER, J. L.; BRENN-WHITE, M.; ESPERÓN, F.; DEEM, S. L. Haematology and plasma biochemistry reference intervals of Española, San Cristóbal and Eastern Santa Cruz Galapagos tortoise species. **Conservation Physiology**, v. 12, n. 1, p. coae055, 2024. DOI: 10.1093/conphys/coae055.

ODETTI, L. M.; PARAVANI, E. V.; SIMONIELLO, M. F.; POLETTA, G. L. Micronucleus test in reptiles: current and future perspectives. **Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 897, art. 503772, 2024. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2024.503772.

ONOJA, A. O.; UGBOJO-IDE, J. O.; UTENWOJO, K. J.; UGWU, G. N.; ABARA, P. N.; NWANI, C. D. Impact of metal bioaccumulation on cytogenotoxic, haemato-biochemical and histopathological parameters of toads and lizards collected from a North-central University community, Nigeria. **Environmental Pollution and Management**, v. 2, p. 122–132, 2025. DOI: 10.1016/j.epm.2025.04.001.

PARANÁ. Conselho Estadual de Recursos Hídricos. **Resolução nº 49 CERH/PR, de 20 de dezembro de 2006**. Dispõe sobre a instituição de Regiões Hidrográficas, Bacias Hidrográficas e Unidades Hidrográficas de Gerenciamento de Recursos Hídricos do Estado do Paraná. Curitiba: CERH/PR, 2006. Disponível em: https://www.sedest.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/migrados/File/r492006.pdf. Acesso em: 25 mai. 2026.

PARKER, A. L. **Factors affecting reproductive success and health in aquatic vertebrates: the role of environmental contaminants and maternal identity**. 2023. Tese (Doutorado) – Monash University, Melbourne, 2023.

POLETTA, G. L.; LARRIERA, A.; KLEINSORGE, E.; MUDRY, M. D. *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman) as a sentinel organism for genotoxic monitoring: basal values determination of micronucleus and comet assay. **Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 650, p. 202-209, 2008. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2007.12.001.

POLETTA, G. L.; SIROSKI, P. A.; AMAVET, P. S.; ORTEGA, H. H.; MUDRY, M. D. Reptiles as animal models: examples of their utility in genetics, immunology and toxicology. In: LUTTERSCHMIDT, W. I. (ed.). **Reptiles in Research: investigations of ecology, physiology and behavior from desert to sea**. New York: Nova Science Publishers, 2013. p. 1–39.

PULCHERIO, R. S. L.; ROCHA, M. N. A.; BARROS, R. D.; BRITO, E. S.; SANTOS, D. P.; MENDONÇA, A. J. et al. The influence of season, environment, sex, and body mass on biochemical profile of the freshwater turtle *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 74, n. 5, p. 841–852, 2022. DOI: 10.1590/1678-4162-12726.

RAZA, M. Q.; ZAIB-UN-NISA; ASHRAF, K.; RASHID, U.; LIAQAT, N.; SALEEM, N.; SHAKOOR, T.; FAREED, M. U.; BATOOL, Z.; SAJJAD, Z. Testudines as bio-indicators of water pollution. In: ABBAS, R. Z.; AKHTAR, T.; ARSHAD, J. (ed.). **One Health in a Changing World: climate, disease, policy, and innovation**. Faisalabad: Unique Scientific Publishers, 2025. p. 138–142. DOI: 10.47278/book.HH/2025.456.

REGOLIN, A. L.; BRESSAN, R.; KUNZ, T. S.; MARTELLO, F.; GHIZONI-JR., I. R.; CHEREM, J. J.; CAPELA, D. J. V.; OLIVEIRA-SANTOS, L. G. R.; COLLEVATTI, R. G.; SOBRAL-SOUZA, T. Integrating ecological niche and hydrological connectivity models to assess the impacts of hydropower plants on an endemic and imperilled freshwater turtle. **Journal of Applied Ecology**, v. 60, n. 8, p. 1734-1748, 2023. DOI: 10.1111/1365-2664.14436.

RHODIN, A. G. J.; BRESSAN, R. F.; BUSKIRK, J. R.; CABRERA, M. R.; CARREIRA, S.; ESTRADES, A.; MITTERMEIER, R. A.; VINKE, S.; VINKE, T. *Phrynops williamsi*. In: **The IUCN Red List of Threatened Species**. Gland: International Union for Conservation of Nature, 2018. e.T172024A1339018. DOI: 10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T172024A1339018.en.

RHODIN, A. G. J.; IVERSON, J. B.; BOUR, R.; FRITZ, U.; GEORGES, A.; SHAFFER, H. B.; VAN DIJK, P. P. **Turtles of the world: annotated checklist and atlas of taxonomy, synonymy, distribution, and conservation status**. 8. ed. Lunenburg: Chelonian Research Foundation, 2017. (**Chelonian Research Monographs**, n. 7). p. 1–292. DOI: 10.3854/crm.7.checklist.atlas.v8.2017.

RIBEIRO, L. E. de S.; UTTA, A. C. da S.; BARRETO, L. Diet of *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (Chelidae) in an environmental protection area in the Amazon region of Maranhão State, Brazil. **Herpetological Conservation and Biology**, v. 12, n. 2, p. 556–564,

2017. Disponível em:

https://www.herpconbio.org/Volume_12/Issue_2/Ribeiro_etal_2017.pdf. Acesso em: 30 mai. 2026.

RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. 1384 p.

ROE, J. H.; GEORGES, A. Heterogeneous wetland complexes, buffer zones, and travel corridors: landscape management for freshwater reptiles. **Biological Conservation**, v. 135, n. 1, p. 67-76, 2007. DOI: 10.1016/j.biocon.2006.09.019.

ROSOL, T. J.; CAPEN, C. C. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. London: Academic Press, 1997. p. 619-702. DOI: 10.1016/B978-012396305-5/50024-5.

ROXO, F. F.; DIAS, A. C.; SILVA, G. S. C.; OLIVEIRA, C. Two new species of *Curculionichthys* (Siluriformes: Loricariidae) from the rio Amazonas basin, Brazil. **Zootaxa**, v. 4341, n. 2, p. 258–270, 2017. DOI: 10.11646/zootaxa.4341.2.5.

RUBIO-VARGAS, D. A.; MORAIS, T. P. de; RANDI, M. A. F.; FILIPAK NETO, F.; ORTOLANI-MACHADO, C. F.; MARTINS, C. de C.; OLIVEIRA, A. P.; NAZÁRIO, M. G.; FERREIRA, F. C. A. da S.; OPUSKEVITCH, I.; PENNER, D.; ESQUIVEL-MUELBERT, J.; MELA PRODOCIMO, M.; DE SOUZA, C.; CHOUERI, R. B.; DE OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Multispecies and multibiomarker assessment of fish health from Iguaçu River reservoir, Southern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 196, n. 6, 2024. DOI: 10.1007/s10661-024-12720-0.

SALICE, C. J.; EAST, A.; WEIBLE, C.; FURST, C. D.; REWERTS, J.; HERON, C.; FIELD, J. Effects of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on a novel reptilian toxicity test species, the brown anole (*Anolis sagrei*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 44, n. 4, p. 1080-1090, 2025. DOI: 10.1093/etojnl/vgaf038.

SALVADOR, R. M. V.; PIM, F.; NALINI JÚNIOR, H. A.; ABREU, A. T. de; PIMENTEL, E. F.; CERQUEIRA, L. O. de; FERREIRA JUNIOR, P. D.; ENDRINGER, D. C. *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) as a bioindicator of heavy metal (aluminum and zinc) pollution in Vila Velha, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 2, p. 1210-1219, 2018. DOI: 10.1007/s11356-017-0427-y.

SANTALUCIA, K. **Exploring concentrations, exposure routes, and trophic transfer of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in wood turtles (*Glyptemys insculpta*) in an impacted area of Maine**. (2025). Electronic Theses and Dissertations. 4183. Disponível em: <https://digitalcommons.library.umaine.edu/etd/4183>.

SANTOS, M. J. J.; LARANJA, R. E. P. Influence of agriculture on surface water quality in three lentic environments in a conservation unit of Brazil. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 21, n. 4, p. 4295-4306, 2024. DOI: 10.1007/s13762-023-05296-8.

SANTOS, R. L. dos; SOUSA CORREIA, J. M. de; SANTOS, E. M. dos. 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, v. 193, n. 8, art. 498, 2021. DOI: 10.1007/s10661-021-09295-5.

SANTOS, R. L.; CORREIA, J. M. S.; PAIM, A. P. S.; OLIVEIRA, L. L. S. S.; DINIZ, G. T. N.; SANTOS, E. M. Metallic elements in aquatic herpetofauna (Crocodylia; Testudines) from a lentic Atlantic rainforest environment in northeastern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 193, n. 5, p. 1-10, 2021. DOI: 10.1007/s10661-021-09076-0.

SARGSYAN, A.; SIMONYAN, A.; HOVHANNISYAN, G.; ARAKELYAN, M.; AROUTIOUNIAN, R. Application of the comet assay, micronucleus test and global DNA methylation analysis in *Darevskia* lizards as a sentinel organism for genotoxic monitoring of soil pollution. **Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 842, p. 117–124, 2019. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2018.10.005.

SCHAUMBURG, L. G.; POLETTA, G. L.; SIROSKI, P. A.; MUDRY, M. D. Baseline values of micronuclei and comet assay in the lizard *Tupinambis merianae* (Teiidae, Squamata). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 84, p. 99-103, 2012. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.06.023.

SILVA, J. F. M.; OBESO, M. P.; MAKRAKIS, M. C.; MAKRAKIS, S. Environmental analysis of land use and occupation in nine watersheds contributing to the Iguaçu River, Brazil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, e66111334868, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i13.34868.

SILVA, J. M.; NAVONI, J. A.; AMARAL, S. V.; FREIRE, E. M. X. Cytogenetic analysis of nuclear abnormalities in the erythrocytes of gecko lizards (*Phyllopezus periosus*) collected in a semi-arid region of northeast Brazil: possible effects of natural background radioactivity. **Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 865, p. 503346, 2021. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2021.503346.

SILVA, J. M.; NAVONI, J. A.; FREIRE, E. M. X. Lizards as model organisms to evaluate environmental contamination and biomonitoring. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 7, p. 454, 2020. DOI: 10.1007/s10661-020-08410-7.

SILVESTRE, A. M. **Enfermedades de los reptiles**. Barcelona: Reptilia Ediciones, 2005. p. 210.

SIMONYAN, A.; HOVHANNISYAN, G.; SARGSYAN, A.; ARAKELYAN, M.; MINASYAN, S.; AROUTIOUNIAN, R. DNA damage and micronuclei in parthenogenetic and bisexual *Darevskia* rock lizards from the areas with different levels of soil pollution. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 154, p. 13–18, 2018. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.02.025.

SINGH, M.; PANDYA, R.; CHANDRA, S.; SHARMA, S. K. Stability of clinical chemistry and hematological analytes in preserved plasma and blood obtained from Wistar rats. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science**, v. 41, p. 1–6, 2015. DOI: 10.23675/sjlas.v41i0.329.

SOBRINO-YACOBI, J.; FUERTES-RECUERO, M.; DE LA RIVA-FRAGA, M.; ENCINAS CEREZO, T.; MONTESINOS BARCELÓ, A.; CAMINA VEGA, Á.; MORÓN-ELORZA, P. Hematology and plasma biochemistry reference values of the subgenus *Hapturosaurus* (*Varanus macraei*, *Varanus prasinus* and *Varanus beccarii*) under human care. **Veterinary Sciences**, v. 12, n. 5, p. 454, 2025. DOI: 10.3390/vetsci12050454.

SOUZA, F. L.; ABE, A. S. Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. **Journal of Zoology**, v. 252, n. 4, p. 437–446, 2000. DOI: 10.1111/j.1469-7998.2000.tb01226.x.

SPIER, E. F.; FAVRETTO, M. A.; ONGHERO JUNIOR, O.; PIOVEZAN, J. C. Registro de *Phrynops williamsi* no Rio Chapecó, oeste de Santa Catarina, Brasil. **Evidência**, v. 11, n. 1, p. 83-87, 2011.

SPIER, E. F.; FAVRETTO, M. A.; PIOVEZAN, J. C.; ONGHERO JUNIOR, O.; AMMAR, D. Registro de *Phrynops williamsi* (Rhodin & Mittermeier, 1983) no Rio do Peixe, centro-oeste de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 12, n. 1, p. 56-57, 2014.

STACY, N. I.; ALLEMAN, A. R.; SAYLER, K. A. Diagnostic hematology of reptiles. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 31, n. 1, p. 87-108, 2011. DOI: 10.1016/j.cll.2010.10.006.

STARK, A. A. P.; BONFADA, C. O.; ZANI, G. S. da; PAULA, L. S. de; TELES, M. A.; VARELA JUNIOR, A. S.; CORCINI, C. D.; FRANÇA, R. T. Metais pesados e sua relação com o estresse oxidativo em répteis. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, e27511326571, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i3.26571.

THORNTON, A. M.; FAWCETT, T. G.; RUTLEDGE, A. K.; SCHUETT, G. W.; SWIFT, J. A. Uric acid monohydrate nanocrystals: an adaptable platform for nitrogen and salt management in reptiles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 147, n. 44, p. 40236-40243, 2025. DOI: 10.1021/jacs.5c10139.

TRD – THE REPTILE DATABASE. *Phrynops williamsi*. 2022. Disponível em: <http://www.reptile-database.org>. Acesso em: 07 mai. 2026.

TROIANO, J. C. **Doenças dos répteis**. São Paulo: MedVet, 2018. 284 p. ISBN 978-85-62451-51-5.

VALLE, S. F.; ALLGAYER, M. C.; PEREIRA, R. A.; BARCELLOS, L. J. G.; HLAVAC, N. R. C.; FRANÇA, R. T.; LOCATELLI, M. L. Parâmetros de bioquímica sérica de machos, fêmeas e filhotes de araras-canindé (*Ara ararauna*) saudáveis mantidas em cativeiro comercial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 711-716, 2008. DOI: 10.1590/S0103-84782008000300018.

VENANCIO, L. P. R.; SILVA, M. I. A.; SILVA, T. L.; MOSCHETTA, V. A. G.; CAMPOS ZUCCARI, D. A. P.; ALMEIDA, E. A.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Pollution-induced metabolic responses in hypoxia-tolerant freshwater turtles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 97, p. 1-9, 2013. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2013.06.035.

VOGT, R.; BATAUS, Y. S. L.; RODRIGUES, J.; UHLIG, V. M.; BALESTRA, R. A. M.; BARRETO, L. N.; BRESSAN, R. F.; BRITO, E. S.; CARVALHO, V. T.; FALCON, G. B.; FERRARA, C. R.; MARQUES, T. S.; MATIAS, F.; SOUZA, F. L.; TINOCO, M. S.; VALADÃO, R. M. *Phrynops geoffroanus*. In: **Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), 2023. DOI: 10.37002/salve.ficha.20831. Disponível em: <https://salve.icmbio.gov.br>. Acesso em: 13 mai. 2026.

WINGS, O. A review of gastrolith function with implications for fossil vertebrates and a revised classification. **Acta Palaeontologica Polonica**, v. 52, p. 1–16, 2007.

XU, Q.; FANG, S.; WANG, Z.; WANG, Z. Heavy metal distribution in tissues and eggs of Chinese alligator (*Alligator sinensis*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 50, n. 4, p. 580–586, 2006. DOI: 10.1007/s00244-005-1018-3.

YAMAMOTO, F. Y.; DIAMANTE, G. D.; SANTANA, M. S.; SANTOS, D. R.; BOMBARDELI, R.; MARTINS, C. C.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; SCHLENK, D. Alterations of cytochrome P450 and the occurrence of persistent organic pollutants in tilapia caged in the reservoirs of the Iguaçu River. **Environmental Pollution**, v. 240, p. 670–682, 2018. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.04.019.

YAMAMOTO, F. Y.; PEREIRA, M. V. M.; LOTTERMANN, E.; SANTOS, G. S.; STREMEL, T. R. O.; DORIA, H. B.; GUSO-CHOUERI, P.; CAMPOS, S. X.; ORTOLANI-MACHADO, C. F.; CESTARI, M. M.; NETO, F. F.; AZEVEDO, J. C. R.; RIBEIRO, C. A. O. Bioavailability of pollutants sets risk of exposure to biota and human population in reservoirs from Iguaçu River (Southern Brazil). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 18, p. 18111-18128, 2016. DOI: 10.1007/s11356-016-6924-6.

ZAIAS, J.; NORTON, T.; FICKEL, A.; SPRATT, J.; ALTMAN, N. H.; CRAY, C. Biochemical and hematologic values for 18 clinically healthy radiated tortoises (*Geochelone radiata*) on St Catherine's Island, Georgia. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 35, n. 3, p. 321-325, 2006. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2006.tb00139.x.

ZAPATA, L. M.; BOCK, B. C.; OROZCO, L. Y.; PALACIO, J. A. Application of the micronucleus test and comet assay in *Trachemys callirostris* erythrocytes as a model for in situ genotoxic monitoring. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 127, p. 108–116, 2016. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.01.016.

ZHOU, J.; FABROS, A.; LAM, S. J.; CORO, A.; SELVARATNAM, R.; BRINC, D.; DI MEO, A. The stability of 65 biochemistry analytes in plasma, serum, and whole blood. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 62, n. 8, p. 1557–1569, 2024. DOI:10.1515/cclm-2023-1192.



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: 98471-1	Data da Emissão: 14/04/2025 18:46:35	Validade*: 14/04/2026
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: Patrick Luiz Bola Gonsales	CPF: 097.644.419-47
Título do Projeto: SAÚDE ÚNICA: SANIDADE DAS POPULAÇÕES DE PHRYNOPS GEOFFROANUS E PHRYNOPS WILLIAMSII NO RIO FLORIANO EM COMPARAÇÃO ÀS POPULAÇÕES EXPOSTAS A IMPACTOS ANTRÓPICOS NO RIO IGUAÇU, PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS	CNPJ: 11.234.780/0001-50

Registro de coleta imprevista de material biológico

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: 0984710120250414

Página 6/6



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: 98471-1	Data da Emissão: 14/04/2025 18:46:35	Validade*: 14/04/2026
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: Patrick Luiz Bola Gonsales	CPF: 097.644.419-47
Título do Projeto: SAÚDE ÚNICA: SANIDADE DAS POPULAÇÕES DE PHRYNOPS GEOFFROANUS E PHRYNOPS WILLIAMSI NO RIO FLORIANO EM COMPARAÇÃO ÀS POPULAÇÕES EXPOSTAS A IMPACTOS ANTRÓPICOS NO RIO IGUAÇU, PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS	CNPJ: 11.234.780/0001-50

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Delineamento do estudo, reconhecimento de campo, coleta de dados, análise de dados e redação.	03/2025	03/2030

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Paulo Henrique Braz	Pesquisador	022.712.201-14	Brasileira
2	Rafael Martins Valadao	Pesquisador	050.946.066-62	Brasileira
3	ADEMAR FRANCISCO FAGUNDES MEZNEROVICZ	Pesquisador	083.244.219-47	Brasileira
4	Carlos Eduardo Vargas Grou	Pesquisador	083.603.199-79	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: 0984710120250414

Página 1/6



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: 98471-1	Data da Emissão: 14/04/2025 18:46:35	Validade*: 14/04/2026
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: Patrick Luiz Bola Gonsales	CPF: 097.644.419-47
Título do Projeto: SAÚDE ÚNICA: SANIDADE DAS POPULAÇÕES DE PHRYNOPS GEOFFROANUS E PHRYNOPS WILLIAMSII NO RIO FLORIANO EM COMPARAÇÃO ÀS POPULAÇÕES EXPOSTAS A IMPACTOS ANTRÓPICOS NO RIO IGUAÇU, PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS	CNPJ: 11.234.780/0001-50

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro 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, posseiro 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 N°748/2022, 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: 0984710120250414

Página 2/6



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: 98471-1	Data da Emissão: 14/04/2025 18:46:35	Validade*: 14/04/2026
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: Patrick Luiz Bola Gonsales	CPF: 097.644.419-47
Título do Projeto: SAÚDE ÚNICA: SANIDADE DAS POPULAÇÕES DE PHRYNOPS GEOFFROANUS E PHRYNOPS WILLIAMSII NO RIO FLORIANO EM COMPARAÇÃO ÀS POPULAÇÕES EXPOSTAS A IMPACTOS ANTRÓPICOS NO RIO IGUAÇU, PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS	CNPJ: 11.234.780/0001-50

Outras ressalvas

1	GR5 Sul
2	RAN Goiânia-GO

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Parque Nacional do Iguaçu		Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal
2	bacia do rio Iguaçu	Serranópolis do Iguaçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
3	bacia do rio Iguaçu	Matelândia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
4	bacia do rio Iguaçu	Foz do Iguaçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
5	bacia do rio Iguaçu	Céu Azul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
6	bacia do rio Iguaçu	Capanema-PR	Mata Atlântica	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	Levantamento de dados abióticos em UC federal	Dentro de UC Federal
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Dentro de UC Federal
4	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
5	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
6	Captura de animais silvestres in situ	Dentro de UC Federal
7	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Dentro de UC Federal
8	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
9	Marcação de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
10	Marcação de animais silvestres in situ	Dentro de UC Federal
11	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Dentro de UC Federal

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: 0984710120250414

Página 3/6



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: 98471-1	Data da Emissão: 14/04/2025 18:46:35	Validade*: 14/04/2026
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: Patrick Luiz Bola Gonsales	CPF: 097.644.419-47
Título do Projeto: SAÚDE ÚNICA: SANIDADE DAS POPULAÇÕES DE PHRYNOPS GEOFFROANUS E PHRYNOPS WILLIAMSI NO RIO FLORIANO EM COMPARAÇÃO ÀS POPULAÇÕES EXPOSTAS A IMPACTOS ANTRÓPICOS NO RIO IGUAÇU, PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS	CNPJ: 11.234.780/0001-50

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Phrynops williamsi	-
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Phrynops williamsi	-
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Phrynops williamsi	60
4	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Phrynops williamsi	-
5	Marcação de animais silvestres in situ	Phrynops williamsi	-
6	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Phrynops williamsi	-
7	Captura de animais silvestres in situ	Phrynops geoffroanus	-
8	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Phrynops geoffroanus	-
9	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Phrynops geoffroanus	60
10	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Phrynops geoffroanus	-
11	Marcação de animais silvestres in situ	Phrynops geoffroanus	-
12	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Phrynops geoffroanus	-

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, Ectoparasita, Fragmento de tecido/órgão, Sangue, Secreção
2	Método de captura/coleta (Répteis)	Funil trap
3	Método de marcação (Répteis)	Corte de escudos marginais
4	Método de observação e registro (Répteis)	Foto-identificação

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: 0984710120250414

Página 4/6



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: 98471-1	Data da Emissão: 14/04/2025 18:46:35	Validade*: 14/04/2026
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: Patrick Luiz Bola Gonsales	CPF: 097.644.419-47
Título do Projeto: SAÚDE ÚNICA: SANIDADE DAS POPULAÇÕES DE PHRYNOPS GEOFFROANUS E PHRYNOPS WILLIAMSI NO RIO FLORIANO EM COMPARAÇÃO ÀS POPULAÇÕES EXPOSTAS A IMPACTOS ANTRÓPICOS NO RIO IGUAÇU, PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS	CNPJ: 11.234.780/0001-50

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS	Laboratório
2	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade	Laboratório
3	Instituto Federal Farroupilha	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: 0984710120250414

Página 5/6

ANEXO B – DECLARAÇÃO DE COLABORAÇÃO E RECEBIMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

02071.000040/2022-67
Número SEI:021293230



**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE E MUDANÇA DO CLIMA
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE RÉPTEIS E ANFÍBIOS - RAN**

Rua 2,49, Edif. Walter Bittar, 2º Andar, - Bairro Setor Central - Goiânia - CEP 74013-020

Telefone: (61)2028-8880/(61)2028-8708

DECLARAÇÃO

Goiânia, na data da assinatura eletrônica.

Declaração de colaboração entre o ICMBio/RAN e o Prof. Dr. Paulo Henrique Braz em ações relacionadas à conservação de quelônios.

Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios (ICMBio/RAN) certifica que o Professor Dr. Paulo Henrique Braz, C.P.F: 022.712.201-14, é parceiro do RAN na implementação dos Planos de Ação para a Conservação da Herpetofauna do Sul e Plano de Ação para a Conservação da Herpetofauna do Sudeste.

Sempre que possível, o professor acompanha as expedições em campo e faz análises relacionadas à medicina da conservação para subsidiar ações de manejo e conservação das espécies alvo. Além disso, recebe material biológico (sangue, esfregaços, fezes, secreções, etc.) para análises parasitárias e ecofisiológicas.

O ICMBio já elaborou 96 Planos de Ação para Espécies Ameaçadas de Extinção – PAN, trata-se de um instrumento de gestão e de políticas públicas, construído de forma participativa, a ser utilizado para o ordenamento e a priorização de ações para a conservação de espécies e ambientes naturais, com um objetivo estabelecido em um horizonte temporal definido. Ou seja, é um instrumento de gestão oficial do governo brasileiro, por meio de portaria publicada pelo ICMBio.

No âmbito do ICMBio/RAN, coordenamos quatro PAN, de maneira que o Dr. Paulo Henrique Braz colabora na implementação para a conservação de quelônios alvo em dois deles (Herpetofauna do Sul e Herpetofauna do Sudeste), com previsão de contribuir futuramente com ações de conservação no segundo ciclo do Plano de Ação Nacional para a Conservação da Ictiofauna, Herpetofauna e Primatas do Cerrado, Pantanal e Amazônia, em ações voltadas para o “cágado-do-pantanal”.

Atenciosamente,

RAFAEL ANTÔNIO MACHADO BALESTRA
Coordenador do ICMBio/RAN



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Antônio Machado Balestra, Coordenador(a)**, em 17/04/2025, às 15:36, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.icmbio.gov.br/autenticidade> informando o código verificador **021293735** e o código CRC **C7AF74D9**.

ANEXO C – NORMAS DA REVISTA *JOURNAL OF ZOOLOGY*

25/08/2026, 07:53

Journal of Zoology

[< Back](#)

tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Proofs

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site from where a PDF file of the proof can be downloaded. The corresponding author must provide a reliable email address and inform the Production Editor of any extended period when the email address is not effective. Instructions for returning the proofs will be sent with the proof. Excessive alterations to the text, other than printer's errors, may be charged to the author. The Editors reserve the right to correct the proof themselves, using the accepted version of the typescript, if the author's corrections are overdue and the journal would otherwise be delayed. The *Journal of Zoology* has had a change in journal style, Latin species names are no longer given in the article title but are instead inserted in the abstract, please keep this in mind when choosing the titles for submitted articles.

Early View Publication

The *Journal of Zoology* is covered by Wiley Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text papers published online in advance of the print issue. Articles published online are complete and in their final form: the author's final corrections have been incorporated and changes cannot be made after online publication. Early View articles do not have volume, issue or page numbers, and therefore cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is assigned to an issue. After print publication the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

Author material archive policy

Please note that unless specifically requested, Wiley Blackwell will dispose of all hardcopy or electronic material submitted 2 months after publication. If you require the return of material submitted please inform the Production Editor when your paper is accepted for publication.

Offprints

Free access to the final PDF offprint of your article will be available via author services only. Please therefore sign up for author services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers. A copy of the Publisher's Terms and Conditions for the use of the PDF file will accompany the electronic offprint and the file can only be distributed in accordance with these requirements. Additional paper offprints may be ordered when proofs are sent out, provided that the order is placed promptly (i.e. at the time of proof correction).

Sign up for email alerts

Enter your email to receive alerts when new articles and issues are published.

Email address