

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

DANDARA FRANCO FERREIRA DA SILVA

ABSORÇÃO DO VITelo EM *Trachemys* sp (TESTUDINES: EMYDIDAE)

UBERLÂNDIA - MG

2019

DANDARA FRANCO FERREIRA DA SILVA

ABSORÇÃO DO VITELLO EM *Trachemys sp* (TESTUDINES: EMYDIDAE)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como exigência parcial para obtenção do título de Médica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos

Coorientadoras: Prof^a Dr^a Líria Queiroz Luz Hirano
Médica Veterinária Thaís Aparecida Silva

UBERLÂNDIA – MG

2019

DANDARA FRANCO FERREIRA DA SILVA

ABSORÇÃO DO VITELLO EM *Trachemys* sp (TESTUDINES: EMYDIDAE)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como exigência parcial para obtenção do título de Médica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos

Coorientadoras: Prof^a Dr^a Líria Queiroz Luz Hirano
Médica Veterinária Thaís Aparecida Silva

Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos, UFU/MG

Prof^a Dr^a Lucélia Gonçalves Vieira, UFG/GO

Médica Veterinária Thaís Aparecida Silva, UFU/MG

Dedico este trabalho aos meus avós, em especial minha avó materna Antonina Canuta da Silva, carinhosamente apelidada como Dindinha, da qual me lembro sempre com saudades de suas risadas e ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concedido força, coragem, comprometimento e fé no meu potencial durante toda a graduação. Agradeço à minha mãe pela paciência, compreensão, lutas e sacrifícios sem sequer demonstrar tristeza ou cansaço; também agradeço por ter suprido todas as minhas necessidades durante a vida e sempre ter feito o melhor por mim, mesmo que eu ainda não tenha compreendido isso. Agradeço ao meu pai e à minha família pelo apoio e dedicação.

Agradeço a todos os meus amigos pelos momentos de alegria, apoio, medo coletivo dos finais de período, reconciliações e amigos-secretos. Em particular, à Bia por ter me dado o apoio tecnológico necessário na reta final do trabalho e ao Julio por ser meu irmão científico e ter me auxiliado na confecção e interpretação dos gráficos. Agradeço à Juliana, Geovanna, Sthéfany, Ana Carolina, Marco Aurélio, por sermos tão diferentes um do outro e ainda assim termos o anseio de nos encontrar todos os dias. Agradeço também à Letícia e à Bruna e aos meus amigos de Franca/SP Nayara, Poliana, Jéssica, Iago, Luana, Isadora e Izabella porque me ajudaram a formar personalidade e a ter conhecimento de mundo, características sem as quais eu não teria chegado até aqui. Agradeço ainda às amizades que cultivei no ambiente universitário/acadêmico, todas sempre enriquecedoras para minha formação pessoal e profissional.

Agradeço ao meu orientador, Professor Doutor André Luiz Quagliatto Santos por ter depositado em mim a confiança para execução desse trabalho, pelas inúmeras oportunidades oferecidas durante a graduação e pelos conhecimentos agregados durante aulas e conversas. Às minhas coorientadoras, Professora Doutora Líria Queiroz Luz Hirano que, mesmo longe fisicamente, foi crucial para adequadas escrita e agregação de conhecimentos técnico-científicos ao trabalho e à Médica Veterinária Thaís Aparecida Silva, de grande importância nas logísticas implícitas à parte prática do experimento e por toda ajuda antes e durante a defesa do TCC. Agradeço ainda à MSc Juliana Mendonça, sempre muito atenciosa e paciente, e à Pós-doutoranda Carolina Salomão, cuja ajuda para confecção e interpretação de dados estatísticos me gerou muito ânimo em relação aos resultados do trabalho.

Agradeço também a todos os colaboradores do LAPAS, em especial David, Marli, Dona Magna, Flavio, Paola, Gabriel, Fabiana e Aline, que foram peças-chave no desenvolvimento prático dos procedimentos e sempre demonstraram gentileza, paciência e atenção para com a minha pessoa, tornando o ambiente de trabalho mais leve e agradável.

Agradeço ao meu namorado Epifânio Marcos Djú pela ancestralidade, pelos momentos de amor e carinho e por me ensinar que é muito importante viver um dia de cada vez e, finalmente, a mim mesma, Dandara Franco Ferreira da Silva, por sempre manter a mente aberta às novas ideias e concepções e por ter hábitos de autocuidado e autopreservação a fim de tentar ser uma pessoa melhor.

RESUMO

Os tigras d'água são répteis pequenos e de fácil manejo quando comparados a outras espécies de Testudines, o que torna comum sua criação como animais de estimação. Entender aspectos nutricionais e fisiológicos desses indivíduos, desde a fase neonatal, é relevante para a sua adequada manutenção em cativeiro. Assim, o presente trabalho teve como objetivo acompanhar a absorção do vitelo em filhotes de *Trachemys* sp. após a eclosão dos ovos. Foram utilizados 90 filhotes de tigras-d'água, pertencentes ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS-UFU), cujos ovos foram recolhidos dos ninhos e incubados artificialmente por período médio de 63 dias. A cada eclosão, os filhotes foram avaliados macroscopicamente em relação ao padrão de internalização do vitelo. Adicionalmente, foi realizada eutanásia dos animais e os cadáveres foram individualmente dissecados para a avaliação do vitelo. As variáveis analisadas foram: comprimento, largura e altura. Formaram-se seis grupos de 15 indivíduos cada, de forma que cada grupo representava um intervalo de idades, a fim de obter diferenças estatísticas baseadas nas dimensões dos vitelos. O tempo médio de absorção do vitelo foi equivalente a 90 dias. Foi observado que a dimensão comprimento diminuiu de forma constante (a partir dos 15 dias de idade) e a largura e a altura tiveram suas reduções ao final do experimento (60 e 75 dias, respectivamente).

PALAVRAS-CHAVE: Anexos embrionários. Trato gastrointestinal. Embriologia. Incubação artificial. Morfometria.

ABSTRACT

Tortoises are small animals, easily handled and quite sympathetic, qualities that turn them one of the most usual pet. Understanding the type of nutritional management that tortoise demand and watching the physiology related to it, since the neonatal development, are important items to keep captive animals healthy. In this manner, the present research aimed to accompany the yolk absorption in *Trachemys* sp. hatchling. There was used 90 hatchling tortoise from the Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres of Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS-UFU), whose eggs were taken and artificially incubated for an average period of 63 days. After hatchling, the yolk internalization pattern was evaluated. Additionally, euthanasia was done with thiopental sodium diluted in lidocaine applied into the celoma cavity and each body was individually dissected in order to evaluate the yolk. Analyzed variables were: length, width and height. Six groups of 15 individuals, each one, were formed, each group being represented by a different age range, in order to obtain statistical differences based on yolk sizes. The mean time of yolk's absorption was 90 days. It was observed that the length dimension decreased steadily (from 15 days of age) and width and height had their reductions at the end of the experiment (60 and 75 days, respectively).

KEY-WORDS: Embryonic attachments. Gastrointestinal tract. Embryology. Artificial incubation. Morphometry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 ANEXOS EMBRIONÁRIOS DE RÉPTEIS	12
2.1.1 CASCA.....	12
2.1.2 VITELO.....	12
2.1.3 ALBÚMEN	12
2.2 DESENVOLVIMENTO ENTÉRICO EM RÉPTEIS	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1 MONTAGEM DO NINHO ARTIFICIAL.....	24
3.2 COLETA DOS OVOS E INCUBAÇÃO ARTIFICIAL	24
3.3 MANEJO DOS FILHOTES RECÉM-NASCIDOS	25
3.4 PROTOCOLO DE EUTANÁSIA E MENSURAÇÃO DO VITELO	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS	35
ANEXO A.....	33
ANEXO B.....	34
ANEXO C.....	35

1 INTRODUÇÃO

Os representantes da ordem Testudines, outrora conhecidos como quelônios, são répteis que possuem como principal característica anatômica um casco rígido, que confere proteção contra predadores, variações de temperatura e pressões ambientais. Esses animais surgiram há cerca de 200 milhões de anos e pertencem à classe Reptilia e subclasse Anapsida. Essa última se divide em duas subordens, a Cryptodira, que compreende os jabutis e as tartarugas dulcícolas e marinhas, com flexão do pescoço em sentido craniocaudal, e a Pleurodira, representada por cágados, que recolhem o pescoço lateralmente (CUBAS & BAPTISTOTTE, 2007).

Os tigras-d'água são Testudines do gênero *Trachemys* pertencentes à família Emydidae. No Brasil, duas espécies são comumente encontradas em cativeiro, a *T. dorbignyi* (Duméril & Bibron, 1835) e a *T. scripta elegans* (Wied, 1838). A primeira tem por *habitat* ambientes como lagos, rios e açudes, e se distribui na Argentina, no Uruguai e no estado brasileiro do Rio Grande do Sul (ICMBio, 2015), enquanto a segunda ocorre nos Estados Unidos, nos estados do Texas, do Novo México, do Oklahoma, do Tennessee e do Alabama (PRITCHARD, 1979).

Segundo Rossi et al. (2006), família Emydidae é caracterizada por possuir tartarugas semiaquáticas que ocorrem em todos os continentes, exceto na Austrália e na Antártica. Ainda abarca as subfamílias Batagurinae e Emydinae, cujos indivíduos são classificados de acordo com as características da mandíbula, do crânio e da coluna cervical (PRITCHARD, 1979).

Os répteis são animais ectotérmicos, ou seja, sua temperatura corporal varia de acordo com a do ambiente, o que demanda cuidados especiais de manejo para exemplares de cativeiro. No caso do gênero *Trachemys*, a temperatura varia entre 25 e 30°C, como observado por Molina e Gomes (1998), com reprodução sazonal em ambientes naturais. O período de incubação, de acordo com Cubas e Baptistotte (2007), dos ovos de Testudines varia de acordo com a espécie e as condições ambientais observadas. Quanto à morfologia dos ovos, são esféricos, com casca rígida ou flexível.

Os ovos da maior parte dos Testudines, incubados em temperatura constante, apresentam limites de temperatura mínimo e máximo: 22°C e 33°C, respectivamente. Isso significa que temperaturas de incubação superiores ou inferiores a essas não proporcionam eclosão adequada dos ovos (EWERT 1979; CONGDON & GIBBONS 1990). Além disso, estudos demonstram que há uma relação inversa entre a temperatura e o tempo de incubação

(MOLL & LEGLER 1971; EWERT 1979, 1985; VOGT 1980, 1990; JACKSON 1988; CONGDON & GIBBONS, 1990).

Alho et al. (1984) concluíram que a maioria das tartarugas não possui cromossomos sexuais heteromórficos e, portanto, o sexo dos embriões é determinado pela temperatura de incubação. Também há indícios de que a manipulação dos ovos pode aumentar o número de machos da ninhada. Estudo realizado por Janzen et al. (1998), em *Trachemys scripta elegans*, comprova que a determinação sexual dessa subespécie é feita pela temperatura de incubação.

O processo de desenvolvimento adequado de um embrião no ovo é dependente da qualidade dos anexos embrionários, relacionados à saúde da fêmea em oviposição. Dessauer (1974) aponta que é exigida uma quantidade considerável de energia, a qual é obtida da gordura corporal, para que ocorra a vitelogênese. Uma vez que as gorduras são essenciais para o metabolismo dos animais, sobretudo os de vida livre, é importante considerar períodos de baixa oferta de alimentos, o que demanda mobilização de depósitos endógenos de lipídios. Isso também ocorre nas estações reprodutivas para os processos de folículo gênese, ovogênese e ovipostura (ARAÚJO et al., 2015).

Desse modo, o objetivo do trabalho foi avaliar o tempo de absorção do vitelo em *Trachemys* sp.

2 REVISÃO DE LITERATURA

De acordo com Connor (1992), o tigre d'água-americano (*T. scripta elegans*) é o réptil mais criado como animal de estimação no mundo. O manejo desses animais em cativeiro é relativamente simples, com baixo custo de manutenção e despesas veterinárias (PARANZINI; TEIXEIRA; TRAPP, 2008). Além disso, a criação de répteis chama atenção e desperta interesse comercial por serem animais diferentes e por não demandarem muita atenção emocional, quando comparados aos pets convencionais (MESSONIER 1995, 1996).

A ocorrência natural do tigre d'água-brasileiro (*Trachemys dorbignyi*) se dá no estado do Rio Grande do Sul. A portaria número 46, de 8 de abril de 2015, da Secretaria do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável, veta a criação e comercialização das espécies e subespécies exóticas e nativas das tartarugas de água doce do gênero *Trachemys* em todo o território do estado do Rio Grande do Sul, e também resolve que soltura, reintrodução e translocação ou doação de espécimes nativos e exóticos serão permitidas somente a partir de autorização de órgão competente.

Existem muitos estudos acerca dos aspectos reprodutivos dos Testudines de forma geral, como no caso das tartarugas marinhas, que englobam principalmente a descrição das migrações das áreas de forrageamento até as de acasalamento (CUBAS & BAPTISTOTTE, 2007). Apesar do referido interesse na criação de *Trachemys* sp., ainda são encontradas dificuldades no manejo nutricional, tanto do filhote quanto do adulto, por falta de conhecimentos aprofundados.

Ainda dentro do ovo, o filhote de *Trachemys* sp. tem todas as necessidades nutricionais supridas pelo vitelo. Após a eclosão, é possível ainda observar esse anexo externo à cavidade celomática, que posteriormente é internalizado mediante união dos escudos abdominais e femorais (MOLINA & GOMES, 1998), de forma proporcional ao crescimento do indivíduo. Quando o filhote é comercializado, sua adaptação a rações comerciais é feita de forma empírica, uma vez que ainda não há dados acerca do tempo de permanência do vitelo após a eclosão.

2.1 ANEXOS EMBRIONÁRIOS DE RÉPTEIS

As estruturas básicas do ovo de répteis são a casca, o vitelo e o albúmen.

2.1.1 CASCA

A casca do ovo alberga o embrião contra agentes físicos e químicos que possam prejudicar seu crescimento e, de acordo com Ferreira et al. (2014), essa estrutura fornece nutrientes como o cálcio, que auxilia no desenvolvimento embrionário.

Tartarugas e cágados apresentam ovos com cascas formadas por uma membrana fibrosa e uma camada calcária ligada à superfície externa da primeira, cujo componente principal é o carbonato de cálcio (PACKARD, 1991). Além disso, a composição química da casca do ovo influencia na sua textura, que varia entre rígida e flexível (FERREIRA, 2014). Em qualquer estudo morfológico de casca de ovos é constatada a presença de poros importantes para trocas gasosas e para manutenção da vida do embrião no ovo (SAHOO et al. 1998).

2.1.2 VITELO

O vitelo e o saco vitelínico são fonte de energia primária para o embrião e para o filhote e são importantes sítios de armazenamento de ácidos graxos, hormônios, proteínas e minerais. Essa estrutura é sintetizada a partir do oócito primário e depositada de forma contínua durante o desenvolvimento dos folículos ovarianos, de forma que, após a ovulação, é delimitada pela membrana vitelínica. Além de fornecer nutrientes, o vitelo retém, de forma não seletiva, metabólitos lipossolúveis ou com afinidade com proteínas plasmáticas que podem representar risco à vida do embrião (ITO, MIYAJI & MIYAJI, 2013).

Em aves, o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal controla todos os processos inerentes à ovulação, formação do ovo e ovoposição. Ademais, o fígado e a fração plasmática do sangue circulante fornecem elementos precursores dos componentes do ovo. Adicionalmente, o rim, o osso medular e a paratireoide fazem parte do processo de formação da casca do ovo e os adipócitos depositados na medula dos ossos longos e nas vísceras funcionam como fonte dos lipídios que formarão o vitelo (ITO, MIYAJI & MIYAJI, 2013).

2.1.3 ALBÚMEN

O albúmen é fonte de água e peptídeos antimicrobianos que auxiliam na proteção imunológica do embrião. É um anexo composto por alguns tipos de proteínas que desempenha notável papel de proteção contra eventuais patógenos. Segundo Johnson (2000), a ovoalbumina é uma importante fonte de aminoácidos para o embrião e suprime a capacidade enzimática no ovo, a proteína ovotransferrina se liga ao ferro e inibe o crescimento de microrganismos patogênicos, e a ovomucoide previne a degradação da própria albumina durante a incubação

dos ovos mediante inibição da atividade de proteases. De acordo com Keller (2017), ao contrário das aves, os ovos de répteis não possuem chalaza, por isso é imprescindível a manutenção do ovo na mesma posição durante todo o período de incubação.

A reprodução dos Testudines se dá pela oviposição, isto é, pela postura de ovos que contêm o embrião e seus anexos, com desenvolvimento fora do corpo materno. Essa característica é compartilhada pelas aves, cujos estudos embriológicos são mais frequentes e permitem a inferência de informações para répteis ovíparos. Além disso, há uma similaridade entre o padrão de desenvolvimento dos órgãos, o que favorece estudos comparativos entre as classes (GILBERT, 2010).

Outros anexos embrionários de répteis e de aves são representados pelo albúmen, o âmnio, o córion, o alantoide, a membrana corioalantoide e o vitelo. O primeiro é importante para o fornecimento de água, minerais e proteínas ao embrião (EVERAERT & DECUYPERE, 2013), enquanto o âmnio é uma estrutura altamente muscular que garante um fluido subembrionário homogêneo que confere isolamento térmico, proteção contra choques e ainda evita que o embrião sofra aderências a outras membranas (ROMANOFF, 1960). O córion reveste a superfície interna da membrana da casca (DEEMING, 2002), o alantoide, apresenta um fluido com alta capacidade tamponante (RANGLES & ROMANOFF, 1954) e a membrana corioalantoide é responsável pelo transporte de cálcio da casca do ovo para o embrião, funciona como órgão respiratório, participa do equilíbrio acidobásico embrionário e reabsorve água e eletrólitos da cavidade do alantoide (GABRIELLI & ACCILI, 2010). Por fim, o vitelo, ou gema, é rico em lipídios e atua como fonte primária de energia para o crescimento embrionário (EVERAERT & DECUYPERE, 2013).

A membrana do saco vitelínico é vascularizada, o que permite o transporte de nutrientes do vitelo para a circulação sanguínea (DEEMING, 2002), e sua posterior distribuição em outros tecidos. Segundo Everaert & Decuypere (2013), essa importante estrutura surge como uma extensão do sistema digestório e, à medida que avança o desenvolvimento do indivíduo, une-se ao intestino delgado na junção jejuno-ileal por meio de um prolongamento, o pedículo vitelínico (TAVERNARI & MENDES, 2009).

Duas regiões morfológicas compõem a membrana do saco vitelínico, uma é a área vitelínica não vascular, periféricamente, e a outra corresponde à área interna, altamente vascularizada (DEEMING, 2002). Em estágios de desenvolvimento avançados do embrião, os vasos sanguíneos progridem sobre a área vitelínica, de modo que na fase final, toda a membrana se torna vascularizada (FREEMAN & VINCE, 1974).

Em aves domésticas, a membrana do saco vitelínico atua como principal estrutura respiratória durante o primeiro terço da incubação até que a membrana corioalantoide se desenvolva (EVERAERT & DECUYPERE, 2013). Os papéis mais importantes desempenhados pela membrana do saco vitelínico são fornecer nutrientes ao embrião, com funções de absorção e digestão, bem como o fato de ser um sítio de produção de proteínas específicas, aminoácidos e sangue (FREEMAN & VINCE, 1974). Cesario (2013) relata que o ovo dentro de sua casca calcária é uma unidade autossuficiente na produção dos nutrientes necessários ao desenvolvimento do embrião e necessita do meio externo para obter suprimento de oxigênio.

2.2 DESENVOLVIMENTO ENTÉRICO EM RÉPTEIS

As etapas do processamento do alimento nos répteis, assim como nos demais animais, podem ser resumidas em obtenção do alimento, digestão mediante mecanismos físicos e químicos, e absorção para a corrente sanguínea, com posterior aproveitamento das moléculas resultantes pelos variados sistemas do organismo (RANDALL; BURGGREN; FRENCH, 2000; SCHMIDT-NIELSEN, 2002). Dessa forma, a função principal do sistema digestório é proporcionar a absorção dos nutrientes a partir da quebra dos alimentos em partículas passíveis de travessia pelo epitélio intestinal para que alcancem a corrente sanguínea e as células de todo o corpo (OLIVEIRA, 1971; SCHMIDT- NIELSEN, 2002; WIDMAIER; RAFF; STRANG, 2006).

Tavernari e Mendes (2009) relatam que em galinhas e frangos, a absorção total do vitelo ocorre em torno do sexto ou sétimo dia de vida e que, nesse período, o trato gastrintestinal (TGI) é colonizado por microrganismos aeróbicos e anaeróbicos. Além disso, os pesquisadores reforçam que o vitelo contém todos os nutrientes necessários ao desenvolvimento da mucosa jejunal e, durante o desenvolvimento *in ovo*, essas duas estruturas estão intimamente ligadas.

Os referidos nutrientes do vitelo são compostos por imunoglobulinas, envolvidas na imunidade passiva, e ácidos graxos n-3 e vitaminas lipossolúveis, relacionados à modulação da resposta imune. Sabe-se que é importante iniciar a alimentação de pintinhos o mais cedo possível, uma vez que o alimento estimula o desenvolvimento da mucosa intestinal (TAVERNARI & MENDES, 2009). Também é comum que se introduza alimentação externa a filhotes de *Trachemys* sp. mesmo que seu vitelo não tenha sido completamente absorvido ou internalizado à cavidade celomática.

No intestino estão presentes as células caliciformes, secretoras de glicoproteínas que protegem o epitélio da ação das enzimas digestivas e de efeitos corrosivos que a ingesta possa causar tanto no desenvolvimento *in ovo*, quanto após a eclosão. Entretanto, por volta do décimo oitavo dia de incubação, a glicosilação do muco intestinal é alta e isso coincide com a ingestão do albúmen pelo embrião, quando então ocorre a primeira ação de enzimas pancreáticas e do suco gástrico (TAVERNARI & MENDES, 2009).

Existem ainda as células enteroendócrinas que produzem hormônios peptídicos como gastrina, colecistoquinina e secretina, bem como as monoaminas biogênicas, moléculas que participam dos processos de digestão, absorção e utilização dos nutrientes. Adicionalmente, o fígado armazena carboidratos, gorduras e vitaminas nas fases embrionária e fetal, além de produzir células sanguíneas e o suco biliar (TAVERNARI & MENDES, 2009). De posse dessas informações, um desenvolvimento adequado do trato gastrointestinal de *Trachemys* sp., em especial dos intestinos, determina a quantidade e a qualidade dos nutrientes que serão utilizados ao longo da vida do animal.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho possui parecer favorável da Comissão de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia número 148/12 e licença SISBIO/ICMBio número 40373.

3.1 MONTAGEM DO NINHO ARTIFICIAL

Os filhotes de *Trachemys* sp. utilizados na pesquisa eram procedentes do plantel do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS – UFU). Foi realizado o acasalamento de indivíduos adultos, sendo 67 fêmeas e 66 machos, nos meses de outubro e novembro e observou-se a ocorrência de cópula. As fêmeas recém-cobertas foram transferidas para um recinto cimentado com dimensão de 2,70 x 2 m (comprimento x largura) com presença de luz natural e áreas de sombra. A fim de acompanhar a desova de cada fêmea, procedeu-se com exame radiográfico do trato reprodutivo no final do mês de outubro.

No local havia uma área alagada com água corrente e uma parte seca na qual foi montada uma caixa de madeira retangular, com dimensão de 1,5 x 0,9 x 0,7 m (comprimento x largura x altura), preenchida com areia fina como substrato, para a utilização como ninho (Figura 1). No período noturno, a caixa foi coberta com telhas de plástico de 2,30 x 1 m (comprimento x largura) para evitar umidade excessiva causada pela água da chuva. Uma tábua de madeira de 0,7 x 0,3 m (comprimento x largura) foi acoplada em posição inclinada à caixa para mimetizar uma rampa e facilitar a entrada dos animais para oviposição.

3.2 COLETA DOS OVOS E INCUBAÇÃO ARTIFICIAL

Diariamente, a areia era revolvida com cuidado para identificação e coleta dos ovos que, quando encontrados, eram transferidos para bandejas plásticas de dimensão de aproximadamente 0,3 m de comprimento por 0,2 m de largura preenchidas com uma mistura de água destilada e vermiculita na proporção de 1:1 (Figura 2 B). Os ovos foram retirados da areia e alocados na bandeja na posição a qual foram encontrados e cobertos com uma camada grossa da mistura com vermiculita.

As bandejas com os ovos foram colocadas em uma incubadora artificial, com temperatura regulada entre 28,5°C e 30,2°C e umidade entre 61,5% e 85%, por meio de termostato e da umidificação com água quando necessário por um período médio de 63 dias.

Figura 1: caixa de madeira utilizada como ninho artificial para *Trachemys* sp., antes do preenchimento com areia



3.3 MANEJO DOS FILHOTES RECÉM-NASCIDOS

À medida que ocorria a eclosão dos ovos (Figura 2 A), a exposição do vitelo foi avaliada. Indivíduos com o vitelo totalmente dentro da cavidade celomática foram identificados com esmalte colorido, de acordo com o número de escudos córneos presentes na carapaça, e transferidos para uma caixa com tampa fenestrada transparente, contendo água e um bloquete para piso intertravado, como parte seca.

Em contrapartida, os filhotes com o vitelo ainda exposto permaneceram dentro da incubadora no substrato vermiculita até que sua interiorização completa fosse constatada mediante avaliação visual. Uma vez considerados aptos para serem incluídos no experimento, os animais foram alimentados *ad libitum* com ração comercial extrusada, uma vez ao dia. A fim de respeitar a taxa de lotação nas caixas com água, os animais foram divididos em lotes de dez exemplares, de acordo com a data de nascimento.

Figura 2 - A e B: Ovos de *Trachemys* sp em processo de eclosão e acondicionamento de ovos de *Trachemys* sp em vermiculita, após a coleta no ninho artificial, respectivamente



3.4 PROTOCOLO DE EUTANÁSIA E MENSURAÇÃO DO VITELO

Para obter as medidas de comprimento, largura e altura do vitelo, procedeu-se com a eutanásia dos animais, conforme previsto na resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária número 1000/2012, mediante sobredose de 150 mg/kg de tiopental sódico (Thiopentax ®, Cristália Prod. Quím. Farm. Ltda., Ponte Preta, São Paulo, Brasil) diluído em cloridrato de lidocaína 2% (Cloridrato de Lidocaína 2% ®, Novafarma Indústria Farmacêutica Ltda., Anápolis, Goiás, Brasil), na concentração de 10 mg/mL, aplicada por via intracelomática. A constatação do óbito foi feita por meio da observação da perda dos reflexos protetores (palpebral, corneal e cloacal), do relaxamento do animal e da presença de assistolia por meio de um Doppler vascular veterinário (Doppler Vascular Veterinário ® Portátil, Empresa Brasileira de Cirurgia Veterinária Ltda., Paulínia, São Paulo, Brasil).

Com uma tesoura cirúrgica pequena, o plastrão foi retirado por meio do rompimento das pontes ósseas do casco e divulsão do tecido conjuntivo entre a face interna do plastrão e os órgãos, a fim de evitar rupturas. Após a retirada do plastrão, foram colhidas amostras de sangue

no seio venoso occipital ou diretamente do coração para confecção de lâminas para microscopia, que foram fixadas em álcool metílico e coradas com colorações Giemsa ou Panótico Rápido, cada qual com seu protocolo (SLOSS et al., 1999).

O vitelo (Figuras 4 e 5), por sua vez, foi individualizado com auxílio de pinça anatômica e suas dimensões foram avaliadas por meio de um paquímetro digital Lee Tools ® 150 mm (DBC Oxigênio, Boituva, São Paulo, Brasil). Uma vez retiradas as medidas do vitelo, a carcaça foi conservada em formol tamponado. O critério utilizado na seleção dos indivíduos foi um dia após ter sido observada interiorização do vitelo, ou seja, um dia de vitelo internalizado correspondeu a um dia de idade. O intervalo inicial dos procedimentos foi de cinco dias, sujeitos a alterações de acordo com o comportamento apresentado durante a realização do experimento. Percebeu-se uma significativa amplitude de variação das dimensões do vitelo no intervalo proposto que, por sua vez foi modificado para três dias, o que proporcionou a obtenção de filhotes com diferentes idades. Por fim, a seleção dos indivíduos foi feita com base na ordem crescente de idades.

Figura 3: trato gastrointestinal individualizado de um filhote de *Trachemys* sp de 86 dias de idade. A seta aponta para o vitelo, que se encontra ligado à porção média do intestino delgado (jejuno)



Os filhotes foram reunidos a cada 15, totalizando seis grupos com idades distintas, sendo elas 0 a 15 dias, 15 a 30 dias, 30 a 45 dias, 45 a 60 dias, 60 a 75 dias e 75 a 90 dias. Uma vez que os valores obtidos não foram paramétricos, foi utilizado, por meio programa operacional Prism5, o Teste de Kruskal-Wallis, que fornece valores de significância nestes casos, com significância de $p < 0,05$. Posteriormente, aplicou-se o Teste de Dunn's para comparação dos referidos intervalos presentes no estudo.

Figura 4: Vitelo de um filhote de *Trachemys* sp. de 5 dias de idade



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O período de incubação descrito por Rossi et al. (2006) para o tigre d'água brasileiro (*Trachemys dorbignyi*) varia entre 54 dias a 31,5°C e 120 dias a 25°C. Em estudo realizado com *Trachemys scripta elegans*, o tempo de incubação dos ovos variou entre 58,7 e 93 dias, sendo que a temperatura ótima se encontra entre 25°C e 30°C (MOLINA & GOMES, 1998). As temperaturas de incubação apresentadas nesse trabalho estão de acordo com as referidas literaturas (28,5°C a 30,2 °C), bem como o tempo médio de incubação, que foi em média 63 dias para *Trachemys* sp.

Na reprodução das tartarugas na natureza, sabe-se que após a postura, os ovos ficam expostos ao ambiente. Pode ser que condições adversas afetem a incubação e, conseqüentemente, a qualidade do processo de absorção do vitelo. Uma vez que as fêmeas não apresentam comportamento de cuidado parental, a nidificação ocorre em cinco etapas básicas: a deambulação, a abertura da cova, a postura dos ovos, o fechamento da cova e o abandono do ninho (MOLINA, 1992). Esse comportamento foi bem observado durante o estudo, visto que havia necessidade de coleta dos ovos de forma periódica para que as fêmeas não danificassem os ninhos umas das outras, devido à ausência de cuidado parental em *Trachemys* sp.

Embora não haja informações sobre o período exato de absorção do vitelo em *Trachemys* sp., foi possível, mediante agrupamento dos indivíduos e aplicação de testes estatísticos, verificar que o período em que houve maiores taxas de absorção em cada uma das variáveis: comprimento, largura e altura. Para a variável comprimento, houve diferença estatística em todos os intervalos propostos ($p < 0,05$). Também observou-se que a diferença dessa variável teve queda proporcional durante o estudo e indicou que o vitelo é absorvido primariamente no sentido do comprimento. De acordo com o programa operacional Prim5, intervalos de 30 dias representaram nível de confiabilidade de 95%, enquanto intervalos de 45 dias ou mais, 99,9% de confiança.

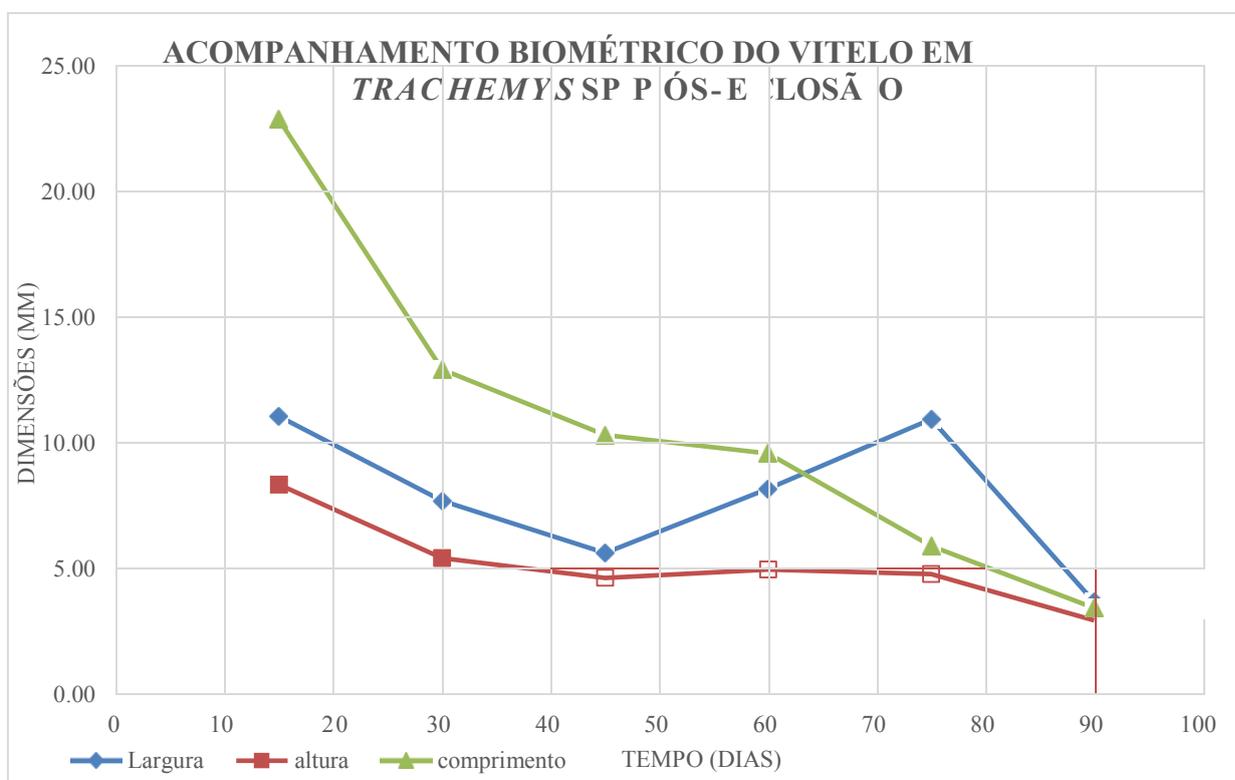
De acordo com os dados obtidos, os animais absorveram o vitelo, no que se refere à variável largura, a partir de 60 até 90 dias de idade. Foram observadas diferenças estatísticas significantes ($p < 0,05$) somente nesse intervalo que, por sua vez, é considerado como final da pesquisa e sugere-se, desse modo, que houve maior taxa de absorção do vitelo em largura nessa fase.

Para a variável altura, os intervalos de 15 a 90 dias, 30 a 90 dias e 60 a 90 dias apresentaram diferença estatística. Dessa forma, foi possível observar que houve absorção significativa do vitelo, no que se refere a essa variável, a partir de 75 dias de idade, o que

também caracteriza o final do experimento. O grupo com 90 dias de idade sempre demonstrou diferença estatística com os outros grupos, ou seja, taxa de absorção do vitelo significativa das variáveis largura e altura ocorreu no final do experimento.

A Figura 5 representa o comportamento descendente das variáveis comprimento, largura e altura, durante os 90 dias do estudo e também demonstra a relação da internalização do vitelo à cavidade celomática com a idade dos animais que, de forma predominante, é inversamente proporcional.

Figura 5: Representação esquemática da relação entre idade dos indivíduos e dimensões do vitelo



Observou-se que alguns indivíduos apresentavam absorção mais rápida do vitelo. Em cativeiro, foi constatado que filhotes de *Chelydra serpentina* com tamanhos intermediários e maiores reservas de vitelo cresceram mais e apresentaram maior taxa de sobrevivência (BOBYN & BROOKS, 1994). Novos estudos para obtenção de informações acerca da correlação entre biometria corporal dos filhotes e dimensões do vitelo em *Trachemys sp* fazem-se necessários. Outro estudo realizado por Packard et al. (1988) relatou que embriões de *C. serpentina*, quando incubados em temperaturas mais amenas, utilizam maior quantidade de

proteína advinda do vitelo, e crescem mais rapidamente antes da eclosão, quando o substrato utilizado para incubação apresenta alto teor de umidade.

Em pesquisa com lagartos *Calotes versicolor*, Radder et al (2004) constataram que os filhotes de maior tamanho apresentaram vitelo residual proporcionalmente maior, uma vez que o vitelo residual é importante parte da energia restante do desenvolvimento embrionário. Estudo com *Chelonia mydas* realizado por Booth et al (2004) concluiu que quando os ovos foram depositados em ambiente com menor oferta de alimento, os filhotes possuíam menor tamanho e maior vitelo residual, o que foi considerado vantajoso porque o vitelo forneceria energia por um período de tempo maior. Ainda, Filoramo e Janzen (2002) observaram que filhotes de *Trachemys scripta elegans* com maior peso e tamanho tiveram origem em ninhos com elevados teores de umidade, embora esse fato não tenha tido relação significativa com a sobrevivência dos animais. Apesar de não ter sido realizado acompanhamento individual da umidade dos ninhos nesse trabalho, notaram-se indivíduos de menor tamanho oriundos de substratos com menor teor de umidade.

Também nesse sentido, em estudo dos efeitos de fatores ambientais na reprodução de tartarugas, Ferreira Júnior (2009) relata que a umidade é crucial para absorção do vitelo e crescimento do embrião. Ademais, Packard et al. (1999) notaram que embriões capazes de absorver mais água consumiam maior quantidade de vitelo e, dessa forma, cresciam mais em relação àqueles cujos ovos perderam água. Esse efeito, além de ter sido bem descrito em *T. scripta* por Tucker e Paukstis (2000), foi avaliado em outras espécies de Testudines como *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) por Glenet al. (2003) e *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) por Reece et al. (2002a).

Segundo Loureiro et al. (2018), o tempo de absorção do vitelo de tracajás (*Podocnemis unifilis*) foi de 103 dias. Quando comparado a outras, essa espécie possui mais de 80% do seu vitelo consumido em 60 dias, correspondente ao tempo relatado para a tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*). Entretanto, foi notada uma diferença entre as duas, uma vez que a absorção do vitelo da tartaruga-da-amazônia ocorre de forma linear, enquanto não foi observada linearidade na absorção em tracajás. Já a iaçá (*Podocnemis sextuberculata*) absorve, no mesmo período de tempo, 50% do vitelo (DUNCAN et al, 2012). Nos filhotes de *Trachemys* sp do presente estudo foi observada expressiva absorção nas três variáveis avaliadas (comprimento, largura e altura) 90 dias após a eclosão, sendo o vitelo, portanto, maior do que nas espécies anteriormente relatadas.

Algumas das possíveis causas dessa diferença observada na absorção do vitelo entre as espécies são o tempo de incubação dos ovos no *habitat* natural e também alterações na temperatura e umidade dos ninhos à incubação artificial. Ainda, a influência do local da desova se estende a todo o desenvolvimento embrionário e afeta o comportamento e o tamanho dos filhotes. O momento em que ocorre a desova traz consequências ao ambiente térmico dos ninhos à medida que temperatura e umidade variam ao longo do ano. A umidade é um fator extremamente importante para as trocas hídricas e gasosas entre os ovos e o meio, que influenciam diretamente sobre absorção do vitelo e crescimento dos embriões (PANTOJA-LIMA, 2007).

Noy e Sklan (1998) estudaram o mecanismo de absorção do vitelo de aves e concluíram que o conteúdo vitelínico é transportado ao intestino delgado, onde ocorrem movimentos antiperistálticos até que se encontre na região entérica mais proximal e sofra ação de lipases, o que resulta na sua digestão e absorção pela mucosa intestinal. Vieira (2004) relata que a membrana do saco vitelínico é considerada uma extensão do intestino delgado do embrião e, assim, é sujeita às contrações e movimentos desse órgão. Vale ressaltar que, após a eclosão, o intestino permanece conectado ao saco vitelínico (Figura 6) pelo pedículo vitelínico e, uma vez que o vitelo é absorvido totalmente, a região do jejuno onde se encontrava é denominada divertículo de Meckel, que separa anatomicamente o jejuno em porções proximal e distal (TAVERNARI & MENDES, 2009).



Figura 6: sítio de absorção pós-eclosão do vitelo de *Trachemys* sp individualizado. A seta branca indica o estômago, a seta preta, a porção inicial do intestino delgado (duodeno) e a seta vermelha aponta para a região do jejuno, na qual se encontra o vitelo (indivíduo de 86 dias de idade)

A absorção do vitelo de *Trachemys* pode ainda ser influenciada pela concentração dos gases atmosféricos. Uma pesquisa de Etchberger et al. (1991, 1992) aponta que baixas concentrações de oxigênio no ambiente durante a incubação aumentaram de forma drástica a mortalidade dos embriões de *Trachemys scripta* e a presença de dióxido de carbono em alta quantidade aumentou o tempo de absorção de vitelo, a duração da incubação e a proporção de fêmeas na ninhada.

Finalmente, como já foi citado nesse trabalho, é possível observar uma parte do vitelo externa à cavidade celomática do filhote recém-eclodido, na altura do umbigo. Congdon et al (1999) atestam que os primeiros momentos do desenvolvimento de filhotes de testudines, de crocodilianos e de lagartos fora do ninho são influenciados pelo vitelo ainda não absorvido.

5 CONCLUSÃO

Foi demonstrado que esse anexo diminui de tamanho em comprimento de forma constante, a partir dos 15 dias de idade e, posteriormente, em largura e altura, aos 60 e 75 dias, respectivamente. O tempo médio de absorção do vitelo foi de 90 dias.

REFERÊNCIAS

- ALHO, C. J. R.; DANNI, T. M.S.; PÁDUA, L. M. F. **Influência da temperatura de incubação na determinação do sexo da tartaruga da Amazônia *Podocnemis expansa* (Testudinata, Pelomedusidae).** *Revista Brasileira de Biologia*, 44(3): 305 – 11. 1984.
- ARAÚJO, J.C.; PEREIRA, R.T.; PALHA, M.D.C.; ROSA, P.V. **Lipoproteínas de répteis: estrutura, metabolismo e aspectos comparativos.** *Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia*.Maringá.v.9(3): 101-114. 2015.
- BOBYN, M.L.; BROOKS, R.J. **Incubation conditions as potential factors limiting the northern distribution of snapping turtles, *Chelydra serpentina*.** *Can. J. Zool*, v. 72(1): 28-37. 1994.
- BOOTH, D. T.; BURGESS, E.; MC COSKER, J.; LANYON, J. M. **The influence of incubation temperature on post-hatchling fitness characteristics of turtles.** *International Congress Series 1275*: 226-233. 2004.
- CONGDON, J.D.; GIBBONS, J.W. *Turtle eggs: Their ecology and evolution.* p. 109 – 123. In: **Life History and Ecology of the Slider Turtle.** Washington, DC. Smithsonian Institution Press, XIV + 368 p. 1990.
- CONGDON, J.D.; TINKLE, D.W.; BREITENBACH, G.L.; SELS, R.V.L. **Nesting ecology and hatching success in the turtle *Emydoidea blandingi*.** *Herpetologica*, v. 39(4): 417-429. 1983.
- CONNOR, M.J. **The Red-eared Slider, *Trachemys scripta elegans*.** *Tortuga Gazette*, v. 28(4): 1-3. 1992.
- CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens.** In: CUBAS, P.H.; BAPTISTOTTE, C. (Org.). *Chelonia (Tartaruga, Cágado, Jabuti)*. São Paulo, Roca, 2007. p. 86-119.
- DEEMING, D.C. **Avian incubation: behaviour, environment, and evolution.** Lincoln: Oxford University Press. 2002.
- DESSAUER, H. C. **Plasma proteins of Reptilia.** In: FLORKIN, M. & SCHEER, B. T. *Chemical Zoology*.New York Academic. cap.8: 187-216. 1974.
- DUNCAN, W.; SILVA, M.; CUNHA, S. L.; AREOSA, V. & ANDRADE, P. **O vitelo residual e sua importância para o manejo dos quelônios aquáticos recém-eclodidos.** Manejo Comunitário de Quelônios – PROJETO PÉ-DE-PINCHA, UFAM, Manaus, p. 455-498, 2012.

ETCHBERGER, C.R.; PHILLIPS, J.B.; EWERT, M.A.; NELSON, C.E.; PRANGE, H.D. **Effects of oxygen concentration and clutch on sex determination and physiology in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta*).** *J. Exp. Zool.*, v. 258(3): 394-403. 1991.

EWERT, M.A. *The embryo and its egg: development and natural history.* p. 333 - 413 In: M. HARLESS; H. MORLOCK (Eds). **Turtles: Perspectives and Research.** New York. John Wiley and Sons. XIV + 695 p. 1979.

FERREIRA, C. H. **Aspectos químicos, morfológicos e efeitos da parationa metilica em cascas de ovos de *Podocnemis expansa* (Testudines, Podocnemididae) incubados artificialmente.** 2014. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

FERREIRA JÚNIOR, P.D. **Efeitos de fatores ambientais na Reprodução de Tartarugas.** *Acta Amazônica*, Espírito Santo, v. 39(2): 319-334. 2009.

FILORAMO, N. I.; JANZEN, F. J. **An experimental study of the influence of embryonic water availability, body size and clutch on survivorship of neonatal red-eared sliders, *Trachemys scripta elegans*.** *Herpetologica*, 58(1), 67-74. 2002.

FREEMAN, B.M.; VINCE, M.A. **Development of the avian embryo.** London: Chapman and Hall. 1974.

GABRIELLI, M.G.; ACCILI, D. **The chick chorioallantoic membrane: a model of molecular, structural, and functional adaptation to transepithelial ion transport and barrier function during embryonic development.** *Journal of Biomedicine & Biotechnology*.Camerino, v. 2010: 1-12. 2010.

GILBERT, S.F. **Developmental biology.** 9^a ed. *Massachusetts: Sinauer Associates.* 2010. 711 p.

GETTY, R., editor. **Anatomia dos animais domésticos.** In: KING, A.S. *Aparelho urogenital das aves.* São Paulo. Editora Interamericana, 1981. p. 381-401.

GLEN, F.; BRODERICK, A.C.; GODLEY, B.J.; HAYS, G.C. **Incubation environment affects phenotype of naturally incubated green turtle hatchlings.** *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, v.83:1183-1186. 2003.

JACKSON, D.R. **Reproductive strategies of sympatric freshwater emydid turtles in northern peninsular Florida.** *Bull. Fla St. Mus. Biol. Sci.* 33 (33): 113 – 158. 1988.

JANZEN, F. J.; TUCKER, J. K.; WILSON, M. E.; FORD, S. P. **Endogenous yolk steroid hormones in turtles with different sex-determining mechanisms.** *General and Comparative Endocrinology*. 111 (3): 306 – 17. 1998.

KELLER, K. A. **Reptile perinatology.** *Vet Clin Exot Anim*. 20: 439 – 454. 2017.

LOUREIRO, F.A.; CUNHA, P.F.; MENEZES, F.R.S.; QUEIROZ, T.S.; SILVA, D.F.F.; SANTOS, A.L.Q. **Tempo de absorção do vitelo em *Podocnemis unifilis* (TESTUDINES, PODOCNEMIDIDAE).** In: IX Encontro sobre Animais Selvagens. IX ENANSE, 2018. Universidade Federal de Uberlândia. Livro de Resumos on-line, disponível em: < https://docs.wixstatic.com/ugd/0bd747_4698747b18b141fd9a3f93592d3dde15.pdf > Acesso em 15 mai. 2019.

MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I.S.; NÄÄS, I.A.; MARTINS, P.C. **Manejo da Incubação.** In: CESARIO, M.D. (Org.). *Desenvolvimento embrionário pré e pós-postura: períodos críticos.* Campinas. Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, 2013. p. 48-58.

MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I.S.; NÄÄS, I.A.; MARTINS, P.C. **Manejo da Incubação.** In: EVERAERT, N.; DECUYPERE, E. (Org.). *Fisiologia do embrião.* Campinas. Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, 2013. p. 31-39.

MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I.S.; NÄÄS, I.A.; MARTINS, P.C. **Manejo da Incubação.** In: ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; MIYAJI, S.O. (Org.). *Sistema reprodutor e formação do ovo.* Campinas. Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, 2013. p. 1-24.

MESSONIER, S. **Exotic pets: a veterinary guide for owners.** Plano, Texas: Wordware Publishing, 130 p. 1995.

MOLINA, F.B. **O comportamento reprodutivo dos quelônios.** *Biotemas*, São Paulo. v.5(2): 61-70. 1992.

MOLINA, F.B.; GOMES, N. **Incubação artificial dos ovos e processo de eclosão em *Trachemys dorbignyi* (Duméril&Bibron) (Reptilia, Testudines, Emydidae).** *Revista Brasileira de Zoologia*, v.15(1): 135-43. 1998.

MOLL, E. O.; LEGLER, J. M. **The life history of a neotropical slider turtle , *Pseudemys scripta* (Schoepff), in Panama.** *Bull. Los Angeles Co. Mus. Nat. Hist. Sci.* (11): 1 – 102. 1971.

NOY, Y.; SKLAN, D. **Metabolic Responses to Early Nutrition.** *Journal Applied Poultry Research*. v.7:437-451, 1998.

OLIVEIRA, J. A. A. **Anátomo-fisiologia animal comparada**. Ribeirão Preto. Editora Universitária. 408 p. 1971.

PACKARD, G.C. **Water relations of chelonian eggs and embryos: is wetter better?** *Am. Zool.* v. 39:289-303. 1999.

PACKARD, M. J.; DEMARCO, V. G. *Eggshell structure and formation in eggs of oviparous reptiles*. In: DEEMING, C.; FERGUSON, M. W. J. (eds.). **Egg Incubation: Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles**. Cambridge: Cambridge University Press, cap. 5, p. 53-70, 1991.

PACKARD, G. C.; PACKARD, M. J.; MILLER, K.; BOARDMAN, T. J. **Effects of temperature and moisture during incubation on carcass composition of hatchling snapping turtles (*Chelydra serpentina*)**. *Journal of Comparative Physiology B*, 158: 117-125. 1988.

PANTOJA-LIMA, J. **Aspectos da Biologia Reprodutiva de *Podocnemis expansa* Schweigger, 1812, *Podocnemis sextuberculata* Cornalia, 1849 e *Podocnemis unifilis* Troschel, 1848 (Testudines, Podocnemididae) na Reserva Biológica do Abufari, Amazonas, Brasil**. Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas. Manaus, 73p, 2007.

PARANZINI, C. S.; TEIXEIRA, V.N.; TRAPP, S.M. **Principais distúrbios nutricionais encontrados em répteis cativos**. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. Londrina, v. 10(2):29-38. 2008.

PRITCHARD, P.C.H. **Encyclopedia of turtles**. New Jersey: T.F.H. Publ. 1979.

RADDER, R. S.; SHANBHAG, B. A.; SAIDAPUR, S. K. **Yolk partitioning in embryos of the lizard, *Calotes versicolor*: maximize body size or save energy for later use?** *Journal of Experimental Zoology*, 301 A: 783-785. 2004.

RANDALL, D.; BURGGREN, W; FRENCH, K. **Eckert - fisiologia animal: mecanismos e adaptações**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2000. 729p.

RANGLES JR., C.A.; ROMANOFF, A.L. **The buffering capacities of allantoic and amniotic fluids of the chick**. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. v. 49:160-167. 1954.

REECE, S.E.; BRODERICK, A.C.; GODLEY B.J.; WEST, S.A. **The effects of incubation environmental phenotype in a natural population of loggerhead turtles**. *Evol. Ecol. Res.* v.4:737-748. 2002a.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. Portaria SEMA número 46 de 8 de abril de 2015. Institui proibição da criação e comercialização das espécies e subespécies exóticas e nativas das tartarugas de água doce do gênero *Trachemys*, em todo o território do Rio Grande do Sul. Disponível em < www.planejamento.gov.br/assuntos/gestao/.../150406_port_46_instituir-gtn.pdf > Acesso em 4 jun. 2019.

ROMANOFF, A.L. **The avian embryo**. New York: The Macmillan. 1960.

ROSSI, S.; LOVATO, E.; HÖFLING, J.C. **Aspectos biológicos da tartaruga-de-orelha-vermelha, *Trachemys scripta elegans* (Reptilia, Testudines, Emydidae), em cativeiro**. *Bioikos*. v:20(1): 33-40. Campinas. 2006.

SAHOO, G; SAHOO, R. K.; MOHANTI-HEJMADI, P. Calcium metabolism in olive ridley turtle eggs during embryonic development. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Bhubaneswar, v.121, n.1, p. 91-97, 1998.

SLOSS, M.W.; ZAJAC, A.M.; KEMP, R.L. **Parasitologia Clínica Veterinária**. 6a ed., São Paulo: Manole Ltda, 1999, 198p.

TAVERNARI, F.C.; MENDES, A.M.P. **Desenvolvimento, crescimento e características do sistema digestório de aves**. *Revista Eletrônica Nutritime*. Viçosa.v.6(6):1103-1115. 2009.

TUCKER, J.K.; PAUKSTIS, G.L. **Hatchling success of turtle eggs exposed to dry incubation environmental**. *J. Herpetology*.v.34(4):529-534. 2000.

VIEIRA, S.L. **Digestão e utilização de nutrientes após a eclosão de frangos de corte**. In: *V Simpósio Brasil Sul de Avicultura*. p.26-41. Chapecó. 2004.

VOGT, R.C. **Natural history of the map turtles *Graptemys pseudogeographica* and *G. ouachitensis* in Wisconsin**. *Tulane Stud. Zool. Bot.* 22 (1):17 – 48. 1980.

VOGT, R.C.; FAGUNDES, C.K.; BATAUS, Y.S.L.; BALESTRA, R.A.M.; BATISTA, F.R.Q.; UHLIG, V.M.; SILVEIRA, A.L.; BAGER, A.; BATISTELLA, A.M.; SOUZA, F.L.; DRUMMOND, G.M.; REIS, I.J.; BERNHARD, R.; MENDONÇA, S.H.S.T.; LUZ, V.L.F. **Avaliação do risco de extinção de *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) NO BRASIL**. Disponível em <http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/estado-de-conservacao/7430-repteis-trachemys-dorbigni-tigre-d-agua>. Acesso em 7 mai. 2018.

WITTOW, S.C., editor. **Sturkie's avian physiology**. In: JOHNSON, A.L. *Reproduction in the female*. San Diego, 2000. p. 569 – 96.

ANEXO A

Comprimento

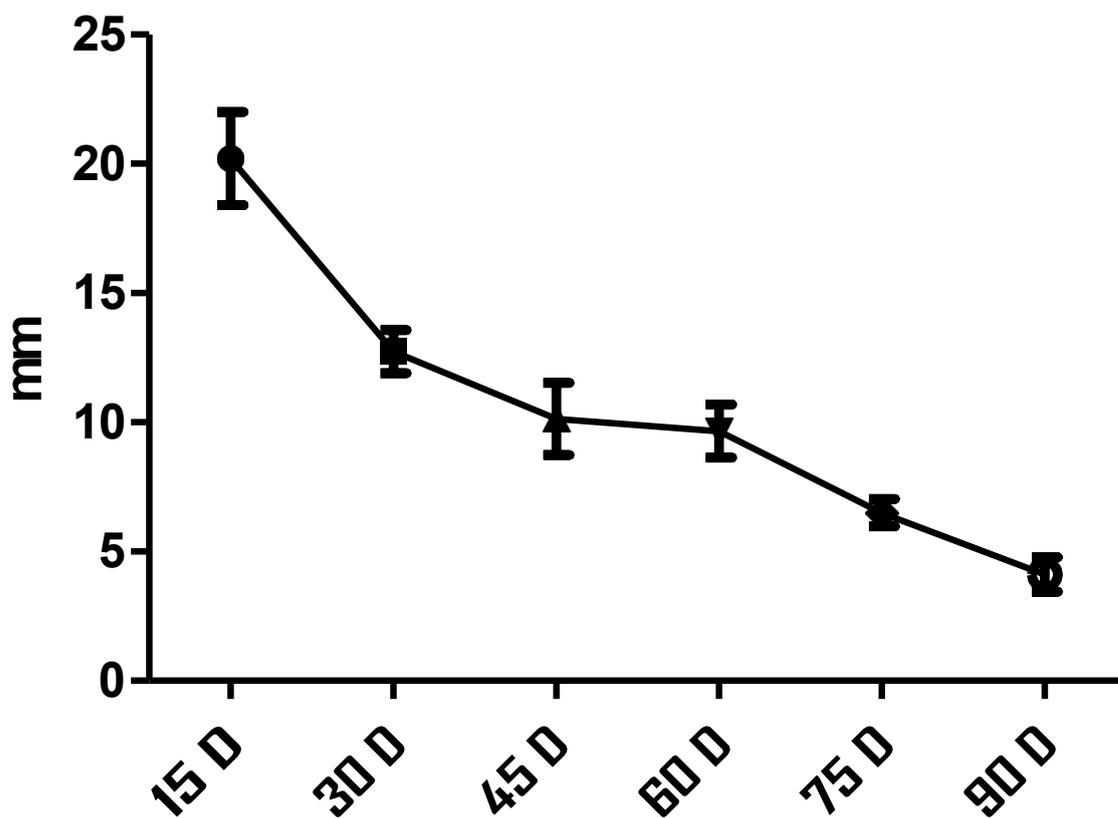


Gráfico com curva descendente, no qual são vistas as diferenças estatísticas entre os animais agrupados com diferentes intervalos de idade (eixo X), representando a redução do vitelo em comprimento durante os 90 dias do experimento

ANEXO B

Largura

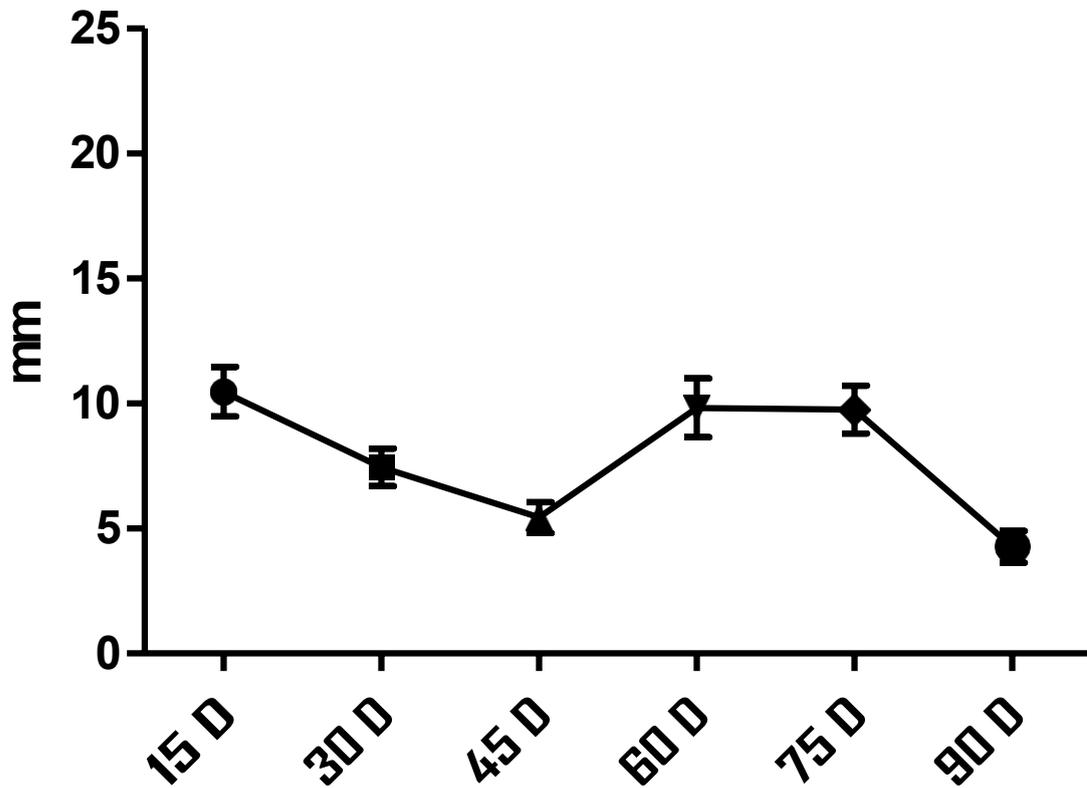


Gráfico com curva descendente, no qual são vistas as diferenças estatísticas entre os animais agrupados em intervalos a partir dos 60 dias de idade (eixo X) representando a redução significativa do vitelo em largura apenas a partir do referido intervalo

ANEXO C

Altura

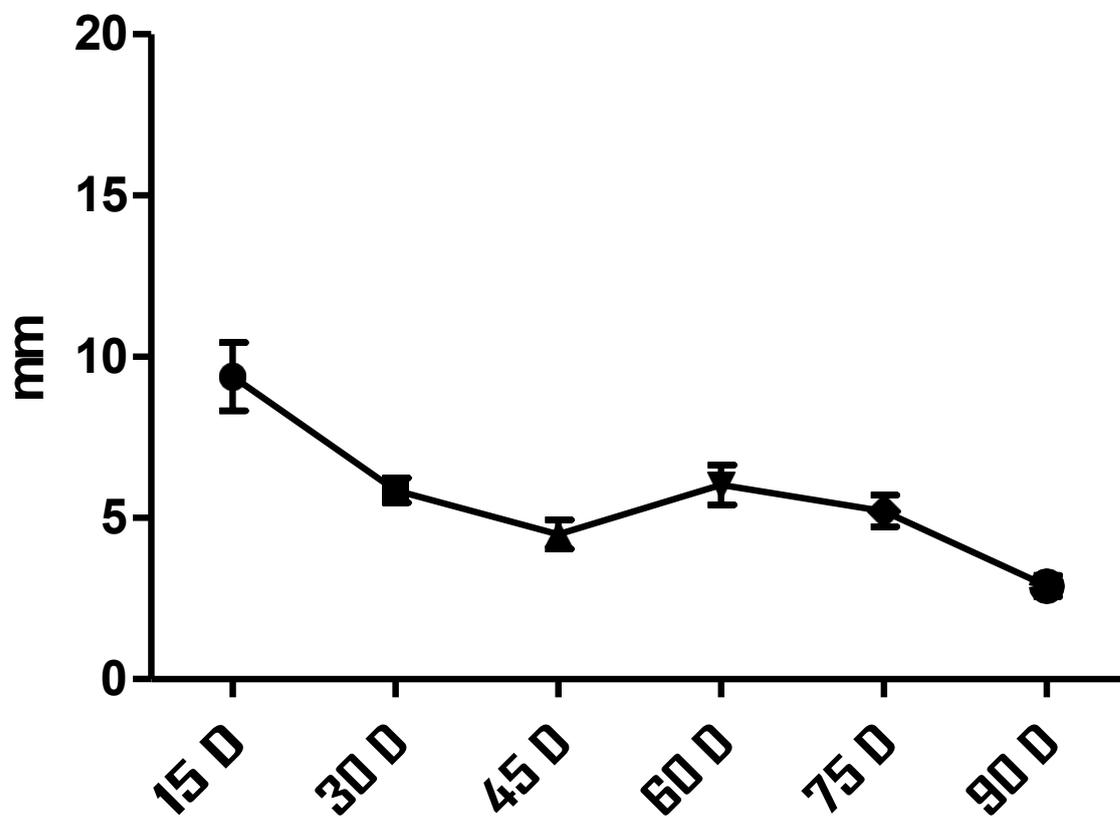


Gráfico com curva descendente, no qual são vistas as diferenças estatísticas entre os animais agrupados em intervalos (eixo X). A partir dos 60 dias de idade é representada a redução significativa do vitelo em largura