

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ESTUDO DO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO E DA  
DINÂMICA FOLICULAR DE MUÇUÃS (*Kinosternon  
scorpioides*) EM CATIVEIRO

**Alanna do Socorro Lima da Silva**

Médica Veterinária

1310011533



2014



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO E DA  
DINÂMICA FOLICULAR DE MUÇUÃS (*Kinosternon  
scorpioides*) EM CATIVEIRO**

**Alanna do Socorro Lima da Silva**

**Orientador: Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente**

**Co-orientadora: Profa. Dra. Maria das Dores Correia Palha**

**Coorientador: Dr. Marcus Antonio Rossi Feliciano**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área de reprodução animal.

**2014**

619.632.6:598.134(043)-690

CLAS.	S 586 e
TOMBO	11533

S586e Silva, Alanna do Socorro Lima da  
Estudo do comportamento reprodutivo e da dinâmica folicular de  
muçuãs (*Kinosternon scorpioides*) em cativeiro / Alanna do Socorro  
Lima da Silva. -- Jaboticabal, 2014  
iix, 97 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014

Orientador: Wilter Ricardo Russiano Vicente

Coorientadores: Maria das Dores Correia Palha, Marcus Antônio  
Rossi Feliciano

Banca examinadora: Carlos Artur Lopes Leite, Claudio Alvarenga  
de Oliveira, Tathiana Ferguson Motheo, Eliandra Antonia Pires Buttler  
Bibliografia

1. Quelônios. 2. Dinâmica folicular. 3. *Kinosternon scorpioides*. 4.  
Reprodução. 5. Testudines I. Título. II. Jaboticabal - Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:612.6:598.134

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** ESTUDO DO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO E DA DINÂMICA FOLICULAR DE MUÇUÃS (*Kinosternon scorpioides*) EM CATIVEIRO

**AUTORA:** ALANNA DO SOCORRO LIMA DA SILVA

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. WILTER RICARDO RUSSIANO VICENTE

**CO-ORIENTADORA:** Profa. Dra. MARIA DAS DORES CORREIA PALHA

**CO-ORIENTADOR:** Prof. Dr. MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: REPRODUÇÃO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



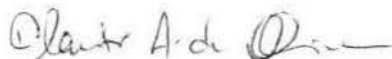
Prof. Dr. MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO

Departamento de Medicina Veterinária e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



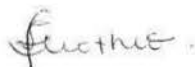
Prof. Dr. CARLOS ARTUR LOPES LEITE

Universidade Federal de Lavras / Lavras/MG



Prof. Dr. CLAUDIO ALVARENGA DE OLIVEIRA

Universidade de São Paulo / São Paulo/SP



Profa. Dra. TATHIANA FERGUSON MOTHEO

Departamento de Medicina Veterinária e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Profa. Dra. ELIANDRA ANTONIA PIRES BUTTLER

Departamento de Medicina Veterinária e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**ALANNA DO SOCORRO LIMA DA SILVA** - Concluiu a graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural da Amazônia, em Belém, Pará, no ano de 2006. De 2002 até 2006 atuou como estagiária e bolsista (PIBIC/CNPq) do Projeto Bio-Fauna/ISARH/UFRA, nos Sub-projetos Manejo e conservação de Jacaré-Tinga (*Caiman crocodilus crocodilus*) em cativeiro, Criação de Muçua (*Kinosternon scorpioides*) em Cativeiro, Reabilitação Clínica de Animais Silvestres oriundos de doações ou apreensões - SOS Fauna, Monitoramento de Atropelamento de Animais Silvestres e Projeto Carnívoros da Amazônia. Em 2006, participou do projeto "Conservation and Ecology of Turtles", da Ohio University, realizando atividades de campo na costa atlântica dos EUA, abrangendo os estados de Ohio e Maryland. Atualmente é pesquisadora associada do Projeto Bio-Fauna da Universidade Federal Rural da Amazônia e desenvolve pesquisas com muçua em cativeiro em parceria com a Unesp Jabotical. E integra a equipe de execução do Programa EVRA "Comunidade & Universidade: uma escola de vida ribeirinha amazônica" – Fase 2, financiado pelo Edital PROEXT/MEC. Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Animais Silvestres, atuando principalmente nos seguintes temas: manejo, reprodução, clínica e conservação. Recebeu dois prêmios pelo melhor trabalho científico do Seminário de Iniciação Científica, parceria da Universidade Federal Rural da Amazônia e da Embrapa Amazônia Oriental. Em agosto de 2009, ingressou no Mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV – UNESP – *Campus* de Jaboticabal – SP. Em março de 2011, iniciou o curso de doutorado em Medicina Veterinária, área de concentração: Reprodução Animal, pela mesma instituição, tendo como orientador, Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente. Em 2014 foi aprovada concurso para Professor efetivo da UFOPA, Santarém, Pará.

"Um mundo diferente não  
pode ser construído por  
pessoas indiferentes"  
*(Peter Marshall)*

"Longe é um lugar que não existe"  
*(Richard Bach)*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Maria Olivete e José Carlos Queiroz, por me apontarem, na vida, os mais retos e seguros caminhos;

Aos meus irmãos, Helaine Lima e José Carlos Queiroz Júnior, e aos meus avós, Marita Ataíde, Teresinha de Jesus e Raimundo Fidelis e ao meu sobrinho, Carlos, pelo incentivo e apoio;

À Professora Maria das Dores Correia Palha (Mamita), pelo interesse manifestado, a todo momento, em construir os mais sólidos alicerces para a minha formação profissional e pessoal. E, por ser a minha eterna orientadora; agradeço por sua cumplicidade e responsabilidade direta na construção do meu futuro. O resultado deste processo de anos de orientação é que acabamos construindo uma fraternal e cada dia mais sólida amizade, que carregaremos para sempre. Para sempre será minha orientadora e exemplo profissional. O meu profundo agradecimento pela orientação e apoio incondicionais que elevaram os meus conhecimentos científicos e estimularam o meu desejo de querer, sempre, saber mais e a vontade constante de querer fazer melhor.

Agradeço especialmente ao Professor Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente, por ter possibilitado a oportunidade de realizar meu objetivo e de muitos outros pós-graduandos que um dia bateram em sua porta; Agradeço e reconheço, com gratidão a confiança que em mim depositou, desde o início.

Ao Marcus Antonio Rossi Feliciano, o meu sincero agradecimento pela co-orientação neste trabalho. Muito obrigada pelo profissionalismo e pela total disponibilidade que sempre teve. O seu apoio foi determinante na elaboração desta Tese.

A Deyse Daiane e Diana Rocha, minhas orientadas muito obrigada pela dedicação, profissionais, disponibilidade, companheirismo e ajuda, fatores muito importantes na realização desta tese. Que vocês tenham um futuro brilhante. Agradeço-lhe os bons momentos e a ajuda nos momentos mais difíceis.

Aos meus grandes amigos, Fabrício Oliveira, Jamile Araújo, Ramiro Dias, pelo carinho, preocupação, pela companhia nos melhores e piores momentos, e pelos conselhos, companheirismo e amizade;

Ao Wikolx Ranieri obrigada por todo carinho e proteção. Ter você em minha vida me fez ainda mais forte, superando todas as dificuldades e distância geográficas. Seu apoio foi muito importante.

Aos Pesquisadores, Técnicos e/ou Professores, pelos valiosos ensinamentos que me proporcionaram durante estágios e o longo convívio na universidade;

Ao Professor Tourinho pela confiança e amizade; agradeço a oportunidade e o privilégio que tive de conviver com senhor que muito contribuiu para o enriquecimento da minha formação acadêmica e científica.

Aos meus amigos da UNESP-Jaboticabal Tathiana Ferguson Motheo, Pedro Paulo Maia Teixeira, Maristela Lopes, Cássia Maria Coelho, Maristela Lopes, Fabíola Niederauer Flores, Darcio Zangirolami Filho, Victor Santos, Caio Tiosso, Aline Kawanami, Juliana Paula, Felipe Barros, Leandro Nassar, Luciana Padilha Nakaghi, Paula Andressa Pennacchi Savi, amigos queridos que de uma forma ou de outra contribuíram com sua força e estímulo para que eu conseguisse completa este percurso. Todos contribuíram para o meu crescimento profissional. Sentirei eternas saudades de todos vocês.

À equipe (pesquisadores, treinandos, bolsistas e funcionários) do projeto Bio-Fauna, pelo apoio na realização do trabalho; em especial a Magda Carvalho, Lucas Brasil, Silvane, Claudio Guimarães e Milton.

Ao Projeto Bio-Fauna/UFRA e a UNESP – Jaboticabal, pelo financiamento do projeto de pesquisa;

Aos animais domésticos e silvestres, que me proporcionaram o aprendizado que adquiri durante os anos de Universidade;

Enfim, a todos que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho;

Meus agradecimentos.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	v
ABSTRACT .....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	6
2.1. Kinosternon scorpioides.....	6
2.1.1. Descrição taxonômica .....	6
2.1.2. Distribuição geográfica da espécie.....	6
2.1.3. Características da espécie e do habitat .....	8
2.1.4. Dimorfismo sexual.....	10
2.1.4. Reprodução.....	13
3. OBJETIVOS .....	21
3.1. Geral.....	21
3.2. Específicos .....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
4.1. Localização e Caracterização da Área .....	22
4.2. Animais .....	23
4.3. Avaliação biométricas .....	24
4.4. Monitoramento do comportamento reprodutivo .....	24
4.5. Avaliação radiográfica.....	26
4.6. Monitoramento ultrassonográfico.....	27
4.7. Monitoramento de posturas .....	31
4.7. Dados meteorológicos .....	32
4.8. Análise estatística.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1. Dinâmica folicular e formação do ovo.....	33
5.1.2. Desenvolvimento folicular com ovulação .....	35
5.1.3. Ovulação e a formação do ovo .....	37
5.1.4. Múltiplas posturas .....	39
5.1.5. Desenvolvimento folicular sem ovulação .....	46
5.2. Comportamentos sociais e reprodutivos de muçua (Kinosternon scorpioides) em cativeiro. ....	48
5.2.1. Comportamento Masculino .....	48
5.2.2. Comportamento reprodutivo.....	52
5.2.3. Influência da dinâmica folicular no comportamento reprodutivo.....	53
6. CONCLUSÕES .....	62
7. REFERÊNCIAS.....	63



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Jaboticabal



## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 029837/09 do trabalho de pesquisa intitulado "**Biologia Reprodutiva de *Kinosternon scorpioides* em Cativeiro**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 26 de janeiro de 2010.

Jaboticabal, 26 de janeiro de 2010.

Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui  
Presidente - CEUA

## ESTUDO DO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO E DA DINÂMICA FOLICULAR DE MUÇUÃS (*Kinosternon scorpioides*) EM CATIVEIRO

### RESUMO

O presente trabalho relaciona-se à pesquisa experimental com *Kinosternon scorpioides* adultos em cativeiro e teve como objetivo descrever e analisar aspectos da biologia reprodutiva e do comportamento de *Kinosternon scorpioides* adultos em cativeiro, mediante parâmetros relacionados ao ciclo sexual e desempenho reprodutivo de exemplares adultos de *Kinosternon scorpioides* do Criadouro Científico de Muçua do Projeto Bio-Fauna, da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, em Belém, Pará. Realizou-se exame ultrassonográfico para determinação da viabilidade da técnica, associado a parâmetros comportamentais para o estudo do evento folicular em fêmeas de *Kinosternon scorpioides*. Foram formados dois lotes de machos e fêmeas, na proporção de 1:3, compreendendo 10 reprodutores e 30 matrizes. Foram feitos exames ultrassonográficos e acompanhamento comportamental. Os animais foram analisados durante um ano, a cada 7 dias, para avaliação e mapeamento do padrão do crescimento folicular em ambos os ovários e presença de ovo no oviduto, além do acompanhamento do comportamento reprodutivo e agonístico da espécie. Estruturas reprodutivas foram observadas em 30 fêmeas, das quais 26 eram reprodutivamente ativas enquanto 4 apresentavam folículos atrésicos ou folículos pequenos. Nesta variante, os folículos mostraram um crescimento constante, uniforme em aproximadamente 42,7 dias (entre 18 e 81 dias). No caso de fêmeas que fizeram múltiplas posturas foi verificado a presença de ovos e um ovário mais ativo, com presença de folículos grandes ( $1,68 \pm 0,18$  cm) com crescimento contínuo até o tamanho de folículos pré-ovulatórios.. Foram observados dois tipos de ciclo, o curto e o longo. No primeiro, os folículos envolvidos cresceram deficientemente, e apresentaram diâmetro médio de 1,05 ( $\pm 0,07$ ) cm, já no segundo os folículos apresentaram tamanho semelhante ao de folículos pré-ovulatórios: 1,52 ( $\pm 0,3$ ) cm de diâmetro. As cópulas ocorreram envolvendo apenas fêmeas com folículos grandes. Foi encontrada correlação entre a o tamanho dos folículos presentes no ovário e a aceitação da cópula. O menor tamanho de folículo em que houve cópula foi 1,84 cm. Com os presentes dados foi possível demonstrar uma estreita correlação entre a receptividade sexual e estágio de maturação folicular. Isto é indicado pelo fato de que todas as cópulas terem ocorrido com folículos grandes (pré-ovulatórios), sendo que nenhuma cópula foi observada em fêmeas com ovo no oviduto e nem com folículos pequenos e médios. Sendo assim a receptividade sexual está relacionada com as variações cíclicas foliculares. Além disso, com base no acompanhamento ultrassonográfico foi possível determinar as fêmeas que iriam fazer múltiplas posturas pelos padrões de imagens observadas.

**Palavras-chave:** Quelônios, Dinâmica folicular, *Kinosternon scorpioides*, Reprodução, Testudines

## STUDY OF REPRODUCTIVE BEHAVIOR AND DYNAMICS FOLLICULAR MUÇUÃS (*Kinosternon scorpioides*) IN CAPTIVITY

### ABSTRACT

This work relates to experimental research with *Kinosternon scorpioides* adults captive and aimed to describe and analyze aspects of reproductive biology and behavior of *Kinosternon scorpioides* adults in captivity, through the sexual cycle related parameters and reproductive performance of adult specimens of *Kinosternon scorpioides* the Scientific Breeding múcua Project Bio-Fauna of the Federal Rural University of Amazonia -. UFRA in Belém, Pará ultrasound examination was performed to determine the feasibility of the technique, associated with behavioral parameters for the study of follicular event in females of *Kinosternon scorpioides*. Two batches of males and females were formed at a ratio of 1: 3, comprising 10 to 30 breeding matrices. Sonographic examinations were performed and behavioral monitoring. The animals were reviewed over a year, every 7 days for evaluation and mapping of the pattern of follicular growth in both ovaries and the presence of egg in the oviduct, and monitoring of reproductive and agonistic behavior of the species. Reproductive structures were observed in 30 females, of which 26 were reproductively active while 4 had atretic follicles and small follicles. In this embodiment, the follicles showed a steady, uniform growth by approximately 42.7 days (between 18 and 81 days). In the case of females who made multiple postures was verified the presence of eggs and a more active ovary with the presence of large follicles ( $1.68 \pm 0,18\text{cm}$ ) with continued growth to the size of pre-ovulatory follicles were observed two . type of cycle, the short and long. In the first, involved the follicles grew poorly and showed an average diameter of  $1.05 (\pm 0.07)$  cm, in the second follicles were similar to the size of pre-ovulatory follicles:  $1.52 (\pm 0.3)$  cm in diameter. Copulation occurred involving only females with large follicles. Correlation between the size of the follicles present in the ovary and the acceptance of copulation was found. The smaller size of the follicle in which there was intercourse was 1.84 cm. With the present data it was possible to demonstrate a close correlation between sexual receptivity and stage of follicular maturation. This is indicated by the fact that all matings have occurred with (pre-ovulatory) large follicles, and no copulation was observed in females with egg in the oviduct and not with small follicles is average. Thus sexual receptivity is related to follicular cyclically. Furthermore, based on the tracking ultrasound was possible to determine the females would make multiple positions by the standards of the observed images.

Keywords: Turtles, follicular dynamics, *Kinosternon scorpioides*, reproduction, Testudines



## LISTA DE ABREVIATURAS

A	Altura
BASA	Banco da Amazônia
BPA/PM	Batalha de Policial Ambiental
CC	Comprimento da carapaça
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CO	Comprimento do ovo
CP	Comprimento do plastrão
DP	Desvio-padrão
FCAV	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
FCO	Folículo com ovulação
FSH	Hormônio folículo-estimulante
FSO	Folículo sem ovulação
G	Gramma
GAP	Distância existente entre o plastrão e a carapaça na região caudal (abertura plastrão/carapaça ou “gap caudal”)
HOVET	Hospital veterinário
IBAMA	Instituto Brasileiro Do Meio Ambiente E Dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
ISARH	Instituto Sócio Ambiental e Recursos Hídricos
K.	Kinosternon
LC	Largura da carapaça
LH	Hormônio luteinizante
LO	Largura do ovo
LP	Largura do plastrão
M	Massa
MA	Maranhão
Mhz	Mega-Hertz

mm	milímetros
mm <sup>3</sup>	milímetros cúbico
MO	Massa do ovo
MOP	Peso médio dos ovos
N.	Numero
N.ovos	Número de ovos
Nin	Ninhada
°C	Graus Celsius
P.	Podocnemis
PA	Pará
PLU	Pluviometria
POS	Postura
sp.	Espécie
UFRA	Universidade Federal Rural da Amazônia
UNESP	Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
UR%	Umidade relativa

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tabela 1. Categorias comportamentais de <i>Kinosternon scorpioides</i> registradas para os grupos de reprodutores e matrizes (Silva, 2011) .....	25
Tabela 2. Número folículos pré-ovulatórios e de ovos no oviduto, dados biométricos dos ovos determinado por varredura ultrassonográfica da cavidade celomática e número de postura de fêmeas de <i>Kinosternon scorpioides</i> .....	35
Tabela 3. Dados biométricos comparativos entre machos dominantes e subordinados de muçua ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ). .....	51
Tabela 4. Frequências observadas dos <i>displays</i> reprodutivos de machos de <i>Kinosternon scorpioides</i> em cativeiro.....	54

## LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Distribuição geográfica no Brasil do <i>Kinosternon scorpioides</i> . Pontos em vermelho representam locais onde foi registrado a presença da espécie. (mapa adaptado de GARRONE, 2006, COSTA et al. 2010, ICMBIO, 2010).....	7
Figura 2. Dimorfismo sexual de <i>Kinosternon scorpioides</i> , A) A cabeça tigrada do macho e a cabeça amarelada da fêmea. B) Cauda do macho espessa e comprida e cauda da fêmea pequena e curta.	12
Figura 3. Viveiros de manutenção e reprodução de muçuãs ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ). Fonte: Projeto Bio-Fauna/UFRA. ....	23
Figura 4. Método de contenção de muçuã ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) durante o exame radiográfico .....	27
Figura 5. Janela acústica pré-femoral direita do muçuã ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ).....	29
Figura 6. Posicionamento ortostático para exame ultrassonográfico em muçuã ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ). Note que o animal está com o membro posterior estendido e o transdutor posicionado na janela acústica pré-femoral.....	29
Figura 7. Imagem do exame ultrassonográfico de muçuã ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) com utilização de dispositivo (luva de látex com gel) para ampliação da profundidade do objeto.....	30
Figura 8. Esquema anatômico dos principais órgãos celomáticos em <i>Kinosternon scorpioides</i> .....	30
Figura 9. Ultrassonograma de folículos vitelogênicos em diferentes fases de desenvolvimento durante o ciclo reprodutivo de <i>Kinosternon scorpioides</i> . (A) folículos pequenos; (B) folículos médios; (C) folículos grandes e (D) folículos pré-ovulatórios.....	34
Figura 10. Imagem macroscópica dos ovários de fêmeas de <i>Kinosternon scorpioide</i> (A) Folículos pequenos provenientes de fêmeas	

- reprodutivamente inativas (B) Folículos médios provenientes de fêmeas reprodutivamente ativas. 34
- 48
- Figura 11. Dinâmica folicular de *Kinosternon scorpioides*. A seta indica o momento da divergência folicular no crescimento dos folículos com ovulação (FCO) e os folículos sem ovulação (FSO)..... 36
- Figura 12. Imagens de ultrassonográficas do ovário e do oviduto de *Kinosternon scorpioides*. (A) Folículos pré-ovulatórios – 0 horas; (B) Ovo recente no oviduto – 24 horas; (C) Ovo início da calcificação (gema e albúmen ainda visível) - 2 dias; (D) Ovo com casca totalmente calcificada – 10 dias..... 38
- Figura 13. Imagem radiográfica dos ovos de muçuãs (*Kinosternon scorpioides*) (A) 15 dias após a ovulação; e (B) 30 dias após a ovulação ..... 39
- Figura 14. Ultrassonograma da cavidade celomática de muçua (*Kinosternon scorpioides*). A. 1) Lado direito - oviduto contendo ovo em início de formação A.2) Lado esquerdo - ovário com folículos grandes e médios concomitantes indicativos de múltipla postura. B.1) Lado direito - oviduto contendo ovo totalmente calcificado. B.2) Lado esquerdo - ovário com folículos pequenos indicativos de final de ciclo..... 41
- Figura 15. Distribuição percentual de posturas únicas (n=1) ou múltiplas (n= 2 a 4) ao longo da estação reprodutiva de muçua (*kinosternon scorpioides*).)..... 43
- Figura 16. A) Representação gráfica da pluviometria do período seco (Maio – Novembro). Pontos em vermelhos no gráfico representam posturas realizadas durante o período seco. B) Precipitação pluviométrica e média de temperaturas mensais (mínimo e máximo) durante a estação reprodutiva. (Embrapa, 2013). ..... 45
- Figura 17. Ultrassonograma de folículos atrésicos de muçua (*Kinosternon*

	<i>scorpioides</i> ).	46
Figura 18.	Ciclos anovulatórios de muçua ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ). Ciclo curto (○) e ciclo longo (●).....	48
Figura 19.	Sociograma indicando as interações agonísticas entre os machos de <i>Kinosternon scorpioides</i> . A direção das setas vai do executor para o receptor da interação enquanto o número de setas é proporcional a frequência de interações registradas.....	49
Figura 20.	Lesão ulcerada em cauda de muçua ( <i>Kinosternon scorpioides</i> ) após interações agonísticas.....	50
Figura 21.	Desenho esquemático das fases do comportamento de acasalamento: A) Aproximação do macho por trás para examinar a região cloacal da fêmea. B) Macho com o pescoço esticado para realizar os movimentos laterais de cabeça e para atritar sua região gular contra as narinas da fêmea. C) Macho apoiando as patas dianteiras nos escudos costais da carapaça da fêmea, posicionando-se mais posteriormente. D) A cloaca do macho entra em contato com a da fêmea, permitindo a inserção do pênis .....	53

## 1. INTRODUÇÃO

As populações de quelônios ao redor do mundo estão diminuindo de forma alarmante (MOLL;MOLL, 2004). A história de vida de muitos quelônios faz com que sejam vulneráveis à extinção. As baixas taxas de crescimento e os longos períodos necessários para que atinjam a maturidade são características deste grupo, além disso, um longo período de vida, geralmente, está associado a uma baixa taxa de substituição de indivíduos na população. Essas características podem predispor as espécies ao risco de extinção (POUGH et al. 1993). Além dos aspectos naturais que dificultam a sobrevivência dos quelônios, encontramos também diversos fatores antrópicos. As várias alterações dos habitats, através das queimadas, desmatamento das matas ciliares, canalização de cursos d'água, aterramento de áreas alagadas, tráfico e consumo de espécies, entre outras, causam impactos significativos sobre as populações (POUGH et al. 2001, FERRI 2002, FERREIRA Jr. 2003).

Em algumas regiões brasileiras, sob o ponto de vista econômico são os quelônios os mais importantes répteis, muito utilizados por populações de baixa renda e também muito apreciados na culinária nas regiões de ocorrência. Desta forma, têm seus destinos, também, para restaurantes, que apesar de terem conhecimento da infração às leis ambientais, não os incluem em seus cardápios para não serem punidos, mas servem a iguaria à pedido de alguns clientes. Na literatura brasileira aparecem, ainda, referências dos quelônios como as citadas por Gilberto Freyre em suas obras como iguarias e quitutes tradicionais da região Norte. O autor atribui a esses quelônios uma importância maior que a dos peixes como fonte de proteína animal para as populações ribeirinhas (*apud* FERREIRA Jr. 2003).

Dentre os quelônios mais explorados como fonte de alimento, se pode destacar as seguintes espécies: tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*), tracajá (*Podocnemis unifilis*) e o muçua (*Kinosternon scorpioides*) (BRITO ; FERREIRA, 1978; PALHA *et al.* 1999). O muçua, pela qualidade de carne e subprodutos, constitui forte componente da história, costumes e economia das comunidades ribeirinhas e urbanas na Amazônia e, apesar de ser protegido pela

legislação ambiental, tem seus estoques naturais explorados comercialmente de forma intensa e sem controle. Devido à proibição de sua captura, é impossível saber a quantidade de animais que são retirados da natureza. Além disso, os estudos sobre o tamanho das populações e sobre as taxas de renovação desses estoques, ainda não foram realizados (CASTRO, 2005).

Não há estimativa precisa sobre o contingente de muçuãs existente na natureza, mas sabe-se que a população está diminuindo, pois a pressão de caça é grande e bastante antiga. É uma espécie muito caçada na região Norte e Nordeste do Brasil, tanto para alimentação ou estimação, como para comércio, com espécimes vendidos ilegalmente em dúzias. Apesar desta comercialização ser ilegal, o muçuã vem sofrendo sobrecaça, não figurando na lista oficial de espécies brasileiras ameaçadas de extinção meramente por insuficiência de dados sobre as populações de vida livre (IBAMA, 2004).

Esta espécie é uma das mais apreendidas pelo IBAMA-MA nas feiras e mercados do município de São Luís, capital do Estado do Maranhão. Esse réptil é alvo das ações antrópicas na região da Baixada Maranhense, gerando renda às comunidades ribeirinhas por causa do extrativismo ilegal. A coleta desta espécie, segundo relatos de pescadores do município de São Bento-MA, ocorre no período de estiagem, compreendido entre os meses de julho a janeiro, momento em que o animal vem ao ambiente terrestre para se reproduzir e então é capturado (LIMA, 2003). Os animais apreendidos têm como destino feiras e mercados da capital maranhense, constituindo-se em iguaria da culinária regional servida na própria carapaça sob a forma de casquinho de muçuã. Esta comercialização ocorre de forma clandestina, infringindo a Lei Federal nº 9.605/98, de 12 de fevereiro de 1998 (PEREIRA et al. 2007).

PALHA et al. (2006) realizaram um estudo para caracterizar as formas de comercialização e uso do *Kinosternon scorpioides*, em Belém/PA, mediante pesquisa em supermercados, restaurantes e lojas especializadas em pescados, do total de entrevistados, 50% alegaram não vender o produto por ser ilegal e 23% confirmaram a comercialização. Para os entrevistados a oferta de muçuãs é intensa e freqüente, mediante fornecedores clandestinos. O interesse pela aquisição legal de animais e produtos atingiu 89% dos entrevistados, sendo tal preferência pela

carne para preparo do casquinho-de-muçuã, com preço médio de R\$ 16,00 (R\$ 13,00 a 25,00) a porção de  $\pm 150$ g. Para restaurantes, a demanda média foi de 260 muçuãs/mês, correspondendo ao preparo de 130/casquinhos/mês. Segundo os autores, estimativas sobre demanda para a carne de muçuãs no mercado de Belém, podem chegar a milhares de espécimes/ano. Tais valores podem estar subestimados, considerando-se os níveis de interesse (89%) verificados junto aos estabelecimentos especializados em culinária regional. Além disso, existem os estabelecimentos informais. Ressalta-se que a demanda é abastecida pelo comércio ilegal.

Atualmente, em diversas partes do mundo existem iniciativas conservacionistas que tentam restaurar e manter em equilíbrio os níveis populacionais de quelônios aquáticos e terrestres, sempre tentando preservar o habitat desses animais, integrando os valores culturais das comunidades que os utilizam e buscando a geração de renda alternativa para essas comunidades (CAMARA, 1982; PRITCHARD ; TREBBAU, 1984; IBAMA, 1989; POUGH et al. 2001; FERRI, 2002). Uma solução seria a criação em cativeiro, facilitando o consumo, aumentando a renda e contribuindo com a preservação das espécies (VANZOLINI et al., 1980; ACUÑA-MESÉN, 1994).

Quanto à criação em cativeiro de *K. scorpioides*, hoje pouco se pode oferecer aos criadores em termos de recomendações técnicas para um sistema de produção efetivo, especialmente no que se refere a sua sustentabilidade, ao aproveitamento das potencialidades da espécie, ao atendimento de expectativas dos produtores, e ainda, ao atrelamento a programas de conservação da espécie, seja em manejo comunitário ou empreendimentos privados. Espera-se que o aumento da oferta de produtos oriundos de criadouros licenciados de animais silvestres, não só diminua a pressão de caça sobre os estoques naturais, mas contribua para o conhecimento científico dos quelônios criados nestas condições. No entanto, há diversos pontos de estrangulamento nesse processo, sendo inclusive ainda muito limitado o conhecimento técnico-científico relativo à espécie e suas particularidades, em vida livre ou cativeiro (PALHA et al. 2006). Neste contexto, assume-se ser uma das espécies-chave para estudos e projetos que busquem contribuir para o conhecimento, a conservação e o aproveitamento econômico deste importante

recurso da fauna amazônica. É indiscutível a importância de práticas de manejo direcionadas para o ordenamento do uso da espécie e para sua criação em cativeiro, aliadas a políticas de monitoramento dos plantéis de vida livre e de educação ambiental, como caminhos importantes para conservação desse quelônio. No entanto, sem dados sobre a biologia da espécie não há como se respaldar estudos e esforços aplicados à sua conservação.

Nesse esforço e de extrema importância o conhecimento sobre o ciclo reprodutivo e comportamento da espécie em cativeiro. O exame ultrassonográfico pode ser utilizado para a avaliação das condições reprodutivas e acompanhamento da foliculogênese. Diagnóstico por imagem de répteis pode ser um desafio porque a anatomia dos répteis apresenta alterações dependendo da ordem a qual pertence à espécie. Conhecimento da anatomia normal é essencial para a seleção e interpretação de diagnóstico técnicas de imagem (SCHUMACHER ; TOAL, 2001). O acompanhamento do estado reprodutivo é importante para o monitoramento de populações em vida livre ou em cativeiro, por exemplo, os folículos podem ser medidos para prever se um animal está próximo a ovulação. Para algumas espécies esta informação pode ser usada para determinar o melhor tempo para a introdução de um macho para fêmea (MITCHELL, 2011).

A partir de 2004, iniciaram os estudos sobre esta espécie em cativeiro, pelo Subprojeto “Criação de Muçua (*Kinosternon scorpioides*) em cativeiro: avaliação do potencial produtivo com vistas à criação comercial”, iniciativa do Projeto Bio-Fauna, apoiada pelo Banco da Amazônia – BASA. O Projeto Bio-Fauna/UFRA vem realizando estudos seqüenciais sobre a espécie (Silva, 2006).

Este estudo busca um maior conhecimento sobre a reprodução da espécie em cativeiro. Portanto, procura-se gerar conhecimento aplicável da forma mais realista possível, para que os resultados possam servir de incentivo para o aproveitamento sustentável da espécie. As informações resultantes servirão não somente para subsidiar programas de exploração zootécnica do animal em questão, mas também a sua conservação, haja vista que se espera que, com a disponibilidade de animais e seus subprodutos, oriundos de criatórios comerciais, a pressão de caça sobre os animais de vida livre diminua, contribuindo assim para a redução do comércio ilegal e para o aumento dos estoques naturais da espécie. O

conhecimento de aspectos biológicos da espécie em cativeiro pode ser útil à compreensão do que ocorre em vida livre e vice-versa. Servem também como base para a formulação alternativas de produção sustentável, que contribuam como fonte de renda extra para comunidades locais das áreas de distribuição da espécie. Nesse sentido o nosso objetivo neste trabalho foi fornecer informações sobre os aspectos da dinâmica folicular e relacionar com aspectos comportamentais. Registrar a receptividade sexual das fêmeas e estabelecer relações entre o comportamento de acasalamento, as estruturas do ovário e com a concepção de sucesso em fêmeas receptivas. A demonstração da relação entre a receptividade sexual, estado folicular ovariana e concepção, pode levar ao desenvolvimento de um ensaio para determinar o melhor manejo e estudo para espécie *in-situ e ex-situ*.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. *Kinosternon scorpioides*

#### 2.1.1. Descrição taxonômica

De acordo com TURTLE TAXONOMY WORKING GROUP (2009), o muçua pertence à família Kinosternidae, que compreende duas subfamílias (Staurotypinae e Kinosterninae), quatro gêneros (*Claudius*, *Staurotypus*, *Sternotherus* e *Kinosternon*) e 25 espécies localizadas no novo mundo. O gênero *Kinosternon*, compreende 18 espécies, estendidas desde o sul do Canadá até a América do Sul. A espécie *Kinosternon scorpioides* tem quatro subespécies que possuem características, genótipos e fenótipos muito parecidos, sendo difícil sua diferenciação.

#### 2.1.2. Distribuição geográfica da espécie

Presente nas três Américas, o *Kinosternon scorpioides* tem distribuição ampla. São nativos da Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Equador, Guatemala, Guianas, Honduras, Ilha de Santo André, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Trinidad e Venezuela (MOLINA et al. 2001; BERRY ; IVERSON, 2001; SOMMA, 2005).

Em sua ampla distribuição esta espécie mostra grande variedade ontogenética e individual, sendo difícil a interpretação das variabilidades geográficas. As populações são divididas em subdivisões geográficas: mesoamericanas - populações do norte (México, Guatemala, Belize e El Salvador), populações de Bacia do rio de Chiapas (México e Guatemala) e populações de Honduras, Nicarágua, Costa Rica e Panamá; e as populações da América do Sul - populações do norte da América do Sul e populações do sul (Bolívia e Argentina). Em cada uma dessas populações observam-se diferenças morfométricas particulares: forma e tamanho da carapaça, tamanho do plastrão, entalhe anal presente ou ausente, escudos inguinal e axilar em contato ou não, padrão e cor da cabeça. E as populações (exceto as da Argentina e Bolívia) estão conectadas em

zonas de transição onde se podem observar diferenças intermediárias (SAVAGE, 2002).

No Brasil, o *Kinosternon scorpioides* distribui-se na costa do Amapá, Ilha de Marajó, Pará, Maranhão, Rondônia, Acre, Amazonas, Mato Grosso, Tocantins, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Piauí, Ceará, Paraíba, Alagoas, Goiás, e Minas Gerais (VANZOLINI et al. 1980; ROCHA & MOLINA, 1987; MOLINA;ROCHA 1996; GARRONE, 2006; COSTA et al. 2010; ICMBIO, 2010), conforme mapa apresentado na Figura 1.

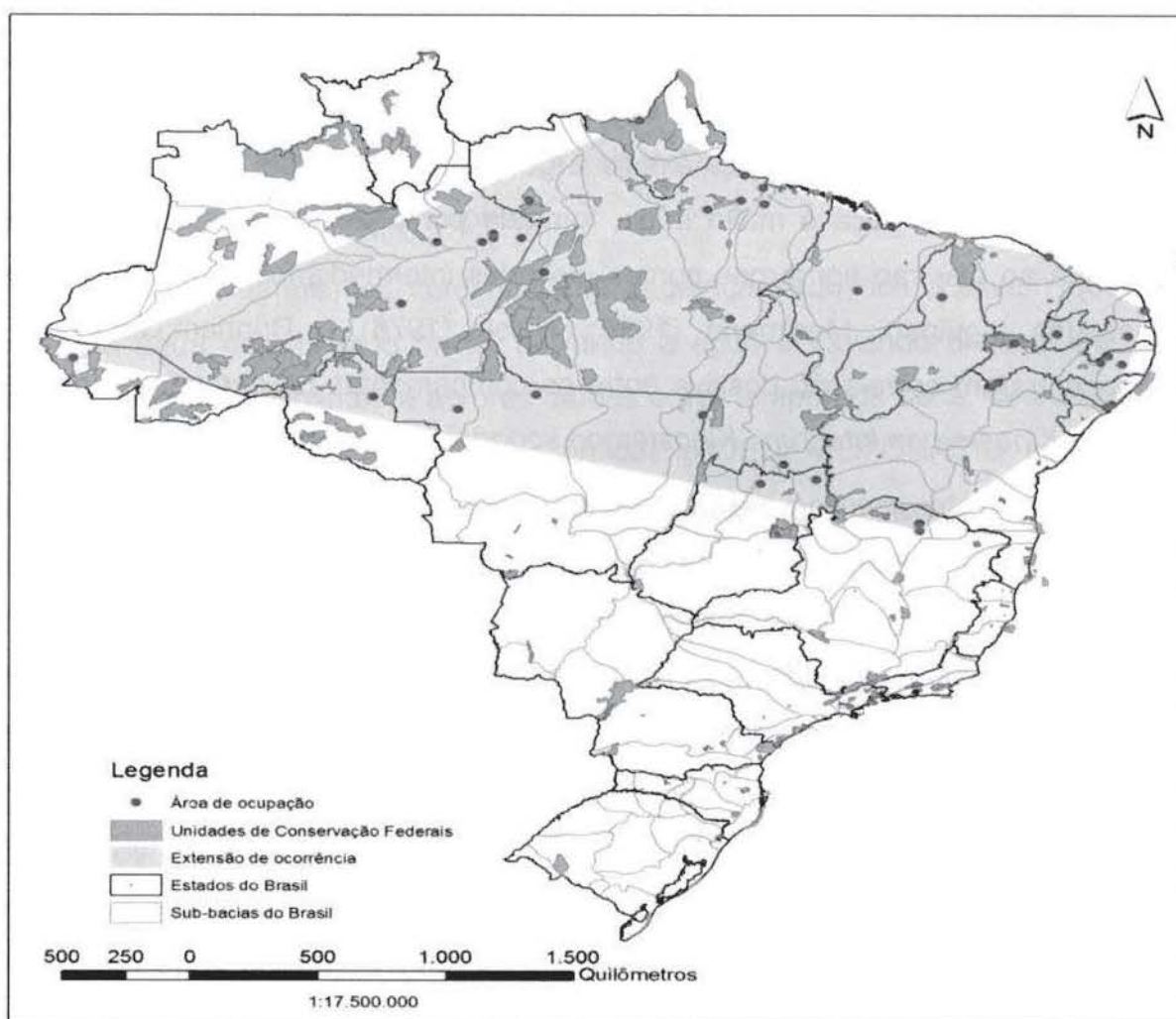


Figura 1: Distribuição geográfica no Brasil do *Kinosternon scorpioides*. Pontos em vermelho representam locais onde foi registrado a presença da espécie. (mapa adaptado de GARRONE, 2006, COSTA et al. 2010, ICMBIO, 2010).

### 2.1.3. Características da espécie e do habitat

O *Kinosternon scorpioides* é um pequeno quelônio que se caracteriza por apresentar carapaça oblonga, relativamente alta, estreita e oval, com presença de três quilhas longitudinais dorsais, sendo uma mais elevada na linha vertebral (VINKE;VINKE, 2001). A referência ao "*scorpioides*" na nomenclatura deste quelônio é baseada na estrutura córnea que existe na ponta da cauda e que contribui para que o formato desta, no macho, lembra a configuração da cauda de um escorpião (BERRY;IVERSON, 2001).

A cor da carapaça varia de marrom-claro ao verde-oliva ou preto (PRITCHARD;TREBBAU, 1984; BERRY;IVERSON, 2001). O primeiro escudo (ou escudo vertebral) da carapaça é mais largo que longo e existe a presença do escudo cervical. A carapaça é muito larga, formada por onze escudos marginais, e está ligada ao plastrão por largas pontes (escudos intermediários, ditos escudo axilar e escudo inguinal). Mosimann (1956), Hulse (1976) e Dunham;Gibbons (1990) encontraram correlação positiva entre os comprimentos da carapaça e do plastrão para *Kinosternon integrum*, *Kinosternon sonoriense* e *Kinosternon subrubru*.

O plastrão é formado por grandes escudos e apresenta duas linhas transversais articuláveis, uma cranial e outra caudal, que permitem relativa mobilidade aos grupos de escudos craniais (formados por cinco escudos) e caudais (formado por quatro escudos), inclusive possibilitando moverem-se totalmente de encontro à carapaça, protegendo as partes "moles" aparentes do animal (BERRY;IVERSON, 2001). As duas "dobradiças" do plastrão são características para estas espécies. Com esta mobilidade do plastrão o animal tem a habilidade de se fechar completamente em situações perigosas (VOGT, 2008).

Essa não é sua única possibilidade de defesa, a mordida é muito dolorosa devido a sua cabeça grande e mandíbulas poderosas. Além disso, quando se sentem ameaçados exalam um almíscar de odor intenso, secretado por glândulas situadas cranialmente aos membros posteriores, que força a maioria dos predadores se afastarem (VINKE, 2001).

A cabeça pode ser marrom, cinza ou preta com manchas de padrão creme, laranja, vermelho, rosa ou amarelo e com barbelas na mandíbula (PRITCHARD;TREBBAU, 1984; BERRY;IVERSON, 2001).

Apesar de sua ampla distribuição, existem poucas informações sobre as condições ecológicas do habitat da espécie, apontando a necessidade de mais elementos (PEREIRA et al. 2007).

O *Kinosternon scorpioides* é um cágado com ampla tolerância ecológica, vive tanto em habitat lóticos e lênticos como: riachos, lagoas, margens dos lagos, pântanos e lagoas temporárias, em diferentes ecossistemas. Conforme os dados obtidos por PEREIRA et al. (2007), no Maranhão, *K. scorpioides scorpioides* permanece em águas com temperaturas que variam de 26 a 30°C. Na Costa Rica, Acuña-Mesén et al. (1983) verificaram valores entre 23 e 27 °C, indicando que a espécie habita corpos d'água tropicais.

Preferem ambientes com bastante vegetação aquática. Estivam quando o nível da água está ficando baixo, deixando a água e cavando debaixo de folhas acumuladas ou adjacentes a árvores caídas e, na temporada seca, deambulam em terra firme em direção a ambientes úmidos (RUEDA-ALMONACID et al., 2007; VOGT, 2008). Em período de estiagem se enterram no barro até a chegada das chuvas (RUEDA-ALMONACID et al., 2007). Durante o período de reprodução, é possível encontrá-lo em terra firme (BERRY;IVERSON, 2001).

Os *Kinosternon* em vida livre encontram-se ativos principalmente pela manhã e animais em cativeiro durante a noite (CASTAÑO;FORERO, 2002). VINKE;VINKE (2001) em estudo realizado no Paraguai, relatam que frequentemente encontrava indivíduos de *Kinosternon scorpioides* no começo do dia e que alguns exemplares mostravam-se ativos até mesmo ao meio-dia, apesar do calor extremo. Os animais eram encontrados sempre perto de corpos de d'água temporários com água por um período sazonal ou depois das chuvas. Em tempo seco extremo esses animais não eram mais vistos na área, mas assim que as chuvas voltavam a cair, eram avistados novamente.

Não existem estimativas populacionais no Brasil, mas sabe-se que não há grandes populações no Pará, Amazonas e Rondônia (VOGT, 2010). Na zona

costeira do estado do Maranhão, a estrutura da população mostra que 91% dos indivíduos capturados de *K. scorpioides scorpioides* foram adultos (de tamanho entre 10 e 16cm) e 8,9% de juvenis (de tamanhos entre 5 e 9cm). Em relação às faixas etárias por sexo, foram observados 100% de machos adultos. Fêmeas juvenis e fêmeas adultas foram representadas em proporções de 23,6% e 76,3% respectivamente. Para esta espécie, foi observado que não houve diferença significativa no número de machos e fêmeas capturadas ao longo dos meses e a razão sexual de *K. scorpioides scorpioides* é de 1,6 machos para cada fêmea (OLIVEIRA et al., 2005).

IVERSON (1991) em trabalho realizado com *Kinosternon flavescens*, identificou que a mortalidade durante o primeiro ano de vida foi extremamente alta (81%), em razão principalmente da predação e inviabilidade dos ovos e condições ambientais desfavoráveis. A sobrevivência anual de juvenis foi relativamente alta (30-70%), excedendo 90% no sexto ano de vida e 95% no oitavo ano.

Segundo Acuña-Mesén (1994), *K. scorpioides scorpioides* sofre forte influência abiótica em seu micro-habitat e interação frequente com outros seres vivos, especialmente com vertebrados predadores. Estas características analisadas individualmente ou em conjunto fornecem importantes informações que podem ser utilizadas na conservação deste quelônio. PEREIRA et al. (2007) relata que os bubalinos (*Bubalus bubalis*) apesar de não se constituírem em predadores de *K. scorpioides* podem interferir na sobrevivência destes animais pelo seu pisoteio. Isto se deve, conforme apontado anteriormente, ao fato de que esta espécie de quelônio compartilha o mesmo habitat com os búfalos, no Maranhão e na Ilha do Marajó. Na Ilha de San Andrés (Colômbia) a espécie se encontra ameaçada pela redução de seu habitat, devido às profundas modificações durante os últimos anos, tanto pelas secas ocorridas como também para introdução de *Caiman sp.*, o que vem causando uma ostensiva diminuição da população (RUEDA-A, 2001).

#### **2.1.4. Dimorfismo sexual**

Considerando os aspectos reprodutivos, pode-se salientar que muitas espécies apresentam dimorfismo sexual, sendo expressa principalmente na diferença de porte entre machos e fêmeas, sendo geralmente o macho maior que a

fêmea (PRITCHARD, 1979, MOLINA, 1992). Outros caracteres dimorfos frequentemente observados em muitas espécies de quelônios são o casco mais baixo e a cauda apresentando maior comprimento nos machos, além da presença de uma concavidade no plastrão (MOLINA;ROCHA, 1996; FERREIRA Jr., 2003). Em várias espécies, os machos apresentam as garras dos membros anteriores mais compridas do que as fêmeas (ERNST;BARBOUR, 1989).

Segundo MOLINA (1992), o dimorfismo sexual nos quelônios se expressa principalmente na diferença de porte entre os machos e as fêmeas. BERRY;SHINE (1980) mostram que, em geral, nas espécies terrestres os machos são maiores que as fêmeas, o que favorece a tentativa de subjugar-la durante a cópula.

Os quelônios do gênero *Kinosternon* têm um dimorfismo sexual bastante marcante (MACIP-RÍOS et al. 2009). CASTRO (2006) observou que o dimorfismo sexual só era perceptível quando os animais alcançavam 20 meses de idade, neste período o comprimento da carapaça era de 94 mm, evidenciando o escurecimento da cabeça e aumento da cauda, enquanto as fêmeas possuíam cauda curta e cabeça amarelada.

A cabeça, o pescoço, a garganta e o maxilar dos machos são tigrados (marcados com manchas negras) (SEXTON, 1960), essa região pode ser muito pigmentada chegando a ser negra, enquanto que nas fêmeas ela é bastante clara (PEREIRA;LEMOS, 2007) (Figura 2). O macho também possui o plastrão côncavo muito próximo dos escudos femorais, enquanto que o da fêmea é chato e mais espaçado. A cauda do macho é espessa e três vezes mais longa que a da fêmea, com aparência de cauda de escorpião, prolongada por uma unha córnea dura e curva. Na fêmea, a cauda é muito pequena, cônica e com uma unha terminal pouco visível. A curvatura da carapaça é regular na fêmea, da nugal às supra-caudais, muito mais convexa ao nível das últimas vértebras do que das primeiras, no macho. Nos machos, as garras das patas anteriores são longas, arqueadas e pontudas. A cabeça do macho é um pouco mais larga que a da fêmea (FRETEY, 1976). As fêmeas adultas de *Kinosternon scorpioides* possuem o plastrão mais comprido que os machos, nestes o plastrão mais curto seria uma adaptação para facilitar a cópula (MAHUMOUD, 1967).

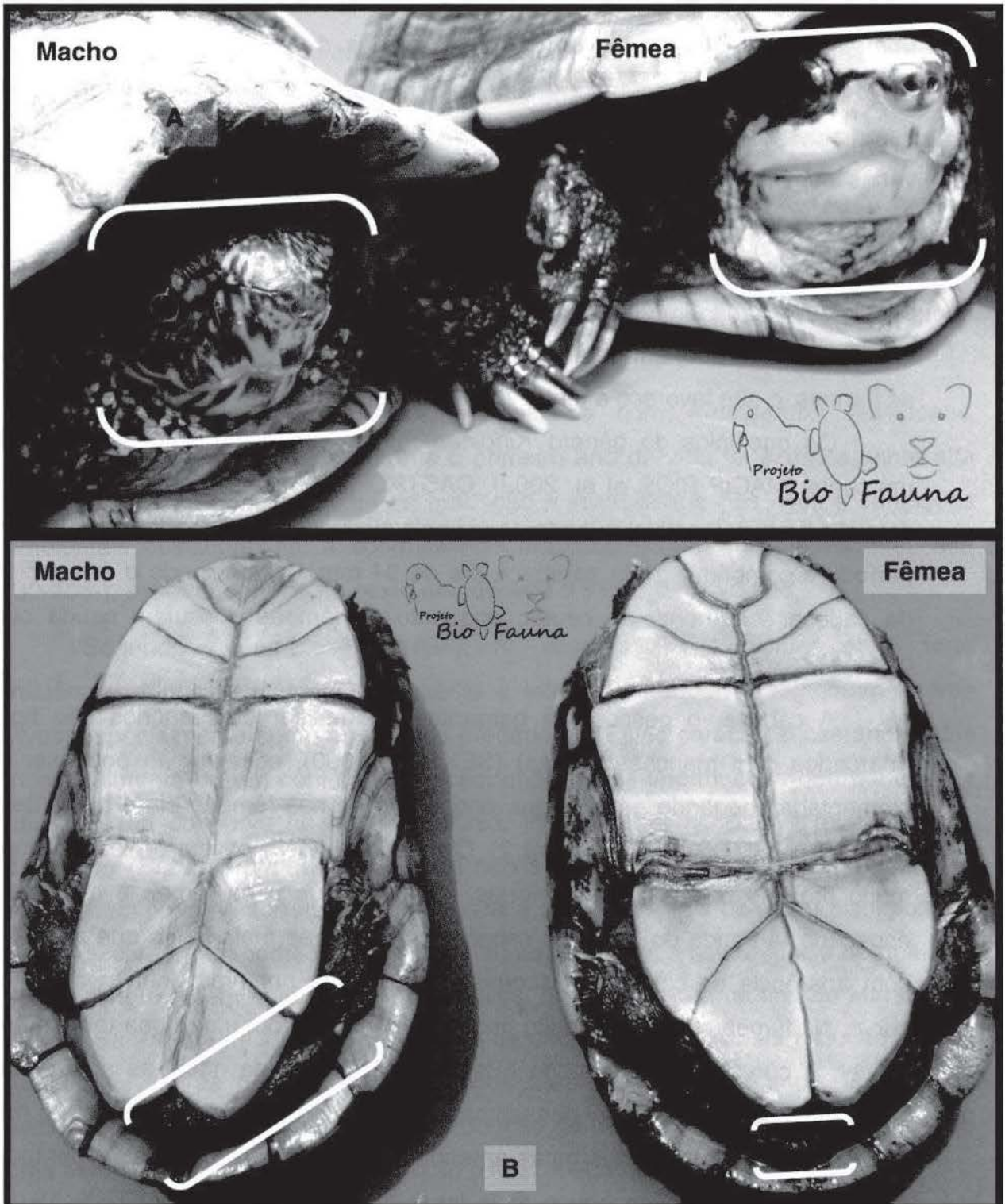


Figura 2. Dimorfismo sexual de *Kinosternon scorpioides*, A) A cabeça tigrada do macho e a cabeça amarelada da fêmea. B) Cauda do macho espessa e comprida e cauda da fêmea pequena e curta.

Na Costa Rica, registrou-se que os machos são maiores que as fêmeas, apresentando um comprimento de carapaça entre 150 e 175 mm, enquanto que nas fêmeas varia entre 124 e 159 mm (ACUNÃ-MESEN, 1994). No estado do Maranhão, registrou-se que os machos são maiores que as fêmeas, tendo em média 138 mm de comprimento, enquanto as fêmeas têm em média 122,5 mm de comprimento, e uma massa média de 257,5g (PEREIRA et al., 2004). MARQUES et al. (2008) registraram peso e dados biométricos de muçuãs na Ilha do Marajó (PA), verificando machos com peso  $338,25 \pm 58,99$ g, comprimento da carapaça  $140 \pm 0,55$ mm, largura da carapaça  $86,4 \pm 0,47$ mm, comprimento do plastrão 120,0 mm ( $\pm 0,63$ ), largura do plastrão 74,2 mm ( $\pm 0,51$ ) e altura 47,5 mm ( $\pm 0,59$ ) e fêmeas com peso 340,73g ( $\pm 53,72$ ), comprimento da carapaça 133,0 mm ( $\pm 0,63$ ), largura da carapaça 86,8 mm ( $\pm 0,41$ ), comprimento do plastrão 123,0 mm ( $\pm 0,59$ ), largura do plastrão 76,1 mm ( $\pm 0,36$ ) e altura 49,2 mm ( $\pm 0,45$ ).

#### 2.1.4. Reprodução

O trato reprodutor feminino em quelônios consiste em um par de ovários e ovidutos, e seus respectivos ligamentos mesentéricos (mesovário, mesosalpíngex e mesotubário). Os ovários e ovidutos imaturos mudam de tamanho e estruturação com o passar da idade, puberdade, e entre as estações reprodutivas e não reprodutivas (HAMANN *et al.*, 2003).

Nas fêmeas sexualmente maduras, os folículos presentes nos ovários aumentam de tamanho e adquirem uma coloração amarelada brilhante. Os folículos maiores alongam-se em sentido cranial, ao passo que os menores e imaturos permanecem mais concentrados no terço posterior do ovário. Os folículos atingem a maturidade ao apresentarem 2-3cm de diâmetro (média entre as espécies), momento oportuno às ovulações e acasalamento das fêmeas (WYNEKEN, 2001).

Assim como os ovários, os ovidutos também passam pelo processo de maturação. De simples paredes tubulares delgadas, passam a paredes musculares espessas e móveis com aumento linear do diâmetro luminal. O oviduto aparece dobrado ao longo de todo seu comprimento quando não está ativo. É funcionalmente

dividido em cinco regiões: infundíbulo, magno, istmo, útero e vagina (WYNEKEN, 2001). Essa característica foi observada por Machado Júnior (2006) no muçua, foi também citada para os répteis por Andrew e Hickman (1974), para as tartarugas por Ashley (1969) e para as aves por Dyce et al. (1997).

Em fêmeas adultas de *Kinosternon scorpioides*, os ovários apresentaram-se sempre constituídos de massas amarelas, compostas de diversos folículos em diferentes fases de desenvolvimento, contendo uma densa quantidade de vitelo, cuja função, segundo a literatura, é servir de matéria nutritiva ao embrião ao longo do seu desenvolvimento dentro do ovo (MACHADO JÚNIOR, 2006).

Na preparação para o acasalamento, um grupo inteiro de folículos maduros são ovulados simultaneamente, e os oócitos são captados pelo oviduto, na região do infundíbulo. Uma vez no oviduto, cada folículo passa posteriormente pelo segmento aglandular e adentra no magno, onde é recoberto por uma camada de albumina. Após três dias, os folículos passam para a região da concha glandular, onde são secretados proteínas e carboidratos de membrana (cório), além da matriz de "aragonite", e passam a ser chamados de ovos. Nessa região, onde permanecem aproximadamente seis a sete dias, os ovos adquirem certo grau de calcificação, sendo na seqüência depositados na vagina, onde podem permanecer durante vários dias, até que passem pela cloaca e sejam desovados (ovoposição) (WYNEKEN, 2001).

A puberdade na fêmea inicia-se com o crescimento de pequenos folículos que produzem estrógeno e, aos poucos, vão crescendo e amadurecendo. O estrógeno estimula a produção e a secreção de uma proteína chamada vitelogenina, que, por sua vez, transporta lipídeos, predominantemente triglicerídeos, para o interior do folículo em crescimento. Esse processo, no qual há o armazenamento progressivo de proteína e lipídeo no interior de folículos, proporciona o amadurecimento dos oócitos e é chamado de vitelogênese. Inicia-se aproximadamente oito a nove meses antes da estação reprodutiva (GURAYA, 1989).

As ovulações ocorrem após a completa maturação do oócito, que é expelido do interior do folículo e captado pelas fímbrias, caindo no interior do infundíbulo, no oviduto. Concomitantemente, no ovário, há a formação do corpo lúteo, por hipertrofia das células da parede do folículo com predomínio de células da granulosa

(GURAYA, 1989). Estes medem em torno de 1,5cm em tartarugas marinhas e apresentam uma forma de cratera. Assim como em mamíferos e aves, em resposta ao hormônio luteinizante (LH), produzem e secretam progesterona, que, por sua vez, estimula a produção de albumina (OWENS, 1980).

Os corpos lúteos regridem no decorrer da estação reprodutiva, quando, em seu final, apresentam diferentes tamanhos em função do tempo de ovulação de diferentes grupos de folículos. Ao regredirem, os corpos lúteos, assim como nos mamíferos e aves, tornam-se cicatrizes esbranquiçadas, passando a ser chamados de corpos *albicans* (WYNEKEN, 2001).

Ainda são pouco conhecidos os processos fisiológicos envolvidos na ovoposição. Neste período são também observadas altas concentrações circulantes de metabólitos de algumas substâncias, como da prostaglandina e arginina (HAMANN et al., 2003).

Os machos dominantes apresentam durante o período próximo ao início da atividade sexual valores séricos de testosterona superiores aos machos subordinados. Todavia tais valores podem ser invertidos quando alternadas as posições de subordinação (JESSOP et al., 1999). Quando em atividade sexual, os valores séricos de FSH e LH demonstram-se menores quando comparados ao período pré-reprodutivo (LICHT et al., 1980).

As fêmeas de tartarugas marinhas realizam, em média, duas (*Lepidochelys kempfi*) a seis (*Dermochelys coriacea*) posturas por temporada reprodutiva, sendo estas geralmente de ocorrência noturna. O intervalo entre desovas de uma fêmea não é rigorosamente anual, intervalos de dois, três, quatro e até nove anos entre desovas são frequentemente observados (HAMANN et al., 2003). O processo de desova envolve uma série de etapas: 1) emergência da tartaruga da água; 2) deslocamento até um local seguro da ação das marés (nesta etapa a tartaruga pode desistir do processo se perturbada); 3) preparação do terreno e da cama (diâmetro aproximado de dois metros, dependendo da espécie); 4) escavação do ninho, de profundidade variada de acordo com a espécie); 5) deposição dos ovos (o número de ovos varia dependendo da espécie); 6) cobertura e camuflagem do ninho; 7) retorno ao mar. Todo este processo leva aproximadamente de 1 a 2 horas (HIRTH, 1980).

Segundo Molina (1992), o dimorfismo sexual nos quelônios se expressa principalmente na diferença de porte entre os machos e as fêmeas. Berry e Shine (1980) mostram que, em geral, nas espécies terrestres os machos são maiores que as fêmeas, o que favorece a tentativa de subjugar-la durante a cópula, enquanto que nas espécies de nado ativo as fêmeas são maiores, e os machos dificilmente conseguem subjugar-las. Nesse caso, a diferença no tamanho seria explicada pelo aumento do sucesso reprodutivo das fêmeas, pela aumentada capacidade de locomoção dos machos e o consequente sucesso na localização das fêmeas e/ou pela canalização, por parte dos machos, de grande quantidade de energia disponível para a procura de fêmeas e não para o crescimento.

Os quelônios do gênero *Kinosternon* têm um dimorfismo sexual bastante marcante. Em 50 espécimes examinados, a cabeça do macho mediu em média 27,6 mm e a da fêmea, 27,1 mm. Entretanto, o maior espécime da coleção do Museu de Paris é uma fêmea oriunda da Guiana, cujo comprimento de dorso é de 158 mm, enquanto a média é de 137 mm, para os machos, e de 136 mm, para as fêmeas (FRETEY, 1976). Esse dimorfismo também foi confirmado por Acuña-Mesen (1994), na Costa Rica, que registrou que os machos são maiores que as fêmeas, apresentando um comprimento de casco entre 15 e 17,5 cm, enquanto que as fêmeas estão entre 12,4 e 15,9 cm.

Mahmoud (1967) observou que a maturidade dos machos é alcançada entre quatro e sete anos e das fêmeas entre cinco e oito anos, em espécies de clima temperado em vida livre. Goode (1994) registrou fêmeas em reprodução com tamanho da carapaça de 12,2 cm a 14,6 cm, com média variando de 13,0 cm a 13,4 cm.

Pouco se sabe sobre o acasalamento nas espécies sul-americanas da família Chelidae (MOLINA, 1989). Uma característica que influencia o comportamento reprodutivo dos quelônios é a associação da maioria das espécies a ambientes aquáticos ou semi-aquáticos. Isto contribui para dificultar os estudos sobre a biologia reprodutiva das espécies, tanto por ampliar os efeitos da variação térmica sobre os espécimes, ninhos e ovos como pelos desafios metodológicos para a observação de parâmetros reprodutivos físicos e comportamentais dos indivíduos, uma vez que é

difícil observá-los em seu meio (CAGLE, 1950; CARPENTER, 1980; MOLINA, 1989; CARPENTER;FERGUSON, 1997). Sendo assim, o estudo em cativeiro tem sido de extrema importância, uma vez que possibilita avaliação mais detalhada do padrão comportamental.

Uma intrigante questão, de cunho evolutivo e ecológico, é a relação entre as características ambientais e o tempo e esforço parental investidos na reprodução das espécies de animais selvagens. Porém, pouco progresso foi feito em se determinar o investimento parental para a maioria dos répteis, particularmente para os quelônios (GIBBONS;GREENE, 1979). Fêmeas adultas grandes de quelônios produziram ninhadas maiores e possivelmente tiveram a frequência de posturas aumentadas em relação às fêmeas adultas pequenas (GIBBONS et al., 1981). Em algumas espécies de quelônios, o tamanho da ninhada e o número de descendentes e o tamanho dos ovos e dos descendentes estão positivamente correlacionados com o tamanho da fêmea (GIBBONS et al., 1982). Estudos têm examinado a relação entre a idade da fêmea à primeira postura e o número de ovos. O número de ovos é crescente a partir da primeira postura, devendo estabilizar-se e manter-se estável ou entrar em declínio, a partir de determinada idade (CORRÊA, 1978).

Moll e Legler (1971) observaram que no gênero *Kinosternon*, as espécies tropicais produzem ninhadas com ovos maiores, porém em menor número que as espécies da região temperada do hemisfério Norte.

Muitas informações sobre a reprodução de animais silvestres são obtidas *post-mortem*, através de necropsia. A radiologia é um método que permite estudar estruturas anatômicas internas do animal sem provocar lesões ou maiores comprometimentos para a vida do animal. Além disso, a atividade reprodutiva de uma fêmea pode ser monitorada em distintos momentos. As técnicas são cem por cento precisas para determinar fêmeas com ovos completamente formados e determinar o tamanho e o número de ovos por fêmeas, sem ter que abatê-las (GIBBONS;GREENE, 1979).

Segundo Altland *et al.* (1951), quelônios adultos são menos susceptíveis a efeitos colaterais da irradiação-X que mamíferos ou anfíbios. Assim, adotando-se procedimentos que salvaguardem as recomendações de segurança, não há efeitos detectáveis em embriões em desenvolvimento. No entanto, potenciais efeitos em

longo prazo, com relação à capacidade reprodutiva dos indivíduos que sofrem exposições múltiplas, são desconhecidos.

O diagnóstico por imagem de répteis pode ser um desafio porque a anatomia deste grupo apresenta alterações dependendo da ordem a qual pertence à espécie. O conhecimento da anatomia normal e a fisiopatologia das doenças do reptilianos é essencial para a seleção, interpretação e diagnóstico de técnicas de imagem (SCHUMACHER;TOAL, 2001). A ultrassonografia, em conjunto com a radiografia constitui uma importante ferramenta de diagnóstico não-invasivo na medicina dos répteis, permitindo a visualização e interpretação do anatomia normal (SCHUMACHER;TOAL, 2001).

O exame ultrassonográfico pode ser utilizado para a avaliação das condições reprodutivas, acompanhamento da foliculogênese, diagnóstico, previsão de postura e das desordens reprodutivas. O acompanhamento do estado reprodutivo é importante para o monitoramento de populações em vida livre ou em cativeiro, por exemplo, os folículos podem ser medidos para prever se um animal está provável que a ovulação. Para algumas espécies esta informação pode ser usada para determinar o melhor tempo para a introdução de um macho para fêmea (SCHUMACHER;TOAL, 2001; MITCHELL, 2011).

Sobre a reprodução dos Quinosternideos poucas referências são encontradas com relação à vida livre. A maioria das espécies faz postura durante uma única estação do ano. Existe a hipótese que este grupo provavelmente faz posturas múltiplas durante o ano, com pequeno número de ovos (de um a cinco, em média). Os ovos são depositados em ninhos feitos com a vegetação do local e, às vezes, podem ser enterrados. As posturas variam com a espécie e até entre indivíduos dentro de uma espécie. Alguns optam por enterrar seus ovos, outros depositam sob a vegetação e folhas (KIRKPATRICK, 1997).

Rocha e Molina (1985) observaram dados da postura de uma fêmea que media 11,4cm de comprimento do plastrão, 7,5 cm de largura do plastrão e pesava 295g, que apresentou três ovos variando entre 3,25 e 3,6 cm de comprimento, 1,95 e 2,0cm de largura e 7,6 e 8g de peso.

Ovos de muçuãs apresentam formato alongado e coloração rosada logo após a postura, com uma faixa branca transversal mediana de largura variável na casca.

Esta é dura e lisa, porém foi constatada em alguns ovos a presença de pequenas rugosidades nas extremidades, com o passar dos dias, a casca se torna mais esbranquiçada e áspera (SILVA et al., 2004). Sexton (1960) observou que o tamanho dos ovos varia de 37 a 40mm de comprimento e de 18 a 19 mm de largura; Já Fretey (1976) registrou ovos com 36,1 a 37,2mm de comprimento e 20,4 a 20,9mm de largura.

Gibbons e Tinkle (1982) realizaram uma investigação com três diferentes populações *Chrysemys picta*, quelônio de água doce do estado de Michigan (EUA) e observaram uma significativa diferença entre o tamanho dos exemplares e de suas ninhadas. Os autores acreditam que as diferenças extremas verificadas nas dietas entre as três populações podem ser responsáveis pelas diferenças no tamanho do corpo. Com isso, sugeriram que as diferentes dietas como sendo a causa primária das diferenças nas taxas de crescimento, dessa forma podendo ser responsáveis pelas diferenças na reprodução.

Outros autores concordam que há variação no número de ovos por postura entre populações de quelônios de diferentes regiões (TINKLE 1961, GIBBONS 1970) e no tamanho dos ovos (CAGLE, 1950, MOLL;LEGLER 1971). Iverson et al (1993), apresentou que para quelônios de água doce do hemisfério Norte há uma relação positiva entre a latitude e o tamanho da ninhada e uma relação negativa entre a latitude e o tamanho do ovo.

Segundo Gibbons e Tinkle (1982), há uma necessidade de informação acerca de fatores que afetam taxas de crescimento, tamanho dos animais e aspectos reprodutivos nas diferentes populações de quelônios. Vanzolini (1977), observou correlação positiva entre o volume médio dos ovos de *P. unifilis* e o número de ovos por postura. Foi observada correlação positiva entre o número de ovos por postura e o tamanho da fêmea, em *P. expansa* (ALHO E PADUA, 1982) *P. unifilis* (VANZOLINI 1977, SOINI, 1980) e *Phrynops geoffroanus* (MOLINA, 1990).

A capacidade de estocar espermatozoides na espermateca é uma das táticas reprodutivas de algumas espécies de quelônios, a qual permite que várias desovas possam ser realizadas dentro de um período de intermuda, sem intervenção de nova cópula (CHEUNG, 1968, MORGAN et al. 1983, HARTNOLL, 1985). Tanto a

realização da desova como os processos envolvidos para tal, como a maturação das gônadas e a manutenção da incubação dos ovos, exigem gastos de energia.

Uma suposição chave em muitos tratamentos de história de vida é que os gastos energéticos alocados para uma reprodução em andamento podem resultar em limitação do crescimento da fêmea (devido ao direcionamento de recursos energéticos para fins reprodutivos e não de crescimento) afetar a fecundidade (número de ovos) da próxima desova e/ou reduzir o desempenho reprodutivo (WILLIAMS, 1966, CALOW 1979). Tuomi *et al.* (1983) relatam duas maneiras pelas quais os animais podem superar essas limitações e estocar energia: uma delas diz respeito à alimentação continuada enquanto o animal está “grávido”; a outra concerne ao intervalo de tempo entre as desovas, de forma que maiores intervalos permitem ao animal obter energia suficiente para ovipositar com sucesso.

Em estudos focando a fecundidade intra-específica em função do tamanho da fêmea, é comum observar uma variabilidade do número de ovos produzidos por indivíduos de uma mesma classe de comprimento. De maneira geral, essa variabilidade tem sido muitas vezes atribuída à ocorrência de desovas múltiplas; entretanto, essas inferências são especulativas, desde que poucos estudos têm sido realizados no sentido de quantificar o tamanho da massa ou o número de ovos de desovas sucessivas (BRYANT;HARTNOLL 1995, SAINTE-MARIE;CARRIÈRE 1995).

Segundo Pereira (2000), há uma necessidade de se ampliar as informações acerca de fatores que afetam a reprodução, de investimento parental e a influência da alimentação nas diferentes populações de quelônios.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Geral**

Estudar a dinâmica ovariana e estabelecer um padrão ultrassonográfico do ciclo ovariano, discutindo as alterações foliculares e relacionando-as com aspectos comportamentais da espécie em cativeiro.

#### **3.2. Específicos**

- avaliar os ciclos foliculares ovarianos;
- relacionar ao comportamento reprodutivo do macho com as características ovarianas e comportamentais das fêmeas;

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa consistiu no monitoramento do comportamento sexual e da reprodução de exemplares adultos de *Kinosternon scorpioides* do Criadouro Científico de Muçã do Projeto Bio-Fauna, no Campus Sede da Universidade Federal Rural da Amazônia.

### 4.1. Localização e Caracterização da Área

O Criadouro Científico de Muçã do Projeto Bio-Fauna, está localizado no Campus Sede da UFRA, em Belém, Pará (1°27'26.9"S 48°26'19.4"W).

A área apresenta clima equatorial, quente e úmido, sofrendo influência direta da floresta amazônica. A temperatura média é de 27,2°C, podendo atingir 33°C nos meses mais quentes (agosto a dezembro).

As chuvas são constantes, com índice pluviométrico de 3131,1mm (ano) e umidade relativa média de 82,83% (Embrapa, 2013). Entre os meses de dezembro e junho ocorrem os maiores índices pluviométricos (média=376,51 mm) (Período chuvoso) e os meses de menores índices pluviométricos (média 145,33 mm) se estendem de junho a novembro (Período seco).

Os animais utilizados na pesquisa experimental foram mantidos alojados em viveiros, construídos em alvenaria e situados em área arborizada pela presença de bambuzais que durante o período da manhã sombreavam parte da área destes recintos. Cada viveiro media 2,18m x 5m, compreendendo cerca de 11m<sup>2</sup> de área total, sendo 80% em espelho d'água (2,18 x 4m), dotado de rampa e tendo aproximadamente 70cm de profundidade; os 30% restantes eram constituídos de areia lavada (2,18 x 1m). Os espelhos d'água, em cada viveiro, ainda tiveram sua área proposital e parcialmente sombreada, mediante a colocação de tábuas, em condições uniformes aos mesmos (Figura 3).

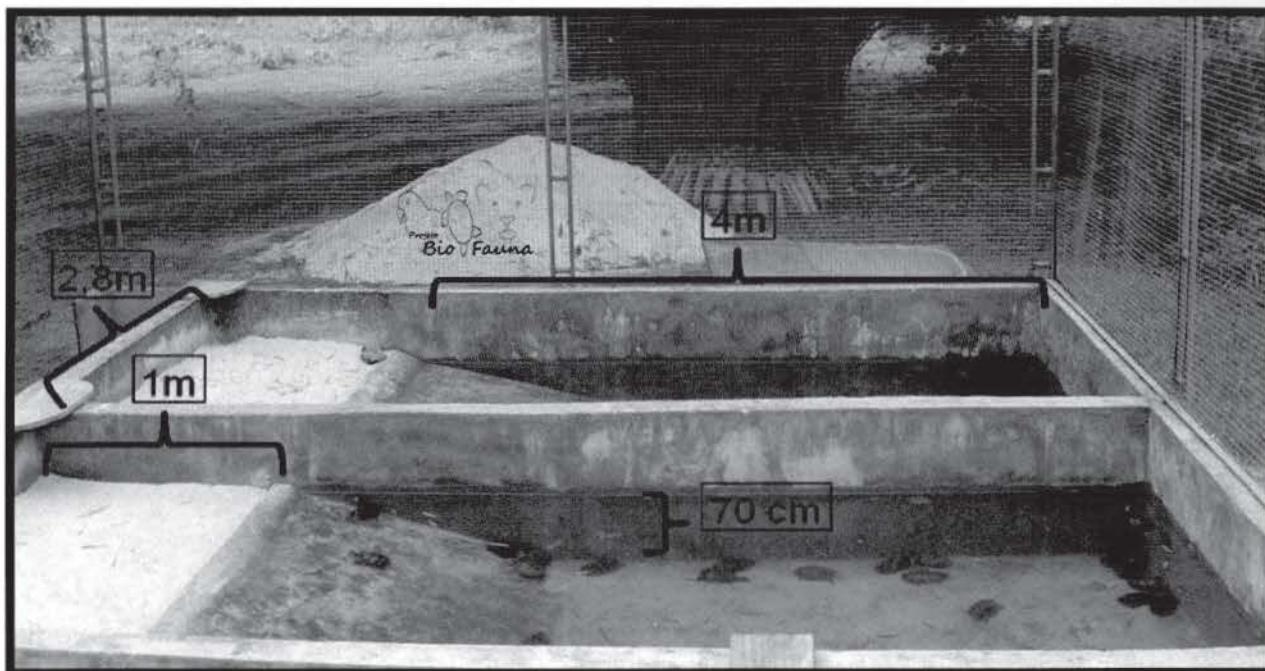


Figura 3: Viveiros de manutenção e reprodução de muçuãs (*Kinosternon scorpioides*). Fonte: Projeto Bio-Fauna/UFRA.

#### 4.2. Animais

Os animais utilizados no estudo foram *Kinosternon scorpioides* adultos, previamente obtidos mediante repasse por órgãos ambientais, como o IBAMA e o Batalhão de Policiamento Ambiental – BPA/PM. O Criadouro Científico possui autorização do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA), para atividades com finalidades científicas (licença criadouro 1602685 e CEUA nº 029837/11).

Foram selecionados animais adultos considerados hígidos após realização de exame clínico geral, radiográfico e ultrassonográfico.

Utilizou-se, nesse experimento dois lotes de macho (♂) e fêmeas (♀), na proporção de 1:3, compreendendo 10 reprodutores e 30 matrizes, totalizando 40 animais adultos. Os animais apresentavam, ao início do experimento, peso médio de  $450g \pm 2,5g$  e  $520 \pm 3,8g$  para machos e fêmeas, respectivamente.

Os animais foram alimentados às segundas, quartas e sextas-feiras, na proporção de 1% PV/dia, entre 11h e 14h. A alimentação foi constituída de ração para peixe (28%PB).

### 4.3. Avaliação biométricas

Mensalmente foi feita a biometria dos animais com o auxílio de um paquímetro (Paquímetro Mitutoyo, precisão de 0,01mm): aferindo-se comprimento da carapaça (CC), largura da carapaça (LC), comprimento do plastrão (CP), largura do plastrão (LP), altura do casco (A) e a distância existente entre o plastrão e a carapaça na região caudal (abertura plastrão/carapaça ou “gap caudal”) (GAP). A massa corpórea (M) foi obtida com auxílio de balança com precisão de 0,1g.

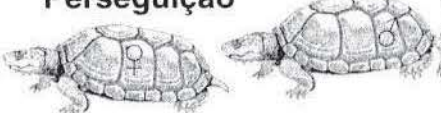
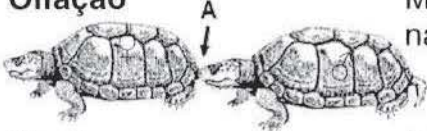
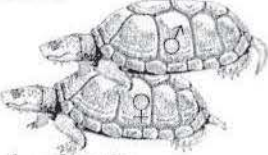
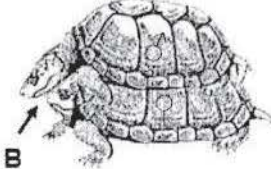
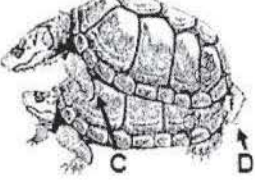

### 4.4. Monitoramento do comportamento reprodutivo

Para descrever o comportamento de corte até o acasalamento, e verificar os eventos do ciclo reprodutivo do grupo reprodutivo (comportamento reprodutivo), os machos foram colocados com as fêmeas entre 9 e 12h, e seu comportamento foi monitorado por dupla de observadores, durante cinco vezes por semana por 12 meses.

A coleta de dados comportamentais foi realizada pelo método de “todas as ocorrências” (“*all occurrences sampling*”) e “amostragem de seqüências” (“*sequence sampling*”) (Lehner, 1996). Essas observações permitiram também obter informações sobre duração das fases do comportamento reprodutivo. Foi registrada a frequência de todas as ocorrências para os comportamentos reprodutivo e agonístico. As categorias comportamentais que foram consideradas para registro estão descritas na Tabela 1.

Os Comportamentos pré-definidos (Silva, 2011) foram classificados como eventos únicos na sequência de sua ocorrência. A frequência do comportamento (isto é, o número de vezes que um comportamento ocorreu), a latência para a primeira ocorrência (segundos) e a duração de ocorrência (segundos) foram a base para análise estatística. As definições dos comportamentos observados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Categorias comportamentais de *Kinosternon scorpioides* registradas para os grupos de reprodutores e matrizes (Silva, 2011).

Categorias Comportamentais	Definições
<b>Perseguição</b> 	Animais nadando à meia água ou se movimentando no assoalho do tanque. Animal seguindo o deslocamento de outro. Os animais movem-se rapidamente, nadando ou caminhando pelo fundo do tanque, mudando de direção.
<b>Olfação</b> 	Movimentos de aproximação e olfação (A), toques de narinas em qualquer ponto da carapaça ou cloaca.
<b>Monta</b> 	Macho se aproxima nadando por cima da fêmea e se posiciona horizontalmente sobre esta, com a porção anterior do seu plastrão alinhado com a porção anterior da carapaça da fêmea.
<b>Pré-cópula</b> 	O macho posiciona a cauda estendida e arqueada para baixo, movimentando-a ao redor da região cloacal da fêmea. O macho fica com pescoço esticado e arqueado, esfregando a parte ventral do pescoço na carapaça ou na cabeça da fêmea (B). Pode haver mordidas ou tentativas do macho em morder a cabeça e o pescoço da fêmea ou a fêmea tentar morder a parte ventral do pescoço do macho.
<b>Cópula</b> 	O macho posiciona-se mais caudalmente a carapaça da fêmea posiciona os membros anteriores nos escudos costais da fêmea (C), aproximando sua cauda da cauda da fêmea, colocando em contato as aberturas cloacais de ambos os sexos, com a introdução do pênis na cloaca da fêmea (D). O macho mantém o pescoço estendido parado ou esfrega a parte ventral do pescoço na carapaça da fêmea.
<b>Aceitação</b>	Fêmea se mantém quieta e aceita a monta do macho.
<b>Interação agonística</b> 	Mordidas ou tentativas de morder por parte de outro animal. Confronto direto com outro animal. Enfrentamento.
<b>Fuga</b>	Fuga do animais de uma interação com outro animal.
<b>Bloqueio da Cauda</b>	Fêmea bloqueia o orifício da cloaca com os membros posteriores.

Todas as interações agonísticas foram observadas durante os períodos de observação como amostragem de todas as ocorrências, onde o instigador e a vítima de cada ocorrência foram registrados, gerando uma matriz sociométrica. A hierarquia social de cada grupo de animais foi estabelecida com a utilização da matriz sociométrica. O cálculo dos escores sociais foi baseado nas interações agonísticas entre os animais, aos pares, que foram registradas conforme descrito. Matrizes foram elaboradas para cada grupo com o número de sucesso e fracasso de cada animal em relação a cada outro animal do grupo (HURNIK et al., 1995).

As alterações nos padrões de comportamento reprodutivo feminino durante o ciclo reprodutivo foram registrados e classificados considerando fêmeas receptivas e não receptivas à cópula. Fêmeas receptivas tinham o padrão comportamental de fêmeas quietas, submissas aos machos durante o comportamento de pré-cópula e cópula. Fêmeas não receptivas foram os indivíduos que apresentavam tentativa de fuga durante a pré-cópula e cópula. Outra medida potencialmente importante de receptividade sexual feminina é a porcentagem de tentativas de monta do macho que são aceitas pela fêmea.

#### **4.5. Avaliação radiográfica**

Durante um ano, as fêmeas foram radiografadas mensalmente. E em momentos críticos, após a detecção ultrassonográfica de ovo(s) no(s) oviduto(s), tais fêmeas passaram a ser radiografadas a cada sete dias. As radiografias foram realizadas no Hospital Veterinário da UFRA (HOVET). Para tanto, utilizou-se cassete e filme de tamanho médio (30x40), com configuração do aparelho de radiografia ajustada para 40Kv por 0,5s, a uma distância de 1m. Os animais foram radiografados em grupos de três, sendo previamente acondicionados em vasilhas plásticas, para facilitar a contenção e restrição de movimentos (Figura 4).



Figura 4: Método de contenção de muçã (*Kinosternon scorpioides*) durante o exame radiográfico

#### 4.6. Monitoramento ultrassonográfico

Para o monitoramento da atividade ovariana foram realizados exames ultrassonográficos. Os procedimentos ocorreram apenas com contenção física. Utilizou-se o aparelho de ultrassom MyLab30 VET Gold® em modo-B, equipado com transdutor microconvexo (7,5 e 10MHz).

Durante um ano, foram feitas observações ultrassonográficas a cada sete dias para obtenção de dados como: dinâmica folicular, determinação do ciclo reprodutivo, número de posturas, números de ovos por postura, relação do tamanho da ninhada e dos ovos com o tamanho da fêmea. E, durante os períodos especiais, como a ovulação e a postura de ovos, os exames foram feitos diariamente.

Os animais foram examinados somente com contenção física, procedendo-se a extensão dos membros para liberação de uma janela acústica. Os animais eram mantidos posicionamento ortostático, pois naturalmente os órgãos na cavidade celomática ficam dispostos sobre o plastrão (ventral) (Figura 5). Quando o animal

está posicionado em decúbito dorsal pode ocorrer o deslocamento dos órgãos e do ar, o que causava uma interferência na imagem.

As janelas acústicas utilizadas durante exames ultrassonográficos foram a pré-femoral direita e esquerda, locais estes onde o transdutor pode ser colocado em contato com a pele (Figura 6).

Algumas limitações foram encontradas no curso dos exames ultrassonográficos. Inicialmente houve ligeira dificuldade de obtenção de imagens em animais pequenos, que possuem espaço limitado entre a carapaça e o plastrão (janela acústica pré-femoral). Isto dificultou ou não possibilitou o contato do transdutor com a pele, gerando imagens de péssima qualidade. Sabe-se que em quelônios a carapaça e o plastrão restringem o posicionamento do transdutor. No caso dos *Kinosternon scorpioides* foi possível contornar a situação com a aplicação de generosa quantidade de gel e o uso de um dedo de luva preenchido com gel ou água, como meio de contato entre transdutor e a pele do animal (Figura 7). Além disso, os animais foram mantidos no tanque com água até o momento do exame, para manter a hidratação e diminuir a perda de conteúdo da vesícula urinária.

A Figura 8 ilustra um esquema anatômico dos principais órgãos observados durante os exames ultrassonográficos em *Kinosternon scorpioides*. Foi realizada avaliação geral da cavidade, localização dos principais órgãos e, posteriormente exame minucioso para contagem e medição dos folículos ovarianos e identificação das demais estruturas presentes no ovário e oviduto. De início era realizada a avaliação do lado direito do animal. e terminado o exame neste lado a mesma avaliação era realizada a partir do lado esquerdo do animal.

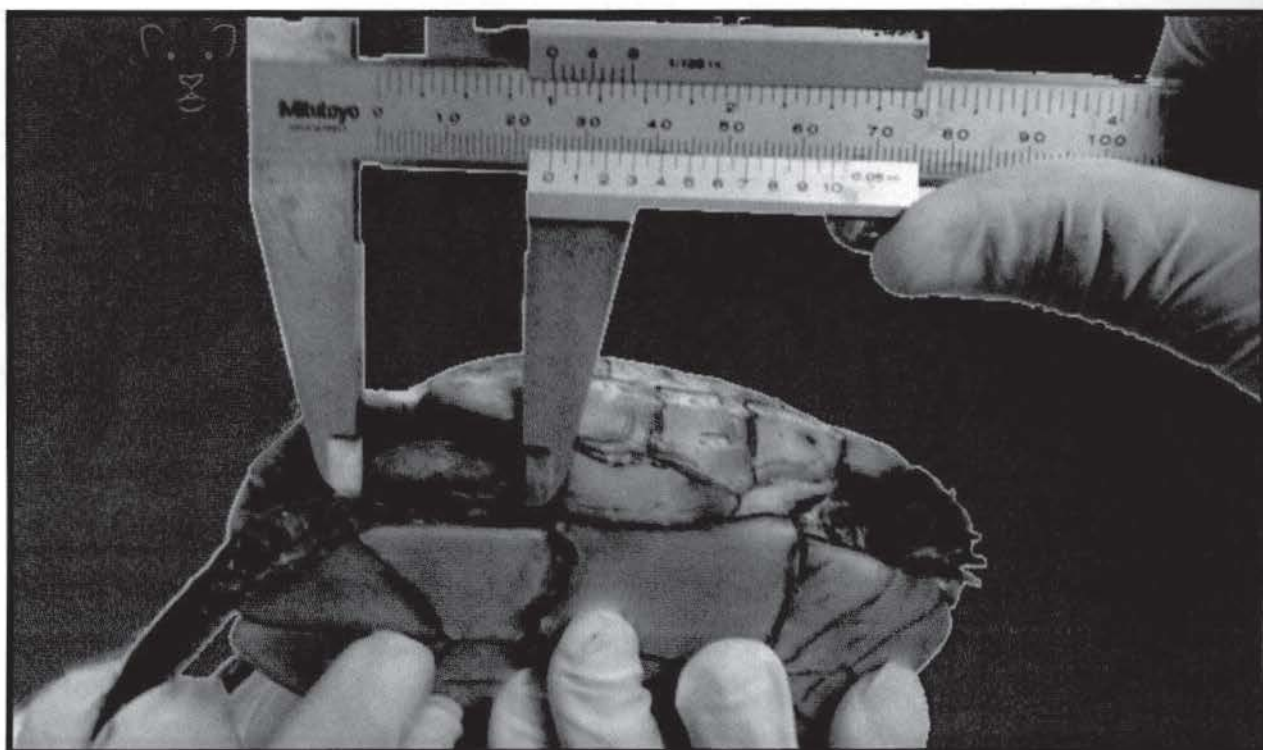


Figura 5. Janela acústica pré-femoral direita do muçã (*Kinosternon scorpioides*).



Figura 6: Posicionamento ortostático para exame ultrassonográfico em muçã (*Kinosternon scorpioides*). Note que o animal está com o membro posterior estendido e o transdutor posicionado na janela acústica pré-femoral.

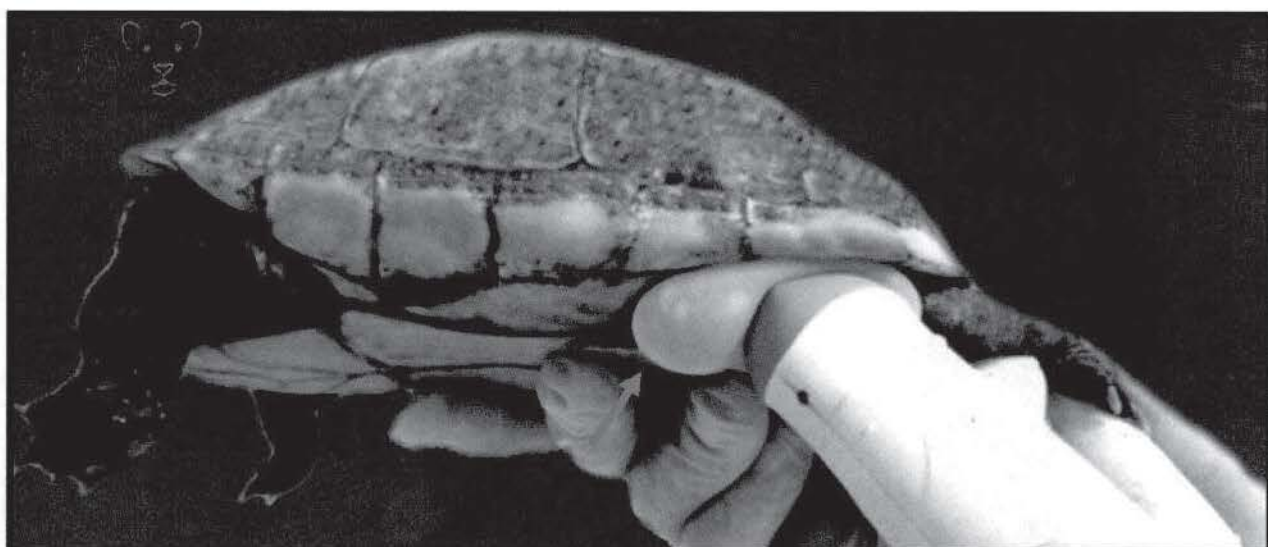


Figura 7: Imagem do exame ultrassonográfico de muçã (*Kinosternon scorpioides*) com utilização de dispositivo (luva de látex com gel) para ampliação da profundidade do objeto.

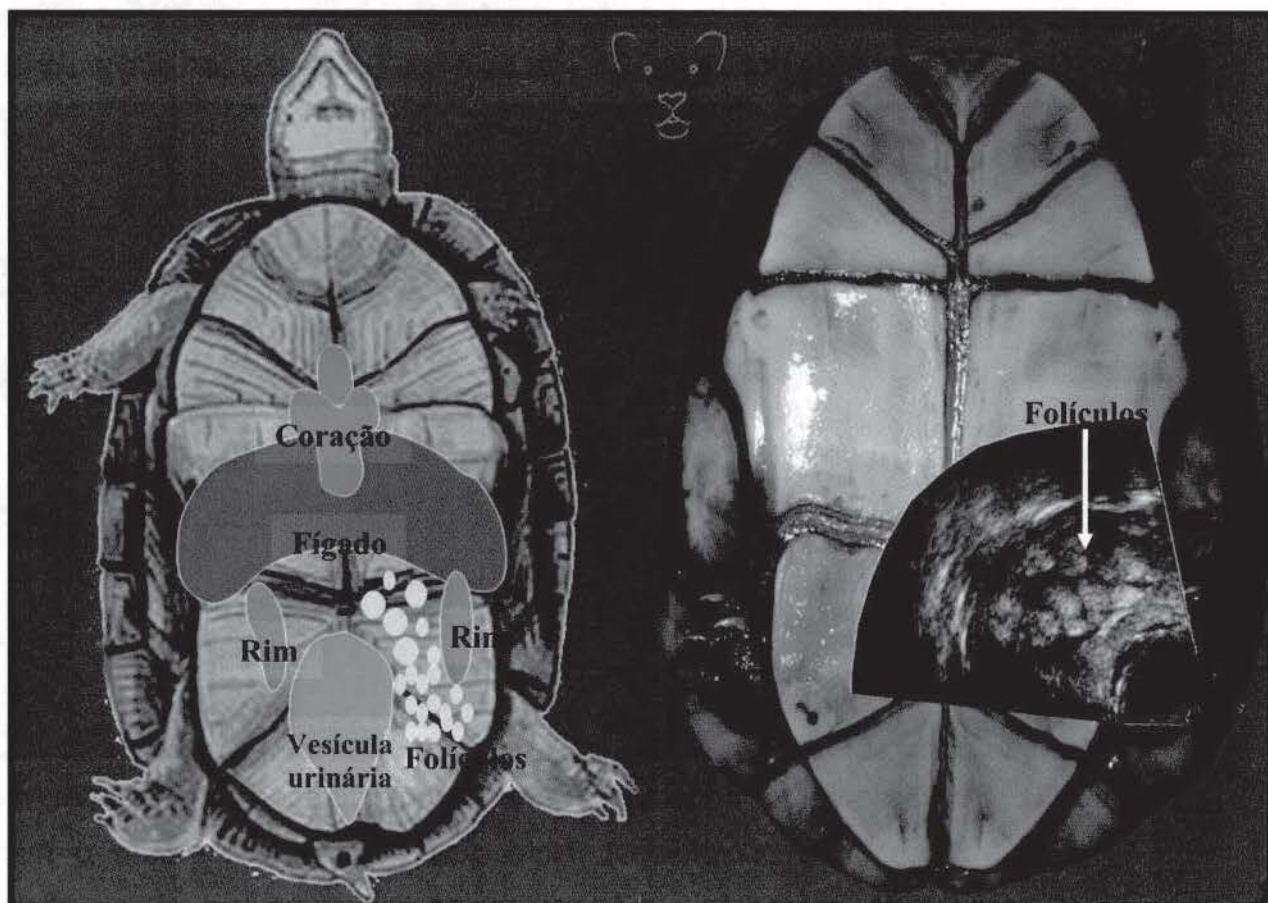


Figura 8: Esquema anatômico dos principais órgãos celomáticos em *Kinosternon scorpioides*.

Buscou-se no estudo ultrassonográfico a avaliação dos ovários, dos ovidutos e dos ovos. Os principais aspectos estudados foram a presença e as características de folículos ovarianos pequenos, médios, grandes ou atrésicos e de ovos. De forma semelhante Ernst (1971) classificou os folículos em grandes (maiores que 15 mm), médios (11 a 14 mm) e pequenos (6 a 10 mm). Os folículos pré-vitelogênicos, tinham menos ecogenicidade que folículos maiores e estavam presentes durante todo o ano e forneceram poucas informações úteis sobre a atividade ovariana por isso não foram contabilizados. Também foram registrado a presença de estruturas como ovo em formação no oviduto e a presença de folículos em atresia no ovário.

Condição do ovário foi determinada dependendo do estado dos folículos ovarianos, as fêmeas foram classificadas como reprodutivamente inativas, pela presença de folículos pré-vitelogênicos ou reprodutivamente ativas, pela presença de folículos vitelogênicos. Fêmeas com folículos foram por sua vez distribuídas em três categorias de acordo com o tamanho do maior folículo do ovário [grandes (maiores que 15mm), médios (11 a 15mm) e pequenos (6 a 10mm)]. Finalmente, todas as fêmeas reprodutivamente ativas foram classificadas em fêmeas de um, dois, três e quatro ciclos foliculares com base no acompanhamento ultrassonográfico da ovulação e postura.

O tempo gasto no exame ultrassonográfico de cada animal variou entre 10 a 20 minutos, dependendo do grau de desenvolvimento ovariano e da quantidade de estruturas a serem avaliadas no exame. Todos os exames foram gravados para minimizar o tempo de contenção dos animais. Não houve necessidade de contenção química dos animais.

#### **4.7. Monitoramento de posturas**

Diariamente era realizada inspeção da areia dos recintos para identificação de ninhos e ovos. Os ninhos encontrados foram identificados quanto à data, lote, localização dentro do recinto, profundidade, números de ovos e a fêmea correspondente.

Os ovos foram medidos com o auxílio de um paquímetro (Paquímetro Mitutoyo, precisão de 0,01mm) e pesados em balança precisão de 0,01g, com auxílio de um copo plástico cheio de areia para o posicionamento do ovo sobre a

balança. Foram registrados o comprimento (CO), a largura (LO) e a massa (MO) dos ovos, além de observações relevantes com relação às posturas e aspecto dos ovos.

#### **4.8. Dados meteorológicos**

Para analisar os efeitos da sazonalidade sobre a dinâmica folicular e o comportamento, dados meteorológicos mensais foram obtidos no Laboratório de Climatologia da EMBRAPA – Amazônia Oriental, Belém/PA. Com base em tais dados, obtiveram-se as médias mensais das variáveis climáticas de temperatura (T °C), umidade (UR %), pluviometria (mm<sup>3</sup>) e brilho solar (hora-luz/dia), para se conhecer a variação climática. Com essa informação determinou-se, mediante o índice de correlação de Pearson, o grau de associação entre o ciclo de postura/mês com as variáveis climáticas.

#### **4.9. Análise estatística**

Os dados foram analisados por meio de uma análise variância (ANOVA). Os dados comportamentais foram registrados como frequências por tempo. No caso de dados que não tinham uma distribuição normal, eles foram submetidos a uma transformação de raiz quadrada antes da análise, para estabilizar a variância. Foram realizados testes de normalidade. Para verificar a homogeneidade entre as variâncias os dados foram submetidos a testes de significância paramétricos e não-paramétricos, além de correlação entre as variáveis. As amostras que apresentaram normalidade nos três testes e homogeneidade entre as variâncias foram então analisadas estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

As análises estatísticas foram feitas com auxílio dos *softwares* Statistica 8 (STATSOFT, 2009) e BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dinâmica folicular de *Kinosternon scorpioides* foi analisada por meio de exames ultrassonográficos seriados, sendo observado desenvolvimento folicular com ovulação, e uma série de desenvolvimento folicular sem ovulação ou processo de regressão ou a associação de ambos.

### 5.1. Dinâmica folicular e formação do ovo

No momento do exame de ultrassom, os folículos ovarianos e ovo(s), quando presente(s), foram visualizados com sucesso em todos os animais. Devido a maior parte do oviduto ser composta por uma parede fina, o que dificulta a sua visualização, este apenas foi visualizado quando havia presença de ovo(s) no interior do lúmen. A maior parte do oviduto dos quelônios é composto por uma parede fina, altamente pregueada, sendo possível somente sua visualização caso tenha ovos presente no lúmen (WILKINSON et al., 2008).

Em fêmeas reprodutivamente ativas, os ovários (folículos em *cluster*) ocupavam grande parte da cavidade celomática. Os ovários localizavam-se bilateralmente, em disposição anterior à cintura pélvica, na região ventro-lateral da cavidade celômica, estendendo-se a partir do fígado para o colo da vesícula urinária. A sua visibilidade, foi dependente do grau de desenvolvimento folicular.

Os folículos foram mais facilmente visualizados quando a bexiga estava repleta de líquido. A visualização adequada dos folículos ovarianos foi influenciada pela fase do ciclo reprodutivo. Fêmeas, fora do ciclo reprodutivo os ovários eram difíceis de ser visualizados. Ovários inativos são geralmente anecoicos e pequenos.

Os folículos vitelogênicos são observados com forma esférica, hiperecoica e homogênea (Figura 9). Folículos pré-vitelogênicos, folículos vitelogênicos, ovulação, ovos em início de formação e totalmente calcificados e folículos atrésicos foram facilmente visualizados. Essas estruturas reprodutivas estão mostradas na Figura 9 e nas imagens macroscópica dos ovários. Estruturas reprodutivas foram observadas em 30 fêmeas, das quais 26 consideradas como ativas e quatro como não-ativas do ponto de vista reprodutivo, sendo que estas apresentaram folículos atrésicos ou pequenos.

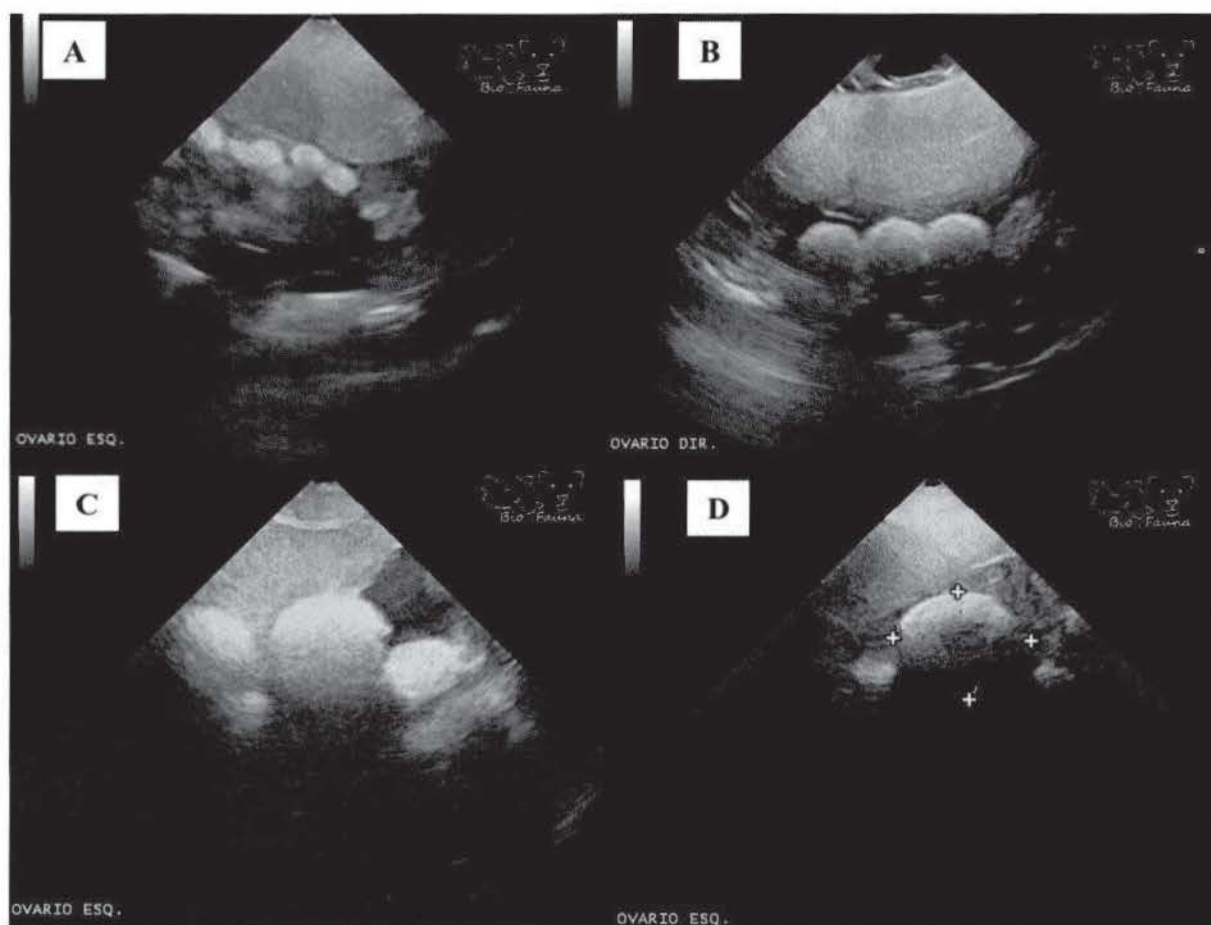


Figura 9. Ultrassonograma de folículos vitelogênicos em diferentes fases de desenvolvimento durante o ciclo reprodutivo de *Kinosternon scorpioides*. (A) folículos pequenos; (B) folículos médios; (C) folículos grandes e (D) folículos pré-ovulatórios.

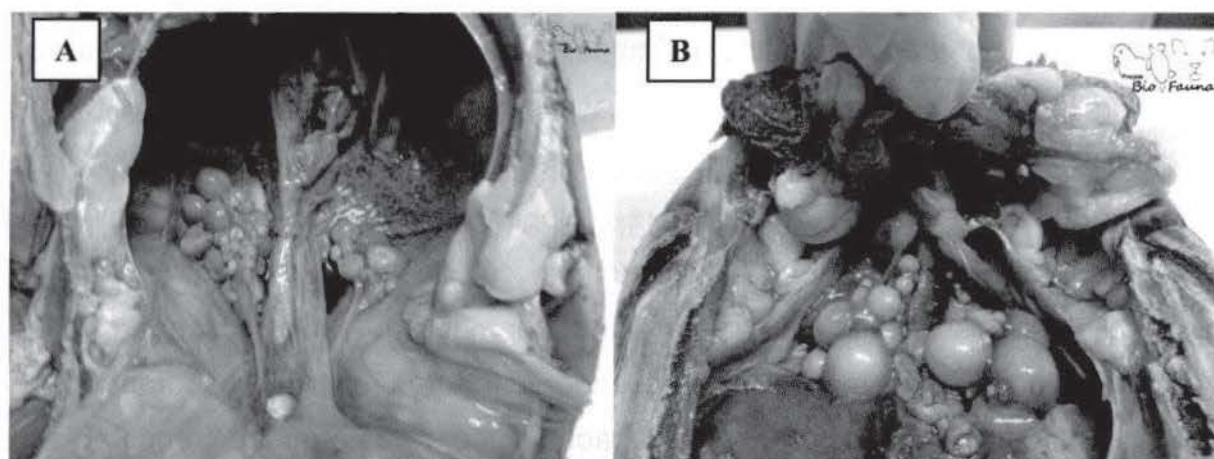


Figura 10. Imagem macroscópica dos ovários de fêmeas de *Kinosternon scorpioides* (A) Folículos pequenos provenientes de fêmeas reprodutivamente inativas (B) Folículos médios provenientes de fêmeas reprodutivamente ativas.

### 5.1.2. Desenvolvimento folicular com ovulação

Em fêmeas com ovários ativos a contagem de folículos maiores é mais precisa do que a contagem de folículos menores. Alguns folículos pequenos ficavam na sombra de folículos maiores ou até mesmo de ovos no oviduto. Por isso a contagem de folículos pequenos não foi utilizada, pela alta variação em exames sucessivos. Devido essa dificuldade somente a contagem de folículos maiores e ovo(s) no(s) oviduto(s) foram considerados para determinar o tamanho da ninhada. Os folículos pequenos e médios foram registrados quanto a presença e ausência.

A ultrassonografia permitiu antever informações acerca da reprodução de *Kinosternon scorpioides*, enfatizando a avaliação do potencial reprodutivo de fêmea, mediante a observação de parâmetros como: o número e tamanho das ninhadas, o qual variou de apenas um a sete ovos (Tabela 2). Também foi possível identificar os animais que realizaram múltiplas posturas em uma única estação, observando-se fêmeas com até quatro posturas, com ninhadas de mesmo tamanho ou de tamanho diferente.

Tabela 2 – Número folículos pré-ovulatórios e de ovos no oviduto, dados biométricos dos ovos determinado por varredura ultrassonográfica da cavidade celomática e número de postura de fêmeas de *Kinosternon scorpioides*.

N. do animal	Ultrassom				Nidificação	
	folículos pré-ovulatórios (n)	Ovos no oviduto (n)	Comprimento ovo (mm)*	Largura ovo (mm)*	N. de posturas (n)	Total de ovos na estação (n)
12	5	5	35,25	19,51	1	5
2021	4	4	42,39	20,05	1	4
0	2	2	28,7	17,65	1	2
33	3	4	38,6	19,8	1	4
48	3	3	40,26	20,23	2	7
75	4	4	40,3	19,6	2	11
121	4	4	35,63	19,87	3	13
55	3	3	40,62	20,75	3	11
15	5	4	39,4	19,93	4	19
17	6	7	40,75	19,35	4	22
Média	3,9	3,9	38,19	19,674	2,2	9,8

Oitenta e seis por cento (86,6%) das fêmeas apresentaram ciclos foliculares encerrando em ovulação, seguido de postura. Nesta variante, os folículos mostraram um crescimento constante, uniforme em aproximadamente em tempo médio de 42,7 dias (18 a 81 dias) (Figura 10).

Os folículos maduros absorvem líquido água antes da ovulação e aumentam ligeiramente em diâmetro alcançando entre 2,5 cm e 3,0 cm (MILLER et al., 2003). Nas fêmeas que não irão ovular novamente os folículos não alcançam o tamanho mínimo ovulatório, dessa forma os folículos apresentam uma regressão gradativa de tamanho. Os diâmetros médios dos folículos que ovularam e dos folículos que não ovularam (sofreram atresia/reabsorção), desde o dia da postura até a ovulação estão apresentados na Figura 11.

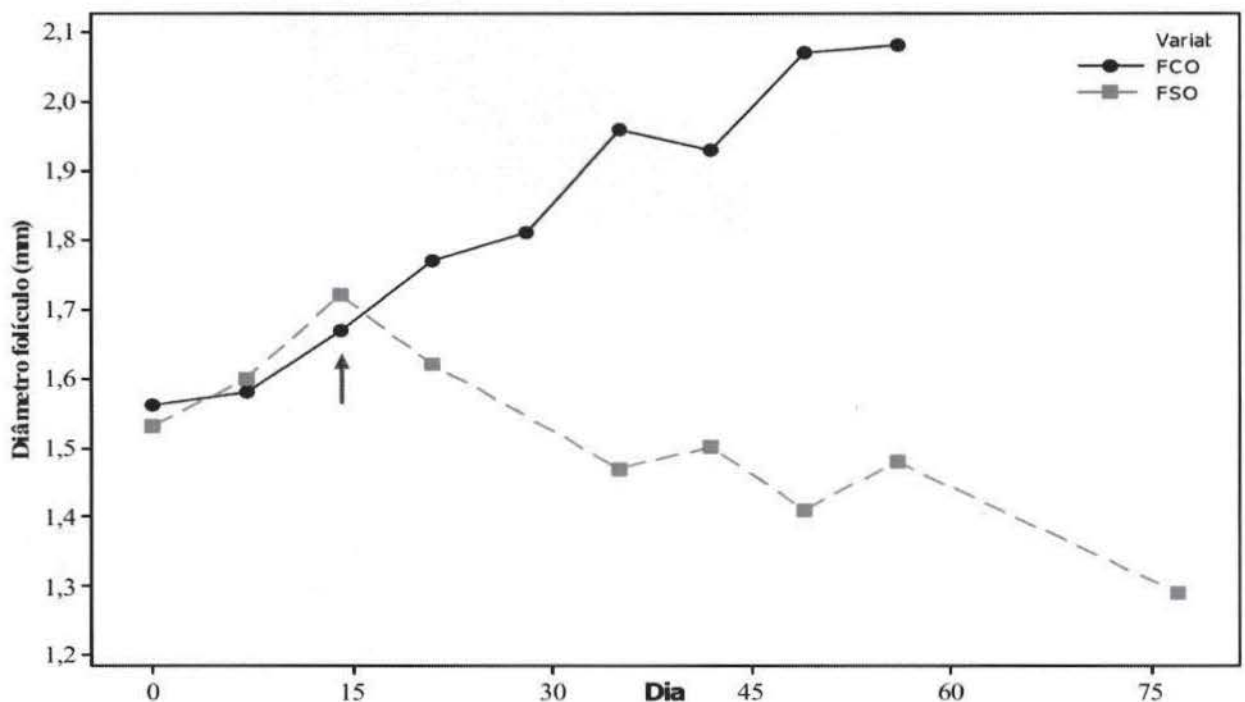


Figura 11 - Dinâmica folicular de *Kinosternon scorpioides*. A seta indica o momento da divergência folicular no crescimento dos folículos com ovulação (FCO) e os folículos sem ovulação (FSO).

A categorização das fases do ciclo reprodutivo feminino observado neste estudo é semelhante ao descrito por Christiansen;Dunham (1972) e Iverson (2010) que descreveram para a espécie quatro fases. Na Fase 1 – folículos pequenos com

início do crescimento folicular; Fase 2 – folículos começaram a crescer a taxa mais rápida do que na fase anterior; Fase 3 - folículos que apresentaram a maior taxa de crescimento, atingindo o tamanho máximo; Fase 4 – ausência de crescimento folicular. Gibbons (1968) constatou que cágados *Chrysemys picta* coletadas em Michigan (EUA) em março continham folículos medindo entre 15-16 mm de diâmetro e que não apresentaram qualquer crescimento até maio, quando os folículos atingiram tamanho ovulatório (cerca de 18 mm). Powell (1967) relatou que folículos ovarianos de tartarugas *Chrysemys picta* coletadas de Nova Escócia tornaram-se plenamente maduro durante o outono e quando as tartarugas surgiram na primavera eles estavam prontos para ovular.

### 5.1.3. Ovulação e a formação do ovo

Óvulos liberados no oviduto durante o processo de ovulação, depois da ruptura da parede do folículo, tem o formato esferóide e ecogenicidade uniforme, cercados por uma camada fina e anecoica de albumina que foi secretada dentro de 24 horas (Figura 12). Esta fase não foi registrada em todos os animais devido ao curto intervalo de tempo entre a ovulação e depósito de albumina. Após 24-36 horas as membranas do ovo foram estabelecidas, percebendo-se variação no formato da gema (mais ou menos esférica). Ou seja, com o avanço do desenvolvimento, uma camada mais espessa de albumina e a membrana da casca do ovo tornam-se aparentes, formando uma imagem anecóica (camadas de albumina) cercada por um aro hiperecótico (casca do ovo), a aparência esférica é perdida e as estruturas se tornam ovoides à medida que aumenta o grau de calcificação, período em que a casca do ovo se torna cada vez mais espessa, causando um sobreamento acústico (Figura 11). Este processo resultou no decréscimo de visualização da gema e do albumem do ovo. Os vários óvulos no oviduto apresentaram membranas de ovo entre 24-36 horas pós-ovulação, sendo visualizados ovos e óvulos de casca mole (cercados apenas com albumina) lado a lado.

Entre os dias dois e sete, os ovos apresentaram formato alongado, com um aro ecogênico (casca) e a gema alongada com uma camada de albumina anecóica. A casca com o passar do tempo fica cada vez mais grossa (mineralização progressiva) e ecogênica. O endurecimento progressivo da casca do ovo durante



este tempo foi confirmado por radiografias (Figura 13) e palpação dos ovos através da região pré-femoral. Após 10-15 dias a imagem da casca do ovo não permitiu mais a visualização da gema e da albumina (sombra acústica) (Figura 13). Ao mover o transdutor em diferentes ângulos, foi possível medir o comprimento e largura dos ovos, bem como o diâmetro da gema. No entanto, devido ao espaço reduzido não foi possível medir o comprimento de todos os ovos.

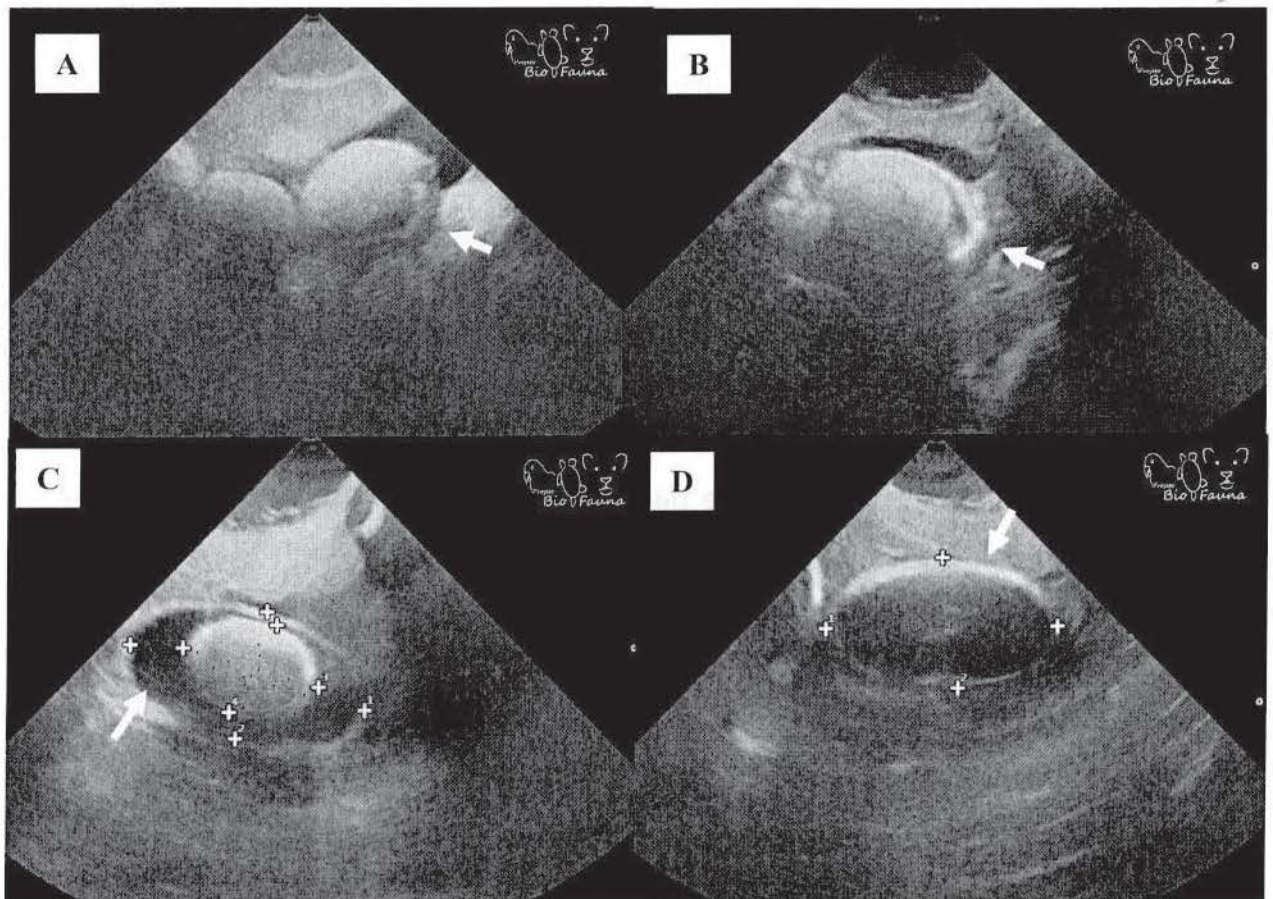


Figura 12: Imagens de ultrassonográficas do ovário e do oviduto de *Kinosternon scorpioides*. (A) Folículos pré-ovulatórios – 0 horas; (B) Ovo recente no oviduto – 24 horas; (C) Ovo início da calcificação (gema e albumen ainda visível) - 2 dias; (D) Ovo com casca totalmente calcificada – 10 dias.

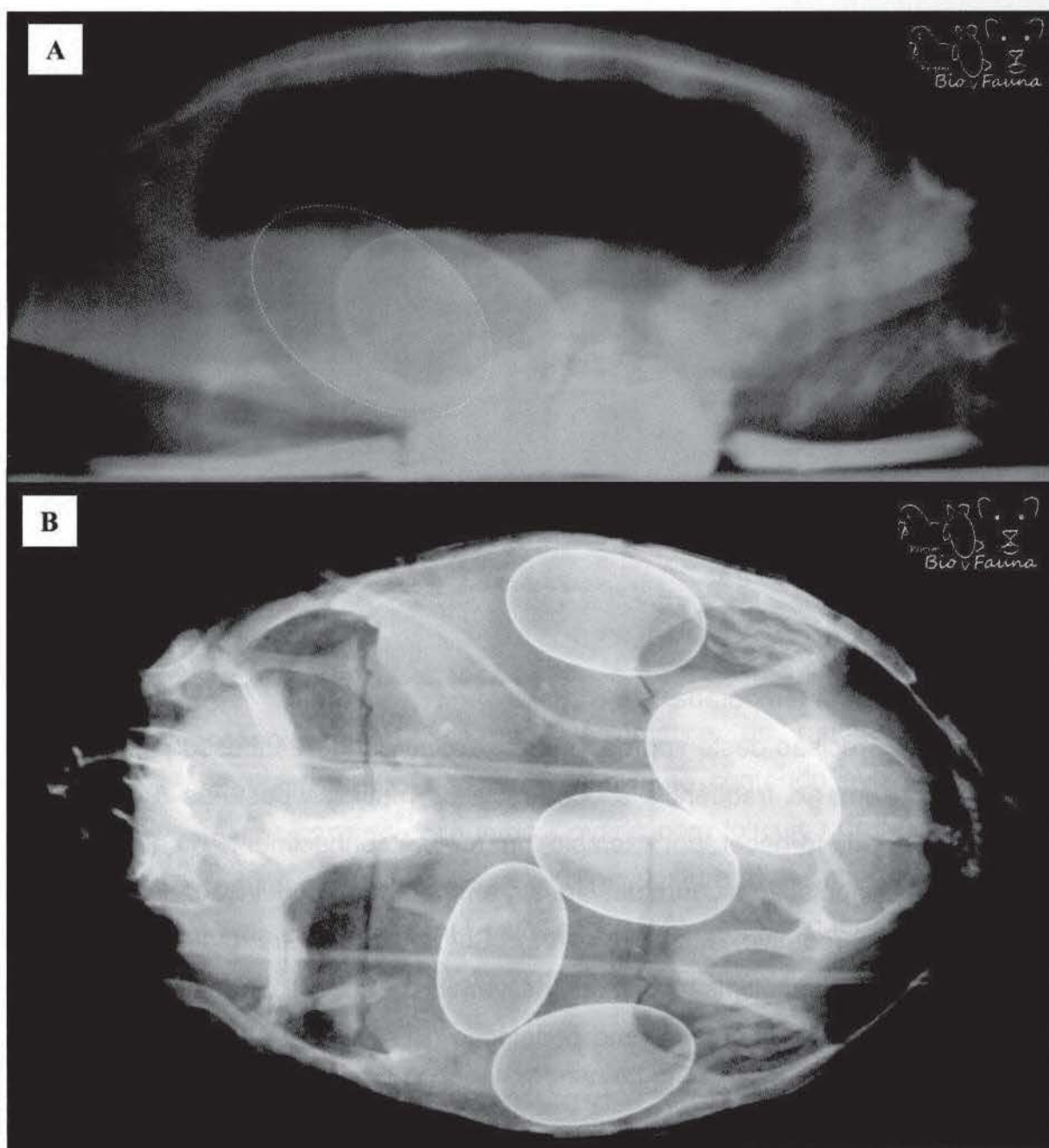


Figura 13. Imagem radiográfica dos ovos de muçuãs (*Kinosternon scorpioides*) (A) 15 dias após a ovulação; e (B) 30 dias após a ovulação.

#### 5.1.4. Múltiplas posturas

Através dos exames ultrassonográficos foi possível prever o potencial da fêmea em realizar múltipla(s) postura(s) anual(is), entre uma e quatro. Em fêmeas com ovo(s) no oviduto conseguimos verificar a presença de folículos pré-ovulatórios.

Múltiplas posturas foram registradas em uma única estação, com ninhadas de mesmo tamanho ou de tamanho diferente.

Foi possível identificar fêmeas que realizariam fazer múltiplas posturas pelas estruturas ovarianas observadas, presença de ovos e cluster de folículos em contínuo desenvolvimento.

A Figura 14 representa a imagem do ciclo reprodutivo de uma fêmea que fez quatro posturas ao ano. Durante a calcificação dos ovos, grandes folículos ovarianos continuam em crescimento até a postura dos ovos já calcificados e a ovulação, que é subsequente a esta. No caso de fêmeas que fizeram múltiplas posturas foram verificados ovos e ovários mais ativos, com presença de folículos grandes ( $1,68 \pm 0,18$ cm) em crescimento contínuo até alcançar o tamanho de folículos pré-ovulatórios. Sendo assim, é possível estimar precocemente fêmeas que irão fazer múltiplas posturas ao ano, cujos folículos ainda encontram-se em estágio inicial de desenvolvimento, bem como ovários de fêmeas que estão encerrando a atividade reprodutiva na temporada.

A precisão deste tipo de informação, utilizando a ultrassonografia como meio de se estimar a frequência e ocorrência de múltiplas posturas e o intervalo entre elas, poderia fornecer, por exemplo, um melhor conhecimento do número de fêmeas em uma população fecundadas anualmente em uma população, produção filhotes e esforço reprodutivo (MILLER, 1997). Se um parâmetro tão importante como a frequência de múltiplas posturas estiver incorreto, isso poderia levar a uma má interpretação do status de uma população (BLANCO et al., 2012). A subestimativa desses valores pode afetar as estratégias de conservação por superestimar o número de fêmeas em uma população, com base no número de ninhadas (ALVARADO-DIAZ et al., 2003; BLANCO et al., 2012). Além disso, os exames radiográficos apenas registram presença e ausência de ovos, não permitindo avaliação da dinâmica folicular e da possibilidade de múltiplas posturas.

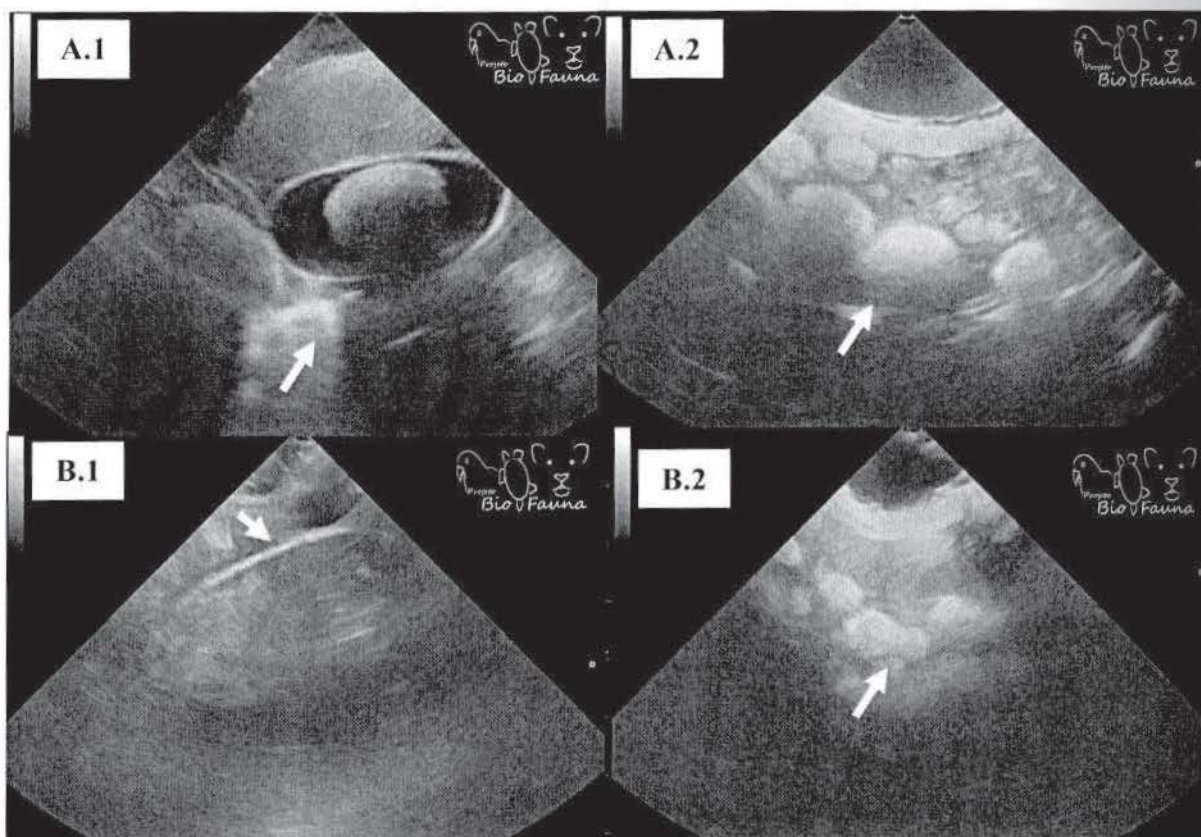


Figura 14: Ultrassonograma da cavidade celomática de muçã (*Kinosternon scorpioides*). A. 1) Lado direito - oviduto contendo ovo em início de formação A.2) Lado esquerdo - ovário com folículos grandes e médios concomitantes indicativos de múltipla postura. B.1) Lado direito - oviduto contendo ovo totalmente calcificado. B.2) Lado esquerdo - ovário com folículos pequenos indicativos de final de ciclo.

Esse conhecimento pode ser determinante para o estabelecimento de manejo reprodutivo da espécie em cativeiro, por exemplo, determinar a melhor época para o acasalamento, a escolha de matrizes, o descarte de animais, a seleção de animais para programas de melhoramento genético do plantel e etc.

Para *Kinosternon scorpioides* registramos um intervalo entre posturas variando de 1 a 2,5 meses. O tempo de retenção dos ovos entre as posturas variou considerando-se uma mesma estação reprodutiva, assim, conforme a época de reprodução progrediu, ovos calcificados tenderam a permanecer por períodos mais curtos nas tubas uterinas entre a primeira e terceira postura. O trânsito do ovo no oviduto foi em média 6,8 semanas (variação 4-16 semanas), 3,4 semanas (variação

de 3-8 semanas) para duas posturas, 3,75 semanas (variação de 3-6 semanas) para três posturas, 4 semanas (variação 3 e 6 semanas) para a quarta postura. Goode (1994) relatou intervalos mínimos de 32 e 35 dias. Lardie (1983) registrou um intervalo entre posturas de 51 dias para uma fêmea *K. scorpioides cruentatum* e Schilde (2001) relatou um período de 4 semanas *K. scorpioides albogulare*. Hofer (1999) relata que o intervalo entre posturas em cativeiro para *K. scorpioides albogulare* em média foi de 1-2 meses. No entanto, algumas espécies podem reter ovos por períodos prolongados. *Deirochelys reticularia* pode manter ovos no oviduto por 4 a 6,5 meses em vida livre (BUHLMANN et al., 1995), e *Chelodina steindachneri* podem reter ovos por pelo menos quatro meses (KUCHLING, 1999). Os autores relacionaram o tempo de retenção do ovo no oviduto com a qualidade do ambiente em que o animal está exposto. Em *K. scorpioides* o tempo no oviduto tem maior relação com o número de posturas que a fêmea irá realizar.

A data da ovulação para a primeira postura do ano influenciou fecundidade anual; o número de ovos produzidos foi inversamente relacionado com a data de início da reprodução ( $r = -0,69$ ,  $P = 0,003$ ). Além disso, a fecundidade anual mostrou uma correlação negativa com o tempo médio de retenção do ovo ( $r = -0,84$ ,  $P < 0,001$ ). O efeito do tamanho do corpo do animal na produção anual de ovos não foi significativo.

A duração da fase de nidificação foi positivamente correlacionada com o número de posturas realizadas. Bertolero et al. (2007) relatam que somente as fêmeas de *Testudo hermanni hermanni* que fizeram posturas no começo da estação reprodutiva foram capazes de fazer múltiplas posturas ao ano. Além disso, as fêmeas maiores tenderam a fazer as primeiras posturas ao início da época reprodutiva, em comparação às fêmeas menores, e não fazem postura no final da estação. Em *Kinosternon* observou-se neste trabalho que as fêmeas que fizeram múltiplas posturas concentraram suas primeiras posturas no começo da estação reprodutiva (Figura 15). Houve correlação negativa entre datas e o número total de posturas ( $r = -0,68$ ,  $P 0,001$ ). Assim, fêmeas que fizeram posturas mais cedo fizeram múltiplas posturas.

As diferenças observadas na duração da estação reprodutiva entre os anos, relatadas por Silva (2011), variando de 5 a 10 meses pode ser explicada pelas

diferenças na frequência de fêmeas que produziram uma, duas, três ou quatro posturas anuais, uma vez que encontramos somente fêmeas fazendo múltiplas posturas nos três últimos meses do ano (Figura 15).

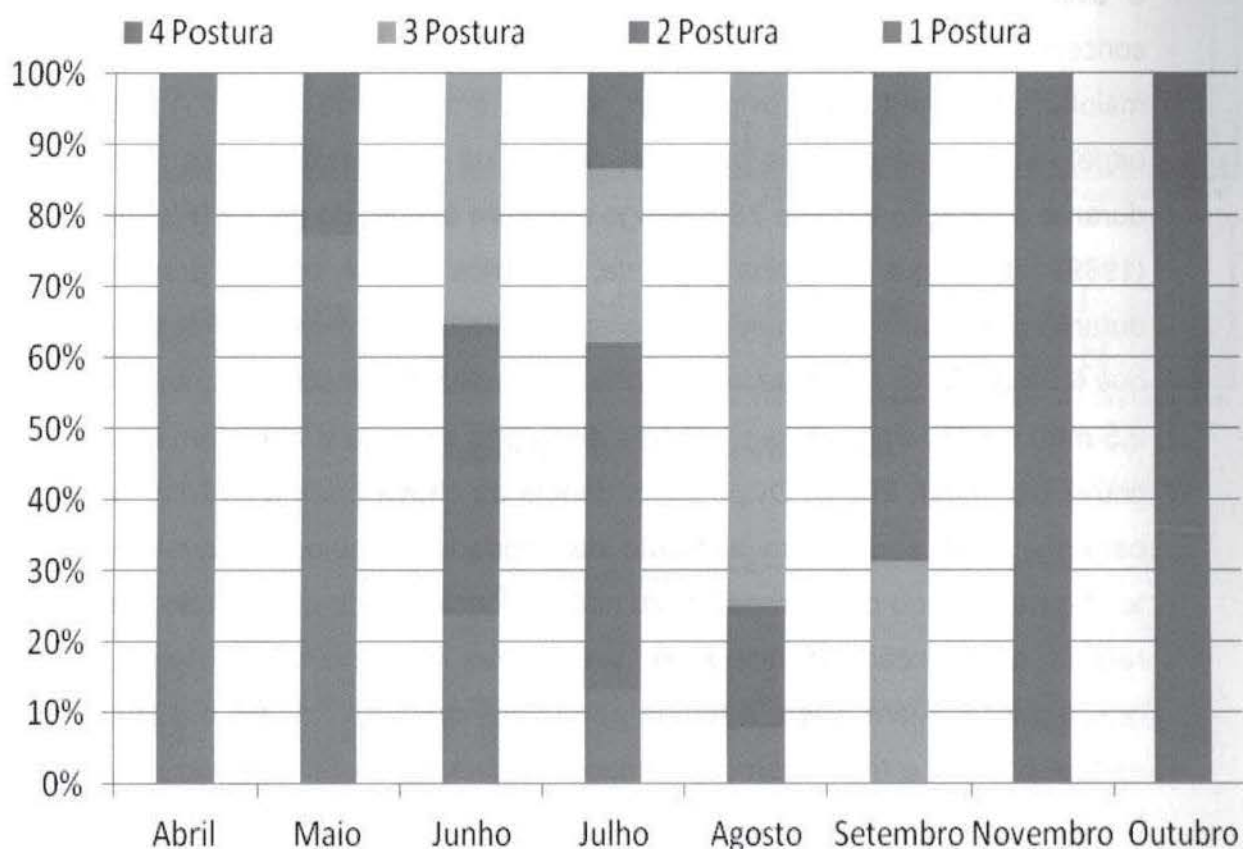


Figura 15. Distribuição percentual de posturas únicas (n=1) ou múltiplas (n= 2 a 4) ao longo da estação reprodutiva de muçã (*Kinosternon scorpioides*).

Ao fazer múltiplas posturas as fêmeas podem ter um maior sucesso reprodutivo, pois dividem seus investimentos através do espaço e do tempo, potencialmente reduzindo riscos de predação e de exposição de ovos a diferentes temperaturas e substratos para incubação. Tais estratégias dão à espécie grande flexibilidade em seu padrão reprodutivo. O padrão reprodutivo de *Kinosternon scorpioides* pode ser o motivo da espécie ser abundante em locais onde outros taxa de quelônios têm a população reduzida. *Chersina angulata* tem um padrão reprodutivo semelhante ao encontrado no estudo para *Kinosternon sp.* Hofmeyr (2004) atribui a alta abundância desta espécie, em comparação com outras espécies

de quelônios na África do Sul, a sua maior flexibilidade a ambientes e a múltiplas posturas.

Temperatura (média, máxima e mínima) e umidade relativa não diferiram entre dias de oviposição. Efeitos da precipitação sobre o tempo de retenção de ovos e oviposição foi bastante complexo. Embora as posturas tenham tido maior concentração durante a época seca, eventos de chuva estimularam as oviposição; a maioria dos eventos de oviposição ocorreu em dias de chuva. A chuva teve um papel estimulante para as posturas, apesar da concentração das mesmas ocorrer durante a estação seca, e 78,6% logo após um evento de chuva (Figura 15). Branch (1989) relatou que *Chersina angulata*, na África do Sul, onde a precipitação ocorre durante todo o ano, põem seus ovos após eventos de chuva. Hofmeyr (2004) relatou que fêmeas de *C. angulata* fazem 22% das posturas em dias de chuva leve (média = 2,5 mm) e 53% ovipositaram até três dias após a chuva e 78% com uma semana de chuva (Hofmeyr, 2004). Oviposição, depois da chuva pode ter várias vantagens em períodos mais secos. Um aumento da umidade do solo, provavelmente, reduz o tempo necessário para preparar um ninho. Condições de solo úmido também podem reduzir a detecção do ninho por predadores e ajudam a proteger os ovos da desidratação. Além disso, a fêmea pode ter a oportunidade de hidratação antes ou após a postura e maior conforto térmico durante a mesma que pode demorar até 30 horas.

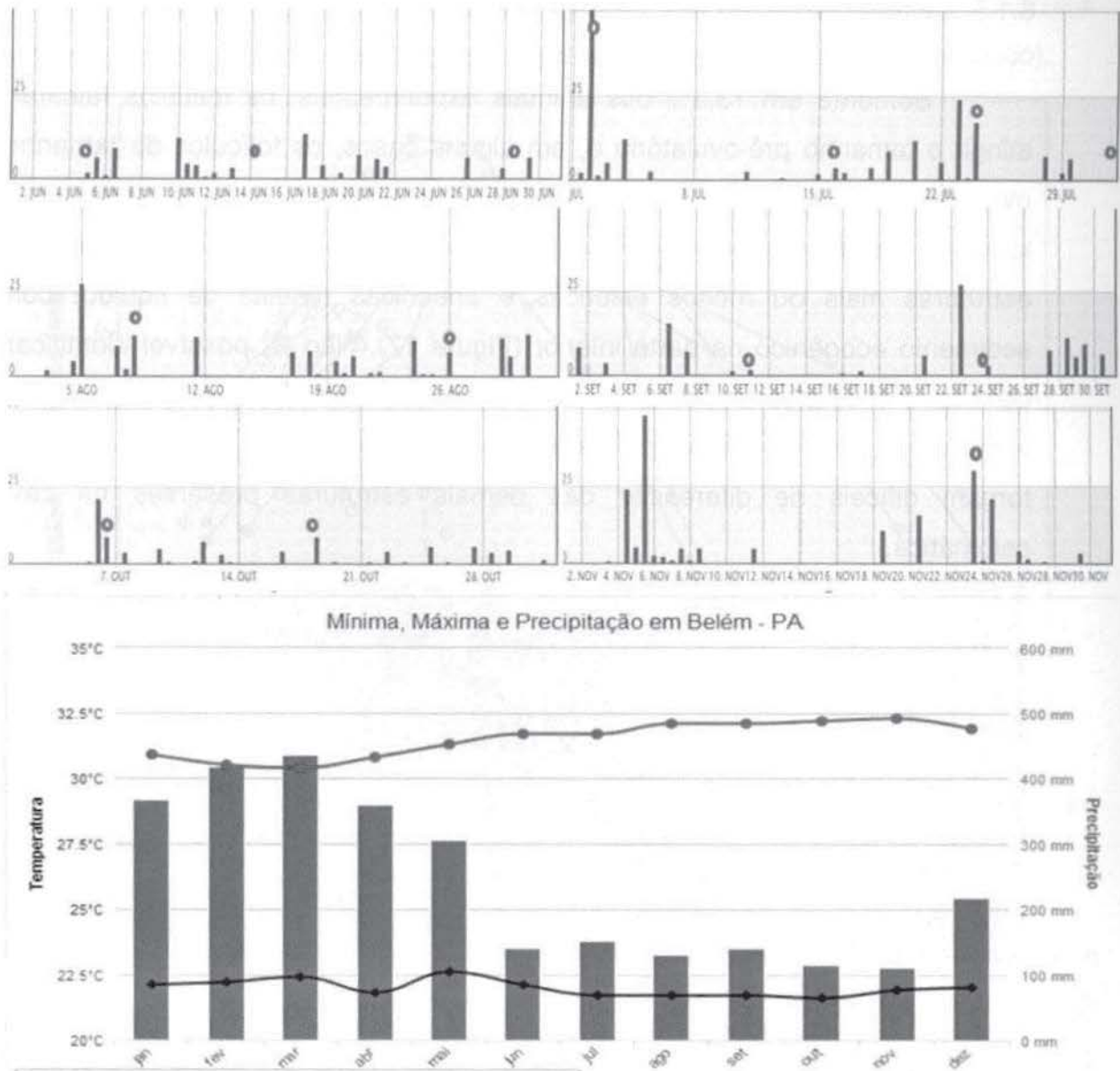


Figura 16: A) Representação gráfica da pluviometria do período seco (Maio – Novembro). Pontos em vermelhos no gráfico representam posturas realizadas durante o período seco. B) Precipitação pluviométrica e média de temperaturas mensais (mínimo e máximo) durante a estação reprodutiva. (Embrapa, 2013).

Durante a estação de nidificação as fêmeas começaram a ser vistas com maior frequência na área seca do recinto, entre 2-10 dias antes das posturas.

### 5.1.5. Desenvolvimento folicular sem ovulação

Somente em 13,3% dos animais experimentais, os folículos falharam em atingir o tamanho pré-ovulatório e, em alguns casos, os folículos de tamanho pré-ovulatório não ovularam. Estes folículos tornaram-se atrésicos, diminuindo de tamanho até desaparecerem. Folículos atrésicos têm imagem ultrassonográfica de estruturas mais ou menos esféricas e anecóicas (cheias de líquido) com um sedimento ecogênico na parte inferior (Figura 17). Não foi possível identificar com certeza a presença de corpo lúteo ou de cicatrizes de ovulação por meio de varredura ultrassonográfica, pois ambas as estruturas são anecogênicas, o que as tornam difíceis de diferenciar das demais estruturas presentes na cavidade celomática.

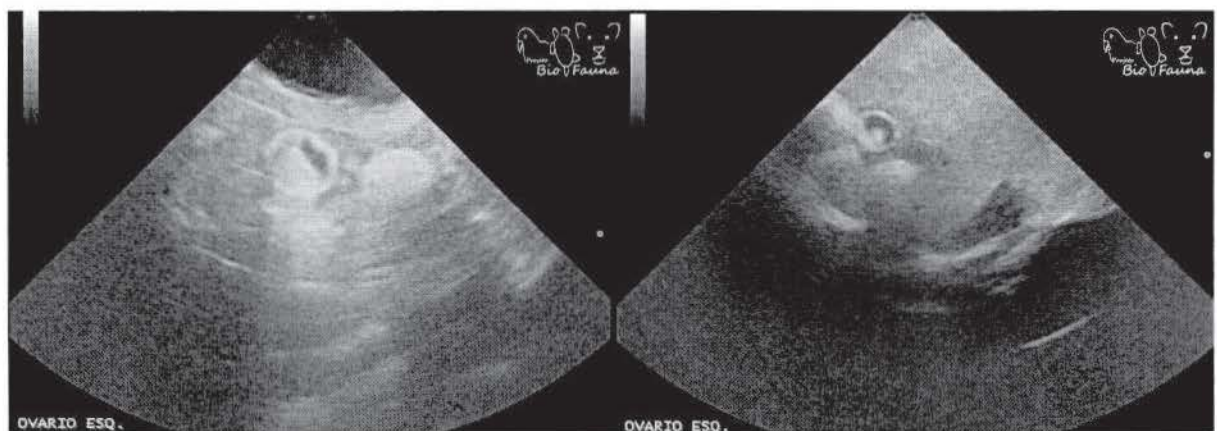


Figura 17. Ultrassonograma de folículos atrésicos de muçua (*Kinosternon scorpioides*).

Alguns folículos, não conseguiram ovular e começaram um extenso processo de involução. Verificamos que a atresia pode ocorrer em qualquer fase de crescimento folicular. Folículos atrésicos em números e tamanhos variados, inclusive semelhantes aos vitelogênicos, foram encontrados ao longo do ano.

Foram observados dois processos de atresia diferentes entre ciclos anovulatórios. No ciclo curto onde os folículos cresceram deficientemente, atingindo um diâmetro médio de 1,05 ( $\pm$  0,07) cm (ciclo curto). Posteriormente, sofreram regressão. Durante todo o processo de regressão, os folículos se apresentaram com

aparência cística e característica anecogênica. No segundo ciclo, os folículos tinham tamanho folicular semelhante aos pré-ovulatórios (Figura 18) (ciclo longo).

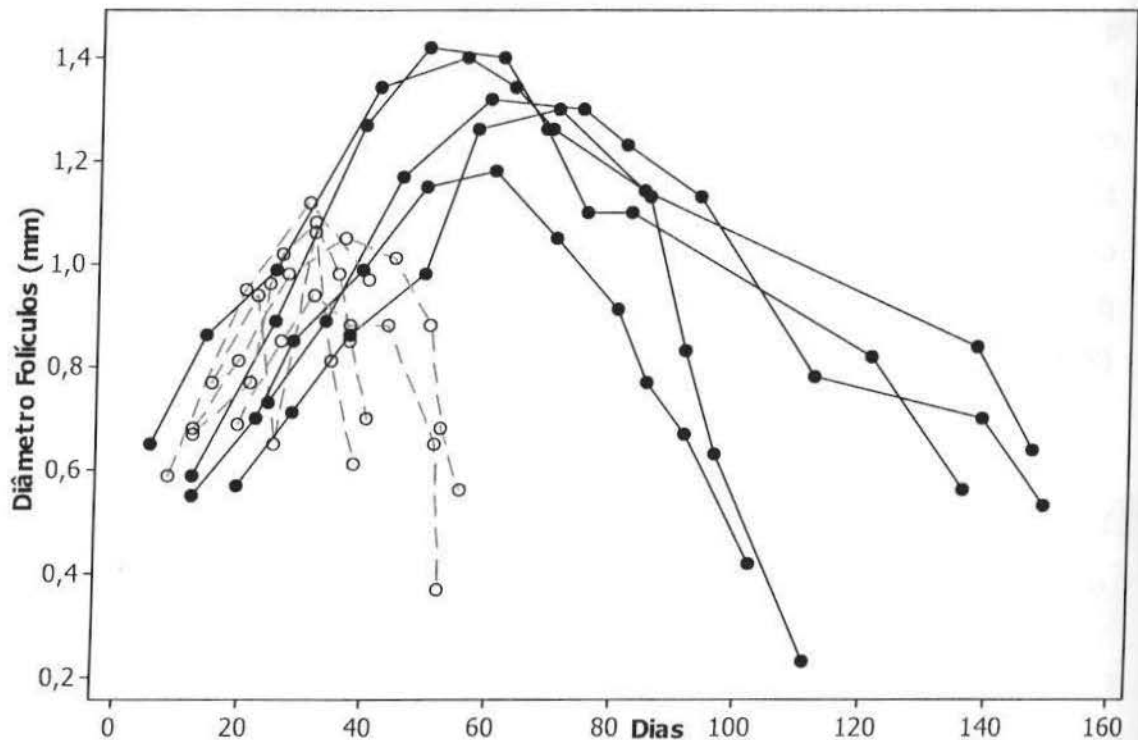


Figura 18. Ciclos anovulatórios de muçua (*Kinosternon scorpioides*). Ciclo curto (○) e ciclo longo (●).

O grau de regressão ovariana entre ciclos consecutivos é muito variável entre as populações de quelônios (OWENS, 1980; LIMPUS, 1985; GURAYA, 1989; ROSTAL et al., 1996; 1997; HAMANN et al., 2002). Segundo Wang et al. (2013), durante o desenvolvimento folicular, poucos oócitos são ovulados, enquanto a maioria degenera por atresia. A atresia pode ocorrer em todas as fases do desenvolvimento folicular de quelônios, geralmente no final da estação reprodutiva (Wang et al., 2013). Folículos atrésicos desempenham um papel importante no controle do tamanho da ninhada e na produção de esteróides (SAIDAPUR, 1978 E MÉNDEZ-DE et al., 1993).

Os quelônios potencialmente reutilizam e armazenam a energia reabsorvendo a gema do oócito o que pode ajudar a sobrevivência em condições desfavoráveis (KUCHLINGAND; BRADSHAW, 1993; ROSTAL, 2007).

Atresia de folículos ovarianos maduros poderia fornecer uma importante fonte de lipídios para a manutenção metabólica. Kuchling e Bradshaw (1993) sugeriram que em *Pseudemydura umbrina*, a atresia de folículos maduros é um importante mecanismo para poupar energia durante períodos de condições desfavoráveis. A concentração total de lipídios no tecido adiposo de *C. mydas* fêmeas com folículos atrésicos é menor que a concentração de lipídios totais do tecido adiposo em fêmeas que ovularam. O benefício para a fêmea com folículos para atresia é que os lipídios podem ser reabsorvidos e reaproveitados em outras necessidades metabólicas (KUCHLING;BRADSHAW, 1993).

Ou seja, a atresia de folículos pode ser uma importante reserva residual de lipídios que podem ser utilizados para suplementar o esgotamento imprevisto de reservas de lipídios, tais como o tecido adiposo. Sendo assim, é interessante propor o monitoramento de folículos atrésicos como forma de monitoramento de fêmeas em cativeiro ou vida livre. Investigar, especialmente se quelônios que migram grandes distâncias, sofrem com períodos longos de estiagem ou que são submetidos a alimentação inadequada têm maiores taxas de atresia folicular para compensar a falta de nutrientes necessários para manutenção do animal o que levaria a fêmea a ter maior taxa de folículos atrésicos, devido a reabsorção de uma fonte de nutrientes. Dessa forma, verificamos que fêmeas que ficaram doentes devido a lesões provocadas por machos tiveram seus folículos entrando em atresia durante o tratamento.

## **5.2. Comportamentos sociais e reprodutivos de muçua (*Kinosternon scorpioides*) em cativeiro.**

Foram relacionados os comportamentos de machos e fêmeas com os achados ultrassonográficos do monitoramento dos ovários e ovidutos das fêmeas.

### **5.2.1. Comportamento Masculino**

Devido a localização anatômica dos testículos não foi possível o monitoramento do mesmo pelo uso da ultrassonografia; Sendo assim, foi feito o acompanhamento comportamental reprodutivo dos machos na determinação de

hierarquia de dominância e na relação do comportamento reprodutivo com o estado do ciclo ovariano apresentado pelas fêmeas durante as interações reprodutivas.

A Figura 19 mostra as interações agonísticas entre os machos para o estabelecimento da hierarquia de dominância dentro do grupo.

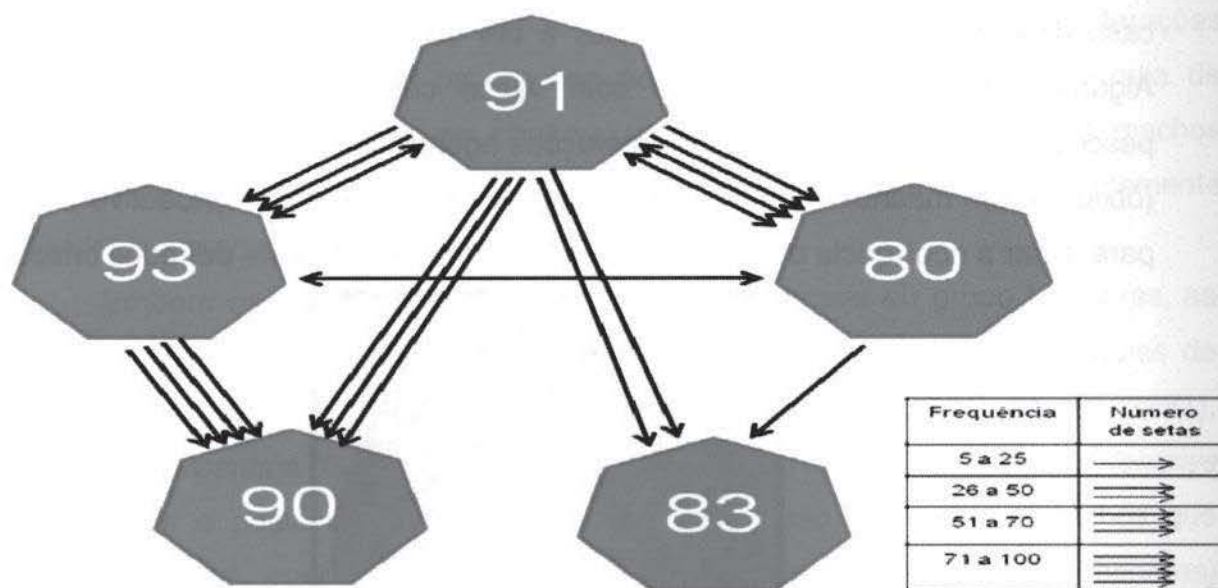


Figura 19. Sociograma indicando as interações agonísticas entre os machos de *Kinosternon scorpioides*. A direção das setas vai do executor para o receptor da interação enquanto o número de setas é proporcional a frequência de interações registradas.

Em cativeiro, 60% dos machos apresentaram comportamento dominante marcando tanto a água como o solo de seus territórios. Por meio do comportamento agonístico, protegeram ativamente seu harém em relação aos outros machos do plantel. Interações agressivas foram observadas principalmente durante o período de acasalamento. A hierarquia em cativeiro foi estabelecida ao início da estação reprodutiva. Quando outros machos tentavam adentrar na área alagada do recinto, um ou mais machos assumiam o comportamento de perseguição, desferindo mordidas na parte posterior da carapaça, membros ou cauda. O macho perseguido pode assumir o comportamento de enfrentamento, posicionando-se de frente, ou tenta fugir das investidas do dominante, deixando a área alagada. Essas disputas geralmente provocam lesões que podem resultar na morte do animal.

O comportamento agonístico entre macho-macho foi a principal causa de lesões e de óbitos dos animais em cativeiro (Figura 20). Puderam ser observadas lesões pericloacais, às vezes muito profundas, com abundância de tecido necrótico,

tumefações e secreções na margem da cloaca devido a disputas com outros indivíduos do mesmo sexo, o que justifica a alta incidência de lesões traumáticas na região da cauda em indivíduos masculinos utilizados nesse trabalho. As lesões podem impossibilitar o macho de reproduzir-se, caso localizem-se na cauda. E, em caso de lesões severas, podem evoluir a um quadro de septicemia generalizada. Alguns animais apresentaram-se com vários cortes profundos nos membros, pescoço e cauda, provocados por interações agonísticas, fato que provocou a perda (óbito) de um macho. Portanto, é importante o monitoramento reprodutivo do plantel para evitar a ocorrência de lesões, retirando os machos durante períodos críticos.

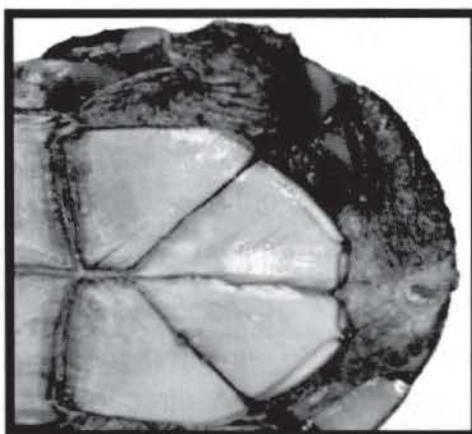


Figura 20. Lesão ulcerada em cauda de muçã (*Kinosternon scorpioides*) após interações agonísticas.

O comportamento agonístico apresentado pela espécie é determinante de uma maneira geral, para regular a ordem de acesso ao alimento e, principalmente, às fêmeas. A hierarquia social em *Podocnemis erythrocephala* é pela superioridade nas reuniões agonísticas e a hierarquia estabelecida depois desse contato é determinante para o acesso à comida, cópula ou lugares de descanso (SCHINEIDER et al., 2010).

SCHINEIDER et al. (2010) relataram que o comportamento agonístico é comum em período reprodutivo, mas pode acontecer ao longo do ano, por disputa por locais de descanso e comida. Os comportamentos agonísticos observados entre os machos de *Kinosternon scorpioides*, durante o estudo, foi acirrado nos períodos inicial e no final da estação reprodutiva. Com o passar do tempo de convívio no mesmo lote essas disputas estabilizam, ficando claramente marcada a hierarquia social dentro do lote. Nesse caso, machos subordinados são totalmente excluídos do

convívio com as fêmeas, ficando limitados apenas à área seca do recinto. Qualquer tentativa de chegar perto da água faz com que sejam atacados pelo macho dominante. Mas a dominância não é exercida por apenas um macho, durante as estações reprodutivas foram observados vários machos perseguindo fêmeas diferentes ou até mesmo perseguindo a mesma fêmea. Analisando as interações agonísticas, verifica-se que os machos adultos estabelecem uma hierarquia de dominância não-linear, não se observa uma hierarquia clara entre os machos dominantes, mas sim uma interação baseada em tolerância, já que frequentemente são vistos em grupos em convívio com as fêmeas.

Embora os quelônios não exibam ligações parentais ou grupo familiares, as organizações sociais existem em algumas espécies. Por exemplo, hierarquias de dominância foram descritas em *Gopherus agassizii* (MCCRAE et al., 1981), *Chelydra serpentina* (GALBRAITH et al., 1993; MCCRAE et al., 1981) e *Clemmys insculpta*, e o posto masculino pode afetar o sucesso reprodutivo. Machos que constantemente ganham lutas contra outros machos (geralmente menores) desfrutam de uma hierarquia de dominância superior e maior acesso a cópulas (KAUFMANN, 1992). Testes de paternidade mostraram que os machos que são dominantes têm maior número de filhotes que os subordinados (GALBRAITH, 1991). Os machos dominantes de *Kinosternon sp.* têm maior frequência de cópulas significativamente maior que os subordinados ( $p < 0,05$ ). Apenas uma vez verificamos um macho subordinado copulando com fêmea. Esse evento ocorreu no momento em que todos os outros machos dominantes estavam interagindo com fêmeas.

Os machos de alguns cágados de água doce podem discriminar sinais químicos de membros da mesma espécie na água e usar essa informação para evitar encontros e interações agonísticas com outros machos (POSCHADEL et al., 2006; POLO-CAVIA et al., 2009; IBÁÑEZ et al., 2012). Cágados *Mauremys leprosa* são capazes de reconhecer várias características de potenciais adversários, como o tamanho do corpo, por meio de substâncias químicas liberadas por estes na água (IBÁÑEZ et al., 2012). Com base nos resultados das observações, pôde-se verificar que machos subordinados de *Kinosternon scorpioides* são capazes de identificar a presença de machos dominantes na água, passando significativamente menos

tempo nesse local ou mesmo evitando-o ( $P = 0,03$ ) (Tabela 3). Além disso, a comparação estatística da massa corpórea de machos dominantes e subordinados no final da estação reprodutiva demonstrou existir diferença significativa entre elas. Essa diferença provavelmente está relacionada à defesa dos machos dominantes com relação ao território e às fêmeas, como a alimentação era fornecida exclusivamente na água, os machos subordinados teriam maior dificuldade em se alimentar. Esse fato é importante para nortear futuras construções de recintos ou protocolos para reprodução que possibilitem que os animais consigam ter acesso ao alimento em qualquer ocasião.

Tabela 3. Dados biométricos comparativos entre machos dominantes e subordinados de muçua (*Kinosternon scorpioides*).

Variáveis	Animais	
	Dominantes	Subordinados
Tempo dentro da água (1h observação)	55,75±2,6 <sup>a</sup>	16,02±1,5 <sup>b</sup>
Massa corpórea (g)	484,71±42,9 <sup>a</sup>	411,9± 20,7 <sup>b</sup>

Valores expressos em média e desvio padrão ( $\pm$  DP). Dentro de cada variável, médias seguidas de letra diferentes são significativamente diferentes (5%).

### 5.2.2. Comportamento reprodutivo

O acasalamento é um comportamento estereotipado, dividido em diferentes fases que são: I) Olfação: procura por fêmeas, os machos cheiram a cloaca de outro indivíduo; II) Perseguição: os animais movem-se rapidamente atrás de outro indivíduo na tentativa de monta; III) Pré-cópula: geralmente inicia-se quando a fêmea para de fugir do macho e este consegue manter-se sobre a fêmea; IV) Cópula: quando ocorre a aproximação das cloacas e o pênis é inserido na cloaca da fêmea (Figura 21). O comportamento descrito do acasalamento se mostrou semelhante ao de *Podocnemis erythrocephala* observados por Schneider et al. (2010). No presente estudo verificou-se que nem todas as fases ocorrem, podendo em determinadas situações não haver a olfação e nem perseguição à fêmea.

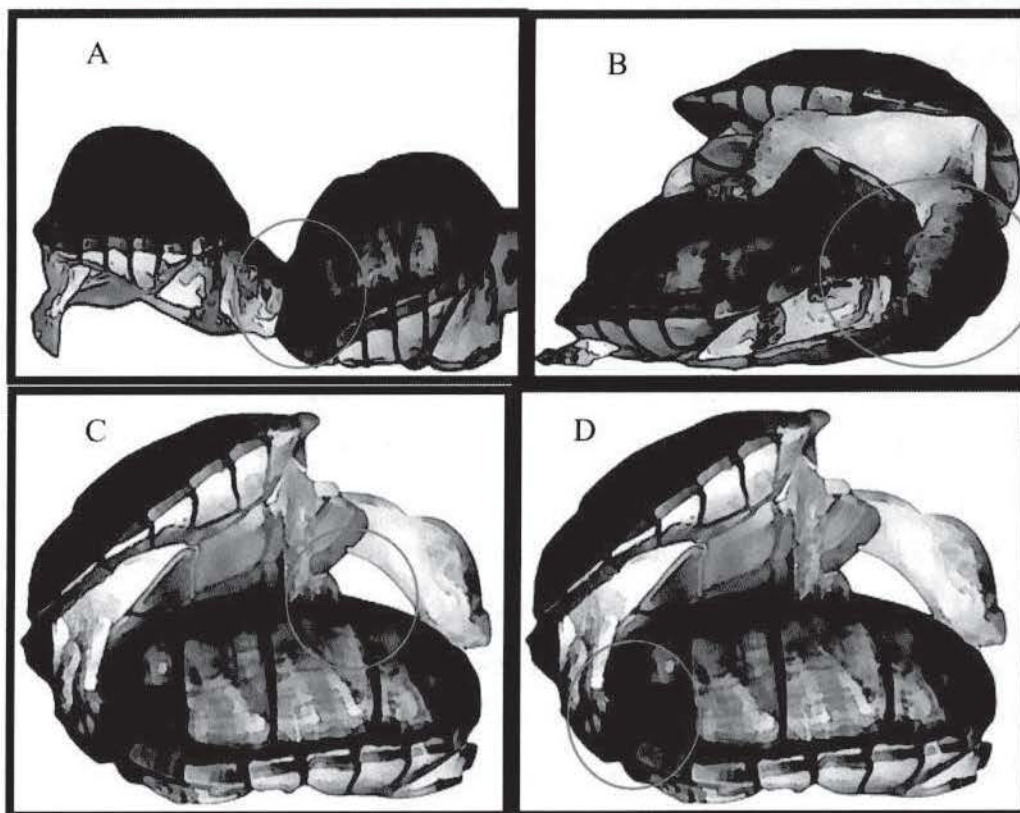


Figura 21. Desenho esquemático das fases do comportamento de acasalamento: A) Aproximação do macho por trás para examinar a região cloacal da fêmea. B) Macho com o pescoço esticado para realizar os movimentos laterais de cabeça e para atritar sua região gular contra as narinas da fêmea. C) Macho apoiando as patas dianteiras nos escudos costais da carapaça da fêmea, posicionando-se mais posteriormente. D) A cloaca do macho entra em contato com a da fêmea, permitindo a inserção do pênis

### 5.2.3. Influência da dinâmica folicular no comportamento reprodutivo

Um total de 168 testes de comportamento foram observadas ao longo do período do estudo. Registramos 54 cópulas, sendo que 4 não geraram ovos. Perfis das imagens ultrassonográficas mostraram mostram um total de 35 ovulações ocorreram durante esse período de observação.

Verificamos que as fêmeas receptivas tinham como características dos ovários bem ativos com a presença de folículos com tamanho variando de 1,84 – 2,12 cm e ausência de ovos no oviduto.

A Figura mostra que a frequência de interações entre os comportamentos e a receptividades das fêmeas. A receptividade exibida pela fêmea varia significativamente ao longo do ciclo ( $p < 0,05$ ) sendo maior durante a presença de folículos grandes e pré-ovulatórios (média = 64,6% de testes), em comparação com o folicular (média = 10,6% de testes, Wilcoxon test  $T = 7$ ,  $T = 0$ ,  $p < 0,05$ ) e lútea (média = 6,6% de testes,  $n = 7$ ,  $T = 0$ ,  $p < 0,05$ ) fases. Figura I mostra que proceptive língua-filmes foram exibidos durante os testes sucessivos, principalmente, ao redor do período peri-ovulatório.

Houve registros de múltiplas cópulas durante o período de aceitação da fêmea antes de cada ovulação com mesmo macho ( $n=2$ ) ou com machos diferentes ( $n=23$ ). Embora a maior parte das observações de cópulas ocorreu em diferentes ondas foliculares, foram observadas cópulas ocorrendo no mesmo ciclo, indicando que as fêmeas aceitam múltiplas cópulas do mesmo macho ( $n=2$ ) ou de machos diferentes ( $n=23$ ). Múltiplas paternidades podem ocorrer em quelônios de várias espécies, devido à presença de um ducto armazenador de esperma, posicionado posteriormente à região ovidutal secretora de albumina (GALBRAITH, 1993) e devido ao comportamento de acasalamento poligâmico exibido pela espécie. Essa questão ainda necessita de estudo para determinar detalhes morfofuncionais e ecológicos decorrentes da possibilidade de múltipla paternidade numa mesma ninhada. Esse comportamento em vida livre poderia possibilitar uma maior garantia de fertilização dos ovos, aumento no *fitness* através da competição entre indivíduos reprodutores e seus respectivos espermatozóides, além de aumento da variabilidade genética e, portanto, da perspectiva de sobrevivência de seus descendentes (PEARSE, 2001).

A determinação de dominância teve relação direta com o sucesso reprodutivo dos machos. Somente registramos um macho subordinado que fez cópula.

Muitos comportamentos masculinos que apresentaram alterações significativas em sua frequência durante o ciclo reprodutivo, incluindo perseguições, olfação, interações agonísticas, monta e cópulas, assim como o interesse em procura por fêmeas. Comportamentos que apresentaram variações significativas são indicados abaixo com base em comparações de estágios de desenvolvimento dos

foliculos ovarianos. Durante o período de presença de maiores folículos, as montas e as cópulas foram mais frequentes em relação aos animais que apresentavam folículos médios. A rejeição das fêmeas e o tempo de tentativa de subjugar as fêmeas foi maior nas fêmeas com folículos médios. A olfação foi mais frequente no final da estação reprodutiva. Houve maior tentativa dos machos em copular com fêmeas que apresentavam folículos grandes (76,1%), médios (12,7%) e com ovo (11,3%). Não foi registrado tentativa de acasalamento com fêmeas que apresentavam folículos pequenos. Verificamos que as fêmeas receptivas tinham como características dos ovários bem ativos com a presença de foliculos com tamanho variando de 1,84 – 2,12 cm e ausência de ovos no oviduto.

Houve flutuações significativas nas frequências médias de vários comportamentos durante diferentes fases do crescimento folicular (Tabela 4). Comportamentos sugestivos de atratividade do sexo masculino, ou seja, olfação, monta, perseguição e cópula, foram elevados significativamente na presença de folículos grandes nos ovários das fêmeas sinalizando maior receptividade da fêmea.

Os comportamentos de corte e cópula ocorreram dentro da água. O macho aproxima-se da fêmea, por trás, e posiciona o focinho próximo da região cloacal desta, para realizar o exame olfativo. Segundo SOUZA (2004), em várias espécies de quelônios, o macho aproxima-se por trás e examina a região cloacal da fêmea. Para MAHMOUD (1967), nas espécies da família Kinosternidae, esta aproximação seria o exame olfativo da cloaca para determinar a identificação do sexo do outro espécime. Em nosso estudo, os machos verificaram as cloacas de fêmeas receptivas significativamente mais do que das não receptivas (Tabela 4). Esse comportamento não foi verificado em todas as ocasiões de cópulas. Os machos se direcionavam às fêmeas e montavam sem necessariamente chegar a encostar o focinho na cloaca da mesma, sendo assim é possível que o macho consiga identificar à distância fêmeas reprodutivas quando estas estão na iminência da ovulação.

Os machos esfregaram a região gular no focinho da fêmea não receptiva significativamente mais do que nas receptivas (Tabela 4). Quanto mais agitada a fêmea mais movimentos gulares são realizados na tentativa de subjugar-las. Verificamos que esses movimentos em fêmeas receptivas faz com elas fiquem

quietas recolhidas dentro da carapaça. Depois desse momento o macho posiciona-se mais caudalmente à fêmea iniciando o comportamento de cópula. Os machos de *Phrynops sp.* e de *Kinosternon sp.* movimentam lateralmente a cabeça e o pescoço, para atritá-los com a cabeça e pescoço da fêmea. O macho, com o pescoço esticado também pode dobrar a cabeça para baixo e, com movimentos laterais, atritar sua região gular contra as narinas da fêmea (MOLINA, 1987). Sugere-se que o ato do macho esfregar insistentemente a região gular na fêmea não seja simplesmente um sinal tátil. A realização deste ato pode estar relacionada ao estímulo da glândula submandibular e a consequente liberação de um feromônio. Estudos com outras espécies de quelônios comprovam a atuação direta na reprodução do feromônio produzido por esta glândula (WINOKUR;LEGLER, 1975; AUFFENBERG, 1977 *apud* NOVELLI;SOUSA, 2007). Esse comportamento do macho de esfregar a região submandibular na fêmea foi observado logo após o macho montar sobre a mesma e, durante a cópula. Neste caso, na tentativa de subjugar a fêmea, ele morde a base do pescoço para que ela pare de se movimentar e permaneça parada. Então, com os movimentos do pescoço, tenta fazer com que ela recolha a cabeça para dentro da carapaça, o que permite o toque da região submandibular dele nas narinas da fêmea. Assim, é possível que a ação dos feromônios contribua para que as fêmeas permaneçam suficientemente passivas durante a cópula.

Além dos movimentos gulares, segundo alguns autores (ABETARDA, 1973; CROWELL;OWENS, 1990), as mordidas têm efeito de estimulação feminina. Em algumas espécies de quelônios, o macho não tem o hábito de morder a fêmea logo no início do acasalamento (MOLINA, 1992). Porém, *Kinosternon sp.* e *Trachemys sp.* têm esse hábito logo após a corte (SEXTON, 1960), o que para CARPENTER (1980), seria um estímulo tátil. A tentativa de fuga da fêmea para se livrar do macho e as tentativas deste em subjugar-la, através de mordidas, teria uma função estimulante, segundo MAHMOUND (1967). Verificou-se neste trabalho que o macho de *Kinosternon scorpioides* tem o hábito de morder a fêmea, ao início do acasalamento e durante a pré-cópula e a cópula. As mordidas foram um dos componentes comuns durante pré-cópula. As fêmeas foram mordidas por todo o corpo, mas especialmente no pescoço, membros e cauda. Tal comportamento teve

maior frequência ao início da estação reprodutiva, possivelmente pelo maior percentual de fêmeas não receptivas (Tabela 3).

As fêmeas podem apresentar comportamento de fuga das tentativas de montas do macho, nadando rapidamente pelo recinto. Este movimento parece excitar a maioria dos machos a perseguir as fêmeas. Verificamos machos incitando, através de mordidas, fêmeas que estavam quietas a se movimentarem para então persegui-las. Os machos perseguiram fêmeas não receptivas mais do que receptivas (Tabela 3).

Tentativas de montas ocorreram mais em fêmeas receptivas em relação às não receptivas. Em *Kinosternon flavescens*, durante a cópula, o macho solta as patas dianteiras, apoiando-as nos escudos costais da carapaça da fêmea, posicionando-se mais posteriormente, o que possibilita que sua cloaca entre em contato com a da fêmea, permitindo a inserção do pênis (SOUZA, 2004; SCHNEIDER et al., 2010). No caso das cópulas observadas, o macho pode ou não soltar as patas dianteiras ou apenas se posiciona mais caudalmente e inclina o corpo fazendo com que a cauda se aproxime da cauda da fêmea. Esse posicionamento lateral foi mais observado em machos bem menores que as fêmeas, provavelmente para ampliar as chances de impedir que a fêmea se movimente durante o acasalamento.

Crowell;Owens (1990) relataram que em *Chelonia mydas* devido à posição do macho sobre a fêmea durante a monta, é difícil determinar o ponto de intromissão e o tempo de ejaculação. No presente trabalho, foi possível observar sinais que possibilitaram confirmar as cópulas, a saber: a) posicionamento caudal do macho apoiando as patas nos escudos costais da fêmea, b) o contato da cloaca do macho com a da fêmea, c) o aumento do volume da cauda do macho d) a presença de espermatozoides na região cloacal da fêmea além do fato de que e) após a cópula todos os machos se direcionaram à rampa ou à superfície do tanque e ficaram imóveis, sem interesse por fêmeas, durante longo período ( $37,8 \pm 5,8$  min), ficando caracterizada a ocorrência de período refratário pós-cópula.

O acasalamento tem duração variável entre os quelônios (SOUZA, 2004), pois há uma grande influência do meio externo e interno do recinto, da estimulação sexual da fêmea e, também, das interações agressivas sofridas pelos casais, com

demais animais, especialmente machos. Durante o coito, outro macho pode se aproximar e morder a região entre o pescoço e o membro anterior, membros posteriores ou a cauda do macho em cópula, forçando-o a interromper a cópula. Este fato foi observado com maior frequência ao início e ao final da estação reprodutiva, provavelmente devido ao número pequeno de fêmeas receptivas nesse período. Comportamentos agonísticos macho-macho são as principais causas de lesões e de óbitos de animais em cativeiro.

As cópulas ocorreram entre duas e quatro semanas após o início das chuvas, envolvendo fêmeas com folículos grandes (0,07-1,97cm). Foi encontrada correlação entre o tamanho dos folículos presentes no ovário, agrupados por classe, e a aceitação da cópula. O menor tamanho de folículo em que houve cópula foi 1,84 cm. A ovulação teve forte correlação com as cópulas, nenhuma fêmea ovulou sem ter copulado ao menos uma vez durante a estação reprodutiva. Verificamos que as cópulas foram realizadas em média 7,5 dias (4-12 dias) antes da identificação de ovos no(s) oviduto(s). Os resultados indicam que a cópula é um indutor da ovulação em *Kinosternon scorpioides*. Trata-se da primeira descrição na literatura científica sobre a ocorrência de ovulação induzida pelo acasalamento na espécie, correspondendo ao segundo registro em quelônios, uma vez que o primeiro foi descrito para tartaruga marinha, *Caretta caretta* (Manire, et al., 2008).

A ovulação em fêmeas mantidas em cativeiro é susceptível de ser acionada por meio da cópula, como descrito por Manire et al. (2008) para tartaruga cabeçuda e para outros répteis (*Anolis carolinensis*). CREWS et al., 1986; DENARDO;AUTUMN, 2001; MATHIES et al., 2004; MENDONCA;CREWS, 1990). Em quelônios, os folículos dos ovários maduros ovulam e os oócitos/ovos não-fertilizados são direcionados aos ovidutos, em processo auxiliado por movimentos da musculatura lisa dos mesmos), onde são subsequentemente fertilizados por espermatozóides armazenados na porção superior de cada oviduto. Em seguida, são recobertos com albumina, e, finalmente, rodeados por membranas, a mais externa originando a casca do ovo, mediante processo paulatino de calcificação (OWENS, 1980). Segundo Kawazu et al. (2014) a ovulação e formação subsequente da casca do ovo não pode ser induzida por estímulos não conjugais, tais como a inseminação artificial por deposição do sêmen diretamente na cloaca.

Conseqüentemente, a ovulação deve ser induzida artificialmente, por meio de estimulação da região de inserção/abertura/do orifício ovidutal na cloaca para que a inseminação artificial seja bem sucedida. Alguns estudos com tartaruga marinha demonstraram que o LH e a P4 aumentam durante a ovulação, o que sugere que o LH estimula a secreção de P4 (WIBBELS et al, 1992).

Durante a temporada reprodutiva algumas fêmeas que não acasalaram apresentaram grandes folículos ovarianos, porém sem o evento da cópula os folículos diminuíram de diâmetro. No entanto, as fêmeas que acasalaram mostraram um padrão completamente diferente e, dentro de sete dias após o acasalamento, os ovos foram observados no oviduto. Com base nos resultados do presente trabalho, foi possível demonstrar que as fêmeas que acasalaram, ovularam em seguida, apresentando em poucos dias ovos no oviduto. Além disso, verificou-se que uma única cópula pode assegurar múltiplas posturas na mesma estação reprodutiva, devido a possibilidade de ocorrer na espécie o armazenamento de espermatozoides viáveis no trato reprodutivo feminino.

Em tartarugas, é relatado que alguns folículos não ovulam, e entram em processo de atresia durante o ciclo da reprodução normal (Owens, 1980; Limpus, 1985; Rostal et al., 1996, 1997; Hamann et al., 2002). Esse mecanismo é benéfico por possibilitar à fêmea absorver, mobilizar e reutilizar os lipídios para outras necessidades metabólicas (KUCHLING;BRADSHAW, 1993). Neste estudo, foi demonstrado que as fêmeas que não acasalaram sofreram (atresia folicular). Assim, grande quantidade de lipídeo ficou retida na fêmea em vez de ser agregada a ovos inférteis. Potenciais fêmeas reprodutivas deixaram de realizar postura devido a incapacidade dos machos de copularem com todas as fêmeas durante o picos de desenvolvimento folicular.

Pouco se sabe sobre os eventos envolvidos entre a ovulação e a postura e suas relações com eventos reprodutivos prévios e a identificação dos elementos necessários para assegurar a reprodução realmente ocorra (HAMANN et al., 2003), admitindo-se que rituais envolvidos durante a reprodução, antes e durante a cópula, podem servir como estímulos sexuais.

A estimulação feita pelo macho sobre a fêmea por meio de movimentos gulares pode ser um elemento chave para desencadear a ovulação. Este estudo

mostrou que o acasalamento é um dos desencadeadores necessários para o início da ovulação para uma temporada inteira, o que sugere a possibilidade de armazenamento de espermatozoides por toda a temporada.

Os machos de *Phrynops sp.* e de *Kinosternon sp.* movimentam lateralmente a cabeça e o pescoço, atritando-os às mesmas estruturas da fêmea. O macho, com o pescoço esticado também pode dobrar a cabeça para baixo e, com movimentos laterais, atritar sua região gular contra as narinas da fêmea (MOLINA, 1987). Sugere-se que o ato do macho esfregar insistentemente a região gular na fêmea não seja simplesmente um sinal tátil. A realização deste ato pode estar relacionada ao estímulo da glândula submandibular e a consequente liberação de um feromônio. Estudos com outras espécies de quelônios comprovam a atuação direta do feromônio produzido por esta glândula na reprodução (WINOKUR;LEGLER, 1975; AUFFENBERG, 1977 *apud* NOVELLI;SOUSA, 2007). Esse comportamento do macho de esfregar a região submandibular na fêmea foi observado logo após o macho montar sobre a mesma e, durante a cópula, quando na tentativa de subjugar a fêmea morde a base do pescoço para que ela pare de se movimentar e permaneça parada. Então, com os movimentos feitos com o pescoço, tenta fazer com que ela recolha a cabeça para dentro da carapaça, o que permite o toque da região submandibular dele nas narinas da fêmea. Dessa forma, talvez por ação dos feromônios as fêmeas se tornem suficientemente passivas para a cópula.

Como base nos achados ultrassonográficos e comportamentais, podemos propor um desenho esquemático do ciclo reprodutivo para *Kinosternon scorpioides* entre a maturação folicular, receptividade sexual e as posturas de fêmeas, numa dada estação reprodutiva (Figura 21).



acompanhamento ultrassonográfico foi possível determinar as fêmeas que realizariam múltiplas posturas, pelos padrões de imagens observados.

## 6. CONCLUSÕES

Exames ultrassonográficos são ferramentas não-invasivas valiosas para estudos sobre a reprodução da espécie, permitindo visualização de órgãos e estruturas celomáticos e para a obtenção de parâmetros reprodutivos de referência. Dados importantes foram disponibilizados e podem subsidiar novas pesquisas básicas ou aplicadas à conservação *in situ* e *ex situ* de kinosternídeos, dentre os quais: tempo e tamanhos médios e categorização do crescimento folicular ovariano; número, tamanho, distribuição sazonal e cronológica, dentre outras particularidades de ovos e posturas; comportamento reprodutivo e aspectos intra e intergenéricos e suas relações com variáveis morfofisiológicas corporais em geral ou reprodutivas, inclusive obtidas com auxílio de ultrassonografia.

O trabalho contribuiu com uma abordagem quali-quantitativa integrada entre variáveis físicas e comportamentais relacionadas à reprodução de kinosternídeos em cativeiro e oferece reflexões sobre desafios científicos futuros à manutenção *in situ* e *ex situ* de indivíduos para fins reprodutivos e de conservação da espécie.

## 7. REFERÊNCIAS

- ACUÑA-MESÉN, R. A. Variación morfométrica y características ecológicas del habitat de la tortuga candado *Kinosternon scorpioides* en Costa Rica (Chelonia, Kinosternidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.54, n.3, p. 537-547.1994.
- ACUÑA-MESÉN, R; CASTAING, A; FLORES F. Aspectos ecológicos de la distribución de las tortugas terrestres y semiacuáticas en el Valle Central de Costa Rica. **Revista de biología tropical**. v.31 n.2 p.181-192. 1983.
- ALFINITO, J. **Fundamentos ao serviço de proteção à tartaruga**. Preservação da tartaruga da Amazônia. Ministério da Agricultura. DEMA/ PA, IBDF, Belém (PA), 1-36p. 1973.
- ALHO, C.J.R. PÁDUA, L.F.M. Reproductive parameters and nesting behavior of the Amazon turtle *Podocnemis expansa* (Testudinata: Pelomedusidae) in Brazil. **Canadian Journal Zoological**. n.60 p.97-103. 1982.
- AUFFENBERG, W. Display behaviour in tortoises. *American Zoologist* 17: 241-250. 1977. In. NOVELLI, I. A. SOUSA, B.M. Análise descritiva do comportamento de corte e cópula de *Hydromedusa maximiliani* (Mikan, 1820) (Testudines, Chelidae) em laboratório. **Revista brasileira de zociências**, v.9 n.1 p. 49-56, jun. 2007.
- AVENDAÑO, I.; MUÑOZ, A.; VARELA, N. Aproximación al Conocimiento sobre la Reproducción de los Quelonios. **Grupo de Estudio de Animales Silvestres** (Boletín GEAS), v.3, n. 6, 2002.
- BAGER, A. Aspectos da biologia e ecologia da tartaruga tigre d'água, *Trachemys dorbigni* (Testudines - Emydidae) no extremo sul do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Unpubl. PhD. Thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil, 2003.
- BAGER, A., FREITAS, T.R.O. & KRAUSE, L. Nesting ecology of a population of *Trachemys dorbigni* (Emydidae) in southern Brazil. **Herpetologica** v. 63, p. 56-65, 2007.
- BARRETO, L. LIMA, L. C. BARBOSA, S. Observations on the ecology of *Trachemys adiutrix* and *Kinosternon scorpioides* on Curupu Island, Brazil. **Herpetological Review**, v. 40, p. 283-286, 2009.

- BASHO, A. Y. MOLINA, F. B. Conservação “ex-situ” de quelônios neotropicais: IV. Biologia reprodutiva do muçua, *kinosternon scorpioides scorpioides* (reptilia, testudines, kinosternidae). **Arquivo do Instituto Biologia**. n.67 p.1-145, 2000
- BATES, H.W. **The Naturalist on the river Amazon**. London, John Murray, 395p. 1892.
- BERNARDO, J. Maternal effects in animal ecology. **American Zoologist**. n.36 p.83–105. 1996.
- BERRY J.F.; SHINE, R. Sexual size dimorphism and sexual selection in turtles (order Testudines). **Oecologia**, n. 44, p.185-191. 1980.
- BERRY, J. F.; IVERSON, J. B.. *Kinosternon scorpioides*. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**. v. 725, p. 1-11. 2001.
- BLANCA, N. M. R. **Swanka se resiste a desaparecer UN Periódico** - Bogotá, Cundinamarca. 2004
- BLANCO, G. S., MORREALE, S. J., VÉLEZ, E., PIEDRA, R., MONTES, W. M., PALADINO, F. V., & SPOTILA, J. R.. Reproductive output and ultrasonography of an endangered population of East Pacific green turtles. **The Journal of Wildlife Management**, 76(4), 841–846. doi:10.1002/jwmg.304. 2012
- BONACH; K.; PIÑA, C.I.; VERDADE, L.M. Allometry of reproduction of *odocnemis expansa* in Southern Amazon basin. **Amphibia-Reptilia**. v. 27, p. 55-61, 2006.
- BONACH; K.; PIÑA, C.I.; VERDADE, L.M. Allometry of reproduction of *Podocnemis expansa* in Southern Amazon basin. **Amphibia-Reptilia**, v. 27, p. 55-61, 2006.
- BOWEN, K.D., SPENCER, R.-J., AND JANZEN, F.J. A comparative study of environmental factors that affect nesting in Australian and North American freshwater turtles. **Journal of Zoology**. n.267 p.397–404. 2005.
- BRITO, W.L.S.; FERREIRA, M. Fauna amazônica preferida como alimento: uma análise regional. **Revista Brasil Florestal**, n.35, jul/set, 1978.
- BROCKELMAN, W.Y. Competition, the fitness of offspring, and optimal clutch size. **American Naturalist**, Chicago, v. 109, p. 677-699, 1975.
- BRYANT, A.D. & R.G. HARTNOLL. Reproductive investment in two spider crab with different breeding strategies. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** n.188 p.261-275. 1995.

- CAGLE, F.R. The life history of the slider turtle, *Pseudemys scripta troostii*. **Ecological Monographs**. n.20 v.1 p.31-54. 1950.
- CALOW, P. The cost of reproduction – a physiological approach. **Biological Reviews**. n.54 p.23-40. 1979.
- CAMARA, I.G.. Proposta de procedimento internacional para a conservação das tartarugas marinhas. **Boletim técnico da FBCN**. n. 17 p.62-69. 1982.
- CANTARELLI, V.H. **Alometria reprodutiva da tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*): bases biológicas para manejo**. 2006. 116 p. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- CANTARELLI, V.H. The Amazon Turtles – Conservation and Management in **Brazil**. **Em Van Abbema, J. (Ed) Proceedings: Conservation, Restoration, and Management of Tortoises and Turtles – An International Conference**. New York: New York Turtle and Tortoise Society. p. 407-410. 1997.
- CARPENTER, C.C.; FERGUSON, G.W. Variation and evolution of stereotyped behavior in reptiles. In: GANS, C. TINKLE, D.W. *Biology of Reptilia: Ecology and behavior*. **Academic Press**, v. 7a, p.335-554. 1997.
- CARPENTER, C.C. An ethological approach to reproductive success in reptiles. *Reproductive biology*. **Amphibia Reptilia**. p. 33-48. 1980
- CARVALHO, E. A. R., JR., DE SÁ, C. C. N. PASCHOALINI, E. Diet of *Kinosternon scorpioides* in Serra dos Carajás, eastern Amazonia. **Herpetological Review**. v.39 n.3 p.283-285. 2008.
- CARVALHO, J.C.M. Relações entre os índios do alto Xingu e a fauna regional. **Publicações avulsas do museu Nacional** p. 40. 1951
- CASTAÑO, O. V. Y FORERO, G.,. *K. scorpioides albogulare*. in: CastañoMora O. V. **Libro rojo de reptiles de Colombia. Libros rojos de especies amenazadas de Colombia**. Instituto de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente, Conservación Internacional Colombia. Bogotá. p. 107-108. 2002

- CASTRO, A. B. Biologia Reprodutiva do muçã *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1776) em cativeiro. Documento de Qualificação ao Mestrado. Belém: UFPA, 27p. 2005.
- CASTRO, A.B. Biologia reprodutiva e crescimento de Muçã *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1776) em cativeiro. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará, Pará, Brasil, 101p. 2006.
- CHASTEL, O., H. WEIMERSKIRCH, AND P. JOUVENTIN. Influence of body condition on reproductive decision and reproductive success in the blue petrel. **Auk** n.112 p.964–972. 1995.
- CHRISTIANSEN, J. L., & DUNHAM, A. E. Reproduction of the Yellow Mud Turtle (*Kinosternon flavescens flavescens*) in New Mexico. **Herpetologica**, 28(2), 130–137. 1972
- CLARK, J.P.; EWERT, A.M.; NELSON, E.C. Physical apertures as constraints on egg size and shape in the common musk turtle, *Sternotherus odoratus*. **Functional Ecology**, v. 15, p. 70-77, 2001.
- CONGDON, J. D. TINKLE. D. W. Reproductive energetics of the painted turtle (*Chrysemys picta*). **Herpetologica**. n. 38 p. 228-237. 1982.
- CONGDON, J. D., J. W. GIBBONS, AND J. L. GREENE. Parental investment in the chicken turtle (*Deirochelys reticularia*). **Ecology**. n.64 p.419-425. 1983.
- CONGDON, J. D., NAGLE, R. D., KINNEY, O. M., VAN LOBEN SELS, R. C., QUINTER, T. TINKLE, D. W. Testing hypotheses of aging in long-lived painted turtles (*Chrysemys picta*). **Experimental Gerontology**. n.38 p.765–772. 2003
- CONGDON, J. D.; GIBBONS J. W. Morphological constraint on egg size: a challenge to optimal egg size theory? **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. n. 84 p. 4145–4147. 1987.
- CONGDON, J.D. GIBBONS J.W. Turtles eggs: their ecology and evolution. In: GIBBONS, W.J. Life history and ecology of the slider turtle. **Smithsonian Institution Press**. p.109-122. 1990.
- CONGDON, J.D.; GIBBONS, J.W. Egg components and reproductive characteristics of turtles: relationship to body size. **Herpetologica**, v. 41, n. 2, p.195-205, 1985.
- CONGDON, J.D.; NAGLE, R.D.; DUNHAM, A.E.; BECK, C.W.; KINNEY, O.M.; YEOMANS, S.R. The relationship of body size to survivorship of hatchling snapping

- turtles (*Chelydra serpentina*): an evaluation of the “bigger is better” hypothesis. **Oecologia**. v. 121, p. 224-235, 1999.
- CORRÊA, H.B. Observações preliminares sobre a tartaruga (*Podocnemis expansa*) e outros quelônios amazônicos. **Brasil Florestal** v. 35, p.24-38, 1978.
- COSTA, F. C.; ALVES, F. R.; COSTA, A. P; BARROS, A. C. E.; GUERRA, P. C.; SOUSA, A. L; OLIVEIRA, A. S. Ultrasonographic and radiographic determination of egg development of jurarás (*Kinosternon scorpioides*) in captivity. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.29, n.10, p. 841-846, 2009.
- COSTA, H. C. MOLINA, F. B. SÃO-PEDRO, V. A. FEIO, R. N. Reptilia, Testudines, Kinosternidae, *Kinosternon scorpioides scorpioides* (Linnaeus, 1766): **Distribution extension Journal: Check List Year: 2010** v. 6 n.2 p. 314-315. 2010
- COUTINHO, J.M.S. Sur lês tortues de l'Amazone. Bulletin de la Societé. **Zoologique d'Aclimatation**. 1868.
- CROWELL, D. K., & OWENS, D. W. A Quantitative Analysis of Courtship Behavior in Captive Green Sea Turtles (*Chelonia Mydas* ). **Herpetologica**, 46(2), 195–202. 1990.
- CUESTA-RÍOS, E. Y. VALENCIA-MAZO, J. D., JIMÉNEZ-ORTEGA, A. M. Aprovechamiento de los vertebrados terrestres por una comunidad humana en bosques tropicales (tutunendo, chocó, colombia) **Biodiversidad: Aprovechamiento de los vertebrados en bosques tropicales**. v.6 n.2 p. 37-43. 2007
- DELDUQUE, M. Muçua. **Revista Rural**. v.26 n.2 p. 37-43. 2000.
- Dobson, F. S., and G. R. Michener. Maternal traits and reproduction in Richardson's ground squirrels. **Ecology** v.76 p.851–862. 1995.
- DUARTE, J. A. M. Diagnóstico da produção e estudos sobre incubação artificial de quelônios (*Podocnemis expansa* e *P. unifilis*) no Estado do Amazonas. Monografia conclusão do curso de Agronomia. Manaus: UFAM, 106 p. 1998.
- DUNHAM, A. E. GIBBONS, J. W. Growth of the slider turtle. In. GIBBONS, J.W., Life history and ecology of the slider turtle. Washington, D.C., **Smithsonian Institution Press**. p. 135-145. 1990.
- ERNST, C. H. & BAUBOUR, R. W., Turtles of the World. Washington, **Smithsonian Institution Press**. p.313. 1989.

- ERNST, C.H. Sexual cycles and maturity of the turtle, *Chrysemys picta*. **Biological Bulletin**, v. 140 p.191-200. 1971.
- FERREIRA JR. P.D. Influência dos processos sedimentológicos e geomorfológicos na escolha das áreas de nidificação de *Podocnemis expansa* (tartaruga-da-amazônia) e *Podocnemis unifilis* (tracajá), na bacia do rio Araguaia. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de Geologia, Ouro Preto. p.296. 2003.
- FERRI, V. **Turtles & Tortoises: A Firefly Guide**. Firefly Books. p.256 2002.
- FERRI, V. **Turtles & Tortoises: A Firefly Guide**. Firefly Books. p.256 2002.
- FITCH, H. S. Reproductive cycles in tropical reptiles. **Occasional Papers of the Museum of Natural History University of Kansas** n.96, p.1-53, 1982.
- FRAZER, N.B. Life history and demography of the common mud turtle *Kinosternon subrubrum* in South Carolina, USA. **Ecology** n.72 p.2218–2232. 1991.
- FRETEY, J. Reproduction de *Kinosternon scorpioides scorpioides* (Linné) (Testudinata, Kinosternidae). **Bulletin de la Société Zoologique de France**, v. 101, n.4, p.732, 1976.
- GARRONE, M. E. Revisão taxonômica de *Kinosternon scorpioides* Linnaeus 1766 (Testudines, Kinosternidae). Monografia conclusão do curso de biologia. Universidade Presbiteriana Mackenzie. São Paulo, 68 p. 2006.
- GIBBONS, J.W. Reproductive dynamics of a turtle (*Pseudemys scripta*) population in a reservoir receiving heated effluent from a nuclear reactor. **Canadian Journal of Zoology** n.48 p. 881–885. 1970.
- GIBBONS, J.W. Reproductive potencial, activity, and cycles in the painted turtle, *Chrysemys picta*. **Ecology**, v.49, p.399-409. 1968.
- GIBBONS, J.W.; GREENE, J.L. X-ray photography: a technique to determine reproductive patterns of freshwater turtles. **Herpetologica**, v. 35, n. 1, p. 86-89, 1979.
- GIBBONS, J.W.; GREENE, J.L. X-ray photography: a technique to determine reproductive patterns of freshwater turtles. **Herpetologica**, v. 35, n. 1, p. 86-89, 1990.
- GIBBONS, J.W.; GREENE, J.L.; PATTERSON, K.K. Variation in reproductive characteristics in aquatic turtles. **Copeia**, n.4, p.776-784, 1982.

- GIBBONS, J.W.; SEMLITSCH, R.D.; GREENE, J.L. Variation in age and size at maturity of slider turtle (*Pseudemys scripta*). **American Naturalist**, v.117, p. 841-845, 1981.
- GIBBONS, K.K. Variation in reproductive characteristics in aquatic turtles. **Copeia**, v. 1982, n.4, p.776-784, 1982.
- GODFRAY, H.C.J.; PARTRIDGE, L.; HARVEY, P.H. Clutch size. **Annual Reviews Ecology**. v. 22, p. 409-429, 1991.
- GOELDI, E.A. Chelonios do Brazil. **Boletim do Museu Goeldi**, v.4 n. 1-4. p. 699-756. 1906.
- GOODE, J.M. Reproduction in captive neotropical musk and mud turtles (*Staurotypus triporcatus*, *S. salvinii*, and *Kinosternon scorpioides*). In: J. B. Murphy, K. Adler and J. T. Collins (eds.). **Captive Management and Conservation of Amphibians and Reptiles**. v.. 11, p. 275–296. 1994.
- HALLER, E.C.P.; RODRIGUES, M.T. Reproductive Biology of the six-tubercled amazon river turtle *Podocnemis sextuberculata* (Testudines: Podocnemididae), in the Biological Reserve of Rio Trombetas, Pará, Brazil. **Chelonian Conservation and Biology** v. 5, n. 2, p. 280–284, 2006.
- HENEN, B. T. Seasonal and annual energy budgets of female desert tortoises (*Gopherus agassizii*). **Ecology** n.78 p.283–296. 1997.
- HERNÁNDEZ, O. BOEDE, E. O. Relação entre o tamanho da fêmea e a produção de ovos do jabuti-piranga *Geochelone carbonaria* (chelonoidis) (spix, 1824) em um zoológico comercial na venezuela. **Interciência**. v.33 n.6. 2008
- HOFMEYR, M. D. Egg Production in *Chersina angulata*: An Unusual Pattern in a Mediterranean Climate. **Journal of Herpetology**, 38(2), 172–179. 2004.
- HULSE, A. C. Growth and morphometric of *Kinosternon sonoriense* (Reptilia, Testudines, kinosternidae). **Jornal herpetological** n.10 v.4 p. 341 – 348. 1976
- HUMBOLDT, A.VON, Reise in die Aequinoctial-Gegenden des neuen Continents, in deutscher Bearbeitung von Hermann Hauff. **Stuttgart Gotta**. n.4 p.242. 1862.
- IBAMA, 2004 - lista oficial de espécies da fauna ameaçadas de extinção. Disponível em: [www.ibama.gov.br](http://www.ibama.gov.br). Acessado em: 18 abr. 2004
- IBAMA. **Projeto Quelônios da Amazônia 10 anos**. IBAMA: Brasília, 1989. 119p.

IBAMA-Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. [www.ibama.gov.br](http://www.ibama.gov.br). Visitado em 28/10/10, 2010.

ICMBIO. Ficha consolidada por espécie de quelônio continental avaliação do estado de conservação Disponível em [http://www4.icmbio.gov.br/ran/download.php?id\\_download=133](http://www4.icmbio.gov.br/ran/download.php?id_download=133). 2010

IVERSON, J.B. & EWERT, M.A. Physical characteristics of reptilian eggs and a comparison with avian eggs. In **Egg incubation: its effect on embryonic development in birds and reptiles** (D.C. Deeming & M.W. Ferguson, eds). Cambridge University Press, New York, p.88-100. 1991.

IVERSON, J.B. SMITH, G.R. Reproductive ecology of the painted turtle (*Chrysemys picta*) in the Nebraska sandhills and across its range. **Copeia** p. 1–21. 1993.

IVERSON, J.B., **A revised checklist with distribution maps of the turtles of the world**. Richmond, Indiana, p.363. 1992.

IVERSON, J.B.. Life history and demography of the yellow mud turtle, *Kinosternon flavescens*. **Herpetologica**, v.47 n.4 p. 373-395. 1991.

JANZEN, F.J., TUCKER, J.K. & PAUKSTIS, G.L. Experimental analysis of an early life-history stage: selection on size of hatchling turtles. **Ecology** n.81 p. 2290–2304. 2000a

JANZEN, F.J., TUCKER, J.K. & PAUKSTIS, G.L. Experimental analysis of an early life-history stage: avian predation selects for larger body size of hatchling turtles. **Journal of Evolutionary Biology** n.13 p. 947–954. 2000b.

JOHNS, A.D. Continuing problems for Amazon river turtles. **Oryx**, v.21 n.1 p.25-28p. 1987.

JÚNIOR, **Etnias e culturas no Brasil. Biblioteca do Exército**. p.208.1980

KAWAZU, I., SUZUKI, M., MAEDA, K., KINO, M., MORIYOSHI, M., NAKADA, K., & SAWAMUKAI, Y. Ovulation Induction with Follicle-Stimulating Hormone Administration in Hawksbill Turtles *Eretmochelys imbricata*. **The Herpetological Society of Japan**, 33(1), 88–93. 2014.

- KIRKPATRICK, D. T. The Biology, Husbandry and Health Care of Reptiles. **Volume II: The Husbandry of Reptiles, Lowell Ackerman**. DVM, editor, published by T.F.H Publications, p. 447-463. 1997
- KLEMENS, M.W., THORBJARNARSON, J.B. Reptiles as a food source. **Biodiversity and Conservation**. v. 4, p.281–298, 1995.
- KUBICKA, L., AND L. KRATOCHVI' L. First grow, then breed and finally get fat: Hierarchical allocation to lifehistory traits in a lizard with invariant clutch size. **Functional Ecology** n.23 p.595–601. 2009.
- LARDIE, R. L. Courtship and mating behavior in the yellow mud turtle *Kinosternon flavescens flavescens*. **Jornal Herpetological**. v.9. n.2 p.223 – 227. 1983.
- LARRIERA. A. PIÑA, C. SIROSKI, P. VERDADE, L. M. Allometry of Reproduction in Wild Broad-Snouted Caimans (*Caiman latirostris*). **Journal of Herpetology** n.38 v.2 p. 301-304. 2004
- LEGLER, J. M. Natural history of the ornate box turtle, *Terrapene ornata ornata* Agassiz. **Publical. Musseu. Natural Historia**. n.11 p.527-669. 1960.
- LEGLER, J.M. Morphology and Physiology of the Chelonia. In: GLASBY, C.J.; ROSS, G.J.B.; BEESLEY, P.L. **Fauna of Austrália. Canberra**, v. 2, p.439 108-119. 1993.
- LIMA, L. C. P. Biologia reprodutiva de duas espécies de tartaruga de água doce, *Kinosternon scorpioides* e *Trachemys adiutrix* na Ilha de Curupu, Maranhão, Brasil. São Luís: 2002. 26 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 2003.
- LONG, D. R. Clutch formation in the turtle, *Kinosternon flavescens* (Testudines: Kinosternidae). **Southwest. National**. n.31 p.1-8. 1986.
- MACHADO JÚNIOR, A. A. N.; SOUSA, A. L.; SANTOS, F. C. F.; PEREIRA, J. G. Morfologia dos órgãos genitais femininos do mucuã (*Kinosternon scorpioides*). **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.2, p. 25-29, 2006.
- MACIP-RÍOS, R. CISNEROS, M.L.A. AGUILAR-MIGUEL, X.S. CASAS-ANDREU,G. Population ecology and reproduction of the mexican mud turtle (*kinosternon integrum*) in tonatico, estado de méxico. **Western North American Naturalist** v. 69 n.4 p. 501–510. 2009.

MAHMOUD, I.Y. Courtship, behavior and sexual maturity in four species of Kinosternid turtles. **Copeia**, n.2, p. 314-319, 1967.

MANIRE, C. A, BYRD, L., THERRIEN, C. L., & MARTIN, K. Mating-induced ovulation in loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*. **Zoo Biology**, 27(3), 213–25. 2008.

MARQUES, J. R. F. COSTA, M. R. CAMARGO JR., R. N. C. ALBUQUERQUE, M. S. M. MARQUES, L. C. AGUIAR, J. F. Conservação e melhoramento dos recursos genéticos animais da Amazônia brasileira. In: **X congresso internacional de zootecnia – zootec**. João Pessoa - PB. Perfil profissional e demanda de mercado. João Pessoa - PB : ABZ - UFPB/CCA - EMBRAPA CAPRINOS, v. 01. p. 01-14. 2008.

MARQUES, M.I.B. & MENEGHETI, J.O. “Portaria de caça: um instrumento para a conservação da fauna”. **Natureza em revista**, nº9: p.14-20, 1982.

Miller, J.D. Reproduction in sea turtles. In: Lutz, P.L., Musick, J.A. (Eds.), **The Biology of Sea Turtles**. CRC Press, Boca Raton, p. 51– 81. 1997.

MITTERMEIER, R.A. South America’s river turtles: saving them by use. **Oryx**, v.14 n.3 p. 222-230. 1978.

MOLINA, F. B. O comportamento reprodutivo de quelônios. **Biotemas**, v. 5, n.2, p.61-70, 1992.

MOLINA, F. B. Tartaruga Japonesa: Biologia e manejo. **Aquacultura**, São Paulo n.3 p. 27-28. 1987.

MOLINA, F. B.; MATUSHIMA, E. R.; MAS, M. Class Reptilia Order Chelonia (Testudinata) (Chelonians): Turtle,Tortoises. FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, medicine and Surgery of the South American Wild Animals**. Iowa State University Press. 2001.

MOLINA, F.B. Biologia e comportamento reprodutivo de quelônios, **Anais de Etologia**, Uberlândia-MG, Brasil, n.14 p. 211-221. 1996.

MOLINA, F.B. Observacoes sobre a biologia e o comportamento de *Phrynops geoffroanus* em cativeiro (Reptilia, Testudines, Chelidae). Tese de mestrado apresentada ao departamento de zoologia do instituto de Biociência da USP. 1989.

MOLINA, F.B. Reproductive biology of *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) in captivity. *Tortoise & Turtles*. v. 5 n. 8. 1990.

- MOLINA, F.B.; ROCHA, M.B. Algumas observações sobre a biologia e manejo do muçua. **Aquacultura**. n.2. p. 25-26, 1996.
- MOLINA, F.B.; ROCHA, M.B; LULA, L.A.B.M. Comportamento alimentar e dieta de *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron) em cativeiro (Reptilia, Testudines, Chelidae). **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 15, n. 1, p. 73-79, 1998.
- MOLL, D. Population Sizes and Foraging Ecology in a Tropical Freshwater Stream Turtle Community. **Journal of Herpetology**, v. 24, n. 1, p. 48-53, 1990
- MOLL, D.; MOLL, E.O. **The Ecology, exploitation and conservation of river turtles**. New York: Oxford University Press, p.420. 2004.
- MOLL, E. O. LEGLER, J. M. The life history of a neotropical slider turtle, *Pseudemys scripta* (Schoepff), in Panama. Bull. **Musue. Natural Historia**. Sci. Los Angeles Co., n. 11 p. 1-102. 1971.
- MOLL, E. O. Reproductive cycles and adaptations. In: HARLESS, M. & MORLOCK H. **Turtles: Perspectives and Research**. New York, John Wiley & Sons. p. 305-331. 1979.
- MONDOLFI, E. Anotaciones sobre la biologia de tres quelonios de los llanos de Venezuela. **Memoria de La Sociedad de Ciencias Naturales La Salle**, Caracas, v. 15, n. 42, p.177-183, 1955.
- MOSIMANN, J.E. Variation and relative growth in the plastral scutes of the turtle *Kinosternon integrum* Leconte. **Musue. Zoological** n. 97 p. 1-43. 1956.
- OLIVEIRA, S. C. R. Histomorfometria testicular e níveis séricos de testosterona de jurarás (*kinosternon scorpioides* , Linnaeus, 1766) criados em cativeiro / Sâmia Clara Rodrigues de Oliveira. – São Luís, 2009.65f Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão, 2009.
- OLIVEIRA, S. C. RODRIGUES DE, O. NASCIMENTO, A. MACHADO JÚNIOR,, R. C. CARVALHO. L. A. PEREIRA, A. S. Distribuição arterial dos principais vasos da cavidade celomática em *Kinosternon*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 893-898, 2005
- PALHA, M. D. C.; CASTRO, A. B.; SILVA, A. S. L.; RIBEIRO, A. S. S.; OLIVEIRA, F. A.; ARAÚJO, J. C. Mercado para carne e subprodutos de muçua (*Kinosternon scorpioides*) em Belém-Pará, Brasil. **VII Congresso Internacional Sobre Manejo de Fauna Silvestre Na Amazônia e América Latina**. Resumos... Ilhéus- Bahia, 2006.

PALHA, MDC; RIBEIRO, A.S.S.; RIBEIRO, D.B., HAMOY, M.; TOURINHO, M.M. Faunistic inventory in varzea communities of the western Amazonia". In: **Coletanea dos trabalhos completos do III Congresso Internacional sobre Manejo de la Fauna Silvestre en la Amazonia**. Florida: TCD/University of Florida, p.18. 1999.

PEREIRA, L. A.; LEMOS, J. J. S. Extrativismo de jurará *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptila, Chelonia, Kinosternidae) e avaliação sócio-ambiental dos pescadores no Município de São Bento-MA. In: SILVA, A.C.; FORTES, J.L.O. 95 Diversidade Biológica Uso e conservação de Recursos Naturais no Maranhão. Projeto e ações em Biologia e Química, v.2, p. 269-299. 2007.

PEREIRA, L. A.; SOUSA, A. L.; CUTRIM, M. V. J.; MOREIRA, E. G. Características ecológicas do *habitat* de *Kinosternon scorpioides scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptila, Chelonia, Kinosternidae) no município de São Bento, Baixada Maranhense (Maranhão, Brasil). **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**. v. 20, p. 8-13, 2004

PEREIRA, N. **A tartaruga verdadeira do Amazonas**. Ministério da Agricultura – Divisão de Caça e Pesca, Reedição, Rio de Janeiro (RJ), 17p. 1954.

PETRAS PETR. Southern Chinese Turtle Markets – a Decade of the Asian Turtle Crisis. In A. Walde, E.Walton and R. Schaffer (eds.) **Program and Abstracts of the Eighth Annual Sumposium on the Conservation and Biology of Tortoises and Frewwater Turtles**. Turtle Survival Alliance, Orlando, FL. n. 31p. 52. 2010.

PEZZUTI, J.C.B. Reprodução de iacá, *Podocnemis sextuberculata* (Testudines, Pelomedusidae), na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Amazonas, Brasil. 66f. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas, concentração em Ecologia) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Universidade do Amazonas, Manaus. 1998.

POND, C. M. Morphological aspects and the ecological and mechanical consequences of fat deposition in wild vertebrates. **Annual Review of Ecology and Systematics** .n. 9 p.519-570. 1978.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B. McFARLAND, W. N. **A vida dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu. 1993.

POUGH, F.H.; ANDREWS, R.M.; CADLE, J.E.; CRUMP, M.L.; SAVITZKY, A.H. WELLS, K.D. **Herpetology**. 2nd ed. Prentice Hall, New Jersey. p.612. 2001.

- PRESTON; K.A.; ACKERLY, D.D. The evolution of allometry in modular organisms. In: PIGLIUCCI, M.; PRESTON, K.A. (Ed.). **Phenotypic Integration: Studying the Ecology and Evolution of Complex Phenotypes**. New York: Oxford University Press, chap. 4, p. 80-106. 2004.
- PRITCHARD, P. C. H.; P. TREBBAU. **The Turtles of Venezuela**. Contributions to Herpetology 2. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca. p.403. 1984.
- PRITCHARD, P.C.H. **Encyclopedia of Turtles**. T.F.H. Publ. Inc., Neptune, New Jersey. 859p. 1979.
- REISS, M.J. The allometry of growth and reproduction. **Cambridge: Cambridge University Press**, p.200 1991.
- ROCHA, M. B.; MOLINA, F. B. Observações preliminares sobre a postura de *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1758) em cativeiro (Kinosternidae, Testudines). In: XII Congresso Brasileiro de Zoologia, **Anais...** Campinas: Ed. Unicamp, p. 250. 1985.
- ROCHA, M. B.; MOLINA, F. B. Reproductive biology of *Kinosternon scorpioides* (Testudines: Kinosternidae) in captivity. **Tortoises & Turtles, USA**, n. 5, p. 8-8, 1990.
- ROCHA, M.B.; MOLINA, F.B. Algumas observações sobre a biologia e manejo do muçua. **Aquacultura**, n. 2, p. 25-26, 1987.
- ROWE, J. W., COVAL, K. A. & CAMPBELL, K. C. Reproductive characteristics of female midland painted turtles (*Chrysemys picta marginata*) from a population on Beaver Island, Michigan. **Copeia** , p. 326-336. 2003
- RUEDA-A, J. V. **Programa Nacional para la Conservación de las Tortugas Marinas y Continentales de Colombia Bogotá**, Colombia. Ministerio del Medio Ambiente. Dirección General de Ecosistemas. p.64. 2001.
- RUEDA-ALMONACID, J.V., CARR, J. L.; MITTERMEIER, R. A.; RODRÍGUEZ-MAHECHA, J. V.; MAST, R. B.; VOGT, R. C.; RHODIN, A. G. J.; OSSA-VELÁSQUEZ, J. de la; RUEDA, J. N. & MITTERMEIER, C. G. **Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos del trópico**. Serie de guías tropicales de campo N° 6. Conservación Internacional. Editorial Panamericana, Formas e Impresos. Bogotá, Colombia, p.538. 2007,

- RUSSELL, M. Aquatic turtles of the upper Amazon, Iquitos, Peru. Disponível em: <http://www.animalnetwork.com/reptiles/detail.aspx?aid=1529&cid=596&search=>. Acessado em: 30 set. 2005.
- RYAN, K.M.; LINDEMAN, P.V. Reproductive Allometry in the Common Map Turtle, *Graptemys geographica*. **American Midland Naturalist**. v. 158, p. 49–59, 2007.
- SAINTE-MARIE, B. & C. CARRIÈRE. Fertilization of the second clutch of eggs of snow crab, *Chionoecetes opilio*, from females mated once or twice after their molt to maturity. **Fishery Bulletin**, Oxford. n.93 p.759-764. 1995.
- Savage, J. The Amphibians and Reptiles of Costa Rica: A Herpetofauna Between Two Continents, Between Two Seas. **Chicago University Press**, Chicago, Illinois. 2002.
- SCHILDE (2001)
- SCHINEIDER, L. FERRARA, C. VOGT, R. C. Description of behavioral patterns of *Podocnemis erythrocephala* (Spix, 1824) (Testudines: Podocnemididae) (Red-headed river turtle) in captivity, Manaus, Amazonas, Brazil. **Acta Amazonica**. vol.40, no.4, p.763-770. 2010.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. **Scaling, why is animal size so important?** New York: Cambridge University Press, p.241 1984.
- Schwarzkopf, L., and Brooks, R.J. Annual variations in reproductive characteristics of Painted Turtles (*Chrysemys picta*). *Canadian Journal Zoological* n.64 p. 1148–1151. 1986.
- SENNEKE, D. Genus *Kinosternon*. Disponível em: [www.chelonia.org/articles/kinostremidaecare.htm](http://www.chelonia.org/articles/kinostremidaecare.htm). Acessado em: 30 set. 2005.
- SEXTON, O.J. Notas sobre la reproduccion de una tortuga venezolana, la *Kinosternon scorpioides*. **Memória de La Sociedad de Ciências Naturales La Salle**, v. 20, n. 57, p. 189-197, 1960.
- SILVA, A. S.L. Aspecto reprodutivo do muçua ( *Kinosternon scorpioides* ) em cativo. Dissertação de mestrado Universidade Estadual Paulista. 95f. 2011.
- SILVA, A.S.L.; PALHA, M.D.C.; RIBEIRO, A.S.S.; CASTRO, A.B.; SILVA, W.B.; OLIVEIRA, F.A.; ARAÚJO, J.C. Aspectos da nidificação e de ovos de muçua ( *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 ) mantidos em cativo sob distintos

regimes alimentares. In: II Seminário de Iniciação Científica da UFRA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental, fevereiro 2005, UFRA, Belém -PA. **Anais...** II Seminário de Iniciação Científica da UFRA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental. Belém: SDI/UFRA, p. 8 (CD-ROM). 2004.

SINERVO, B, DOUGHTY, P. Interactive effects of offspring size and timing of reproduction on offspring reproduction: experimental, maternal, and quantitative genetic aspects. **Evolution** n.50 p.1314-1327. 1996.

SMITH, C.C. FRETWELL. S.D. The optimal size and number of offspring. *American Natural* v.108 n.962 p. 499-506. 1974.

SMITH, H. M.; SMITH, R.B. Synopsis of the Herpetofauna of Mexico. **Volume VI. Guide to Mexican Turtles**. Bibliographic Addendum III. p.1044. 1979

SOARES, M.F.G.S. Distribuição, mortalidade e caça de *Podocnemis expansa* (Testudines: Pelomedusidae) no rio Guaporé. Manaus, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA (Dissertação de Mestrado em Ecologia – INPA). 54p. 2000.

SOINI, P.. Biología y manejo de la tortuga *Podocnemis expansa* (Testudines, Pelomedusidae). **Tratado de Cooperación Amazonica**, Caracas, Venezuela. p.47 1980.

SOMMA. L. A. *Kinosternon scorpiodes* . USGS Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL. Disponível em: <http://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.asp?SpeciesID=1266>. Acessado em: 03 jul. 2005

SOUZA, F.L. Uma revisão sobre padrão de atividade, reprodução e alimentação de cágados brasileiros (Testudines: Chelidae). **Phyllomedusa**. v.3 n.1 p. 15-27. 2004.

SOUZA, F.L.; GIRALDELLI, G.R.; MARTINS, T.A. Reproductive aspects of brazilian sidenecked- turtles (Chelidae). **Boletín de La Asociación Herpetológica Española**, Logroño, v. 17, n. 1, p. 28-34, 2006.

SOUZA, N. A. L. Investimento parental em quelônios: conteúdo energético e nutricional de ovos de espécies amazônicas. Monografia (Especialização em Manejo

- para a Conservação e Produção de Animais Silvestres). Belém: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, p.55. 1998.
- TEIXEIRA, A.S., JAMIESON, A., RAPOSO, J.C.P. & VIEIRA, A.A. Transferrin polymorphism in amazon turtle (*Podocnemis expansa*) stocks. **Brazilian Journal of Genetics**, v.19, n. 4, p.559-564. 1996.
- THORBJARNARSON, J. B., AND G. HERNANDEZ. Reproductive ecology of the Orinoco Crocodile (*Crocodylus intermedius*) in Venezuela. I. Nesting ecology and dutch relationships. **Journal of Herpetology** n.27 p.363-370. 1993.
- TINKLE, D.W.; CONGDON, J.D.; ROSEN, P.C. Nesting frequency and success: implications for the demography of painted turtles. **Ecology**, Washington, v. 62, n. 6, p. 1426-1432, 1981.
- TUOMI, J.; T. HAKALA & E. HAUKIOJA. 1983. Alternative concepts of reproductive effort, costs of reproduction, and selection in life-history evolution. **American Zoologist**, Thousand Oaks, 23: 25-34.
- Turtle Taxonomy Working Group (A.G.H. RHODIN, J.F. PARHAM, P.P. VAN DIJK AND J.B. IVERSON). Turtles of the World: Annotated Checklist of Taxonomy and Synonymy, 2009 Update, with Conservation Status Summary. **Chelonian Research Monographs** n.5. p. 39-84. 2009.
- URBAN, T. **Saudade do matão: lembrando a história da conservação da natureza no Brasil**. Curitiba: UFPR, p.374. 1998.
- VALENZUELA, N. Maternal effects on life-history traits in the Amazonian giant river turtle *Podocnemis expansa*. **Journal of Herpetology**, v.35 n.3 p. 368-378. 2001.
- VANZOLINI, P.E. A brief biometrical note on the reproductive biology of some South American *Podocnemis* (Testudines, Pelomedusidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**. v.31 n.5 p. 79-102. 1977.
- VANZOLINI, P.E.; RAMOS-COSTA, A.M.M.; VITT, L.J. Répteis das caatingas. Rio de Janeiro: **Academia Brasileira de Ciências**, p.161. 1980.
- VERDADE, L. M.. Alometria reprodutiva em jacarés-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*). **Brazilian Journal of Biology**, v.61, n.3, p.431-435, ago. 2001.
- VERÍSSIMO, J. A pesca na Amazônia. Monografias Brasileiras III. Rio de Janeiro: Livraria Clássica de Alves. 207p. 1895.

VIANNA, C.M. A tartaruga no contexto histórico. Preservação da tartaruga da Amazônia. Ministério da Agricultura. DEMA/ PA, IBDF, Belém (PA), 37-65p. 1973.

VINKE, T. & S. VINKE. **The turtle and tortoise fauna of the central Chaco of Paraguay**. *Radiata*. v.10 n.3, 2001.

VOGT, R. C. **Amazon Turtles**. 1. ed. Lima: Biblos, v. 1. p.104. 2008.

VOGT. Ficha consolidada por espécie de quelônio continental avaliação do estado de conservação Disponível em [http://www4.icmbio.gov.br/ran/download.php?id\\_download=133](http://www4.icmbio.gov.br/ran/download.php?id_download=133). 2010

VOGT, R.C.; MOREIRA, G.M. & DUARTE, A.C.O.C. Biodiversidade de répteis do bioma floresta Amazônica e ações prioritárias para sua conservação. In: CAPOBIANCO, J.P.R.; VERÍSSIMO, A.; MOREIRA, A.; SAWYER, D.; SANTOS, I. & PINTO, L.P. **Biodiversidade na Amazônia brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação, uso sustentável e repartição de benefícios**. São Paulo. Estação Liberdade. Instituto Socioambiental. 2001.

WALLACE, A.R. **A narrative of travels on the Amazon and Rio Negro**. Breenwood Press, New York. 1853.

WANG, W., LI, C., YU, J., JIANG, Z., SI, Y., YIN, S., & QIAN, G. Morphologic analysis of atretic follicles in the Chinese soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Tissue & Cell*, 45, 383–386. 2013.

WILKINSON, L. R. GIBBONS. J. W. Patterns of reproductive allocation: clutch and egg size variation in three freshwater turtles. **Copeia**. n.4 p.868–879. 2005.

WILLIAMS, G.C. Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. **American Naturalist**, Chicago, n.100 p. 687-690. 1966.

WINOKUR, R.M. & LEGLER, J.M. Chelonian mental glands. **Journal of Morphology** n.147 p. 275-292. 1975.