BRENDA STEFANY DOS SANTOS BRAGA

Desenvolvimento embrionário de *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) (Chelonia: Kinosternidae): ontogênese das gônadas masculina e feminina

Belém – PA

2016

BRENDA STEFANY DOS SANTOS BRAGA

Desenvolvimento embrionário de *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) (Chelonia: Kinosternidae): ontogênese das gônadas masculina e feminina

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Colegiado do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, Modalidade Biologia da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Biologia.

Orientadora: Profª. Drª. Veronica Regina Lobato de Oliveira Bahia

Co-orientação: Profª Drª Diva Anelie de Araújo Guimarães

Belém – PA

2016

BRENDA STEFANY DOS SANTOS BRAGA

Desenvolvimento embrionário de *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) (Chelonia: Kinosternidae): ontogênese das gônadas masculina e feminina

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Colegiado do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, Modalidade Biologia da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Biologia.

Orientador:

Profª. Drª. Veronica Regina Lobato de Oliveira Bahia

Instituto de Ciências Biológicas – UFPA

Co-orientador:

Profª Drª Diva Anelie de Araújo Guimarães

Instituto de Ciências Biológicas

Avaliador:

Profª. Drª. Maria Auxiliadora Ferreira Pantoja

Instituto de Ciências Biológicas - UFPA

Avaliador:

Profª Drª Simone do Socorro Damasceno Santos

Instituto de Ciências Biológicas – UFPA

Belém – PA

2016

"É preciso correr tudo o que você puder, para se manter no mesmo lugar. Se você deseja ir em outro lugar, você deve correr pelo menos duas vezes mais rápido que isso!"

Alice no País das Maravilhas

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por toda dedicação, ensinamentos, amor e compreensão passados a mim. A minha irmã pela proteção, e a toda minha família pelo apoio incondicional e por fazer das minhas suas alegrias.

A minha orientadora de TCC e de vida acadêmica, Profª. Drª. Verônica Regina Lobato de Oliveira Bahia, obrigada por toda paciência, pelo carinho, por todo conhecimento transmitido a mim e por sempre crer nos seus alunos.

A querida Profª. Drª. Diva Anelie de Araújo Guimarães, por ter acreditado em mim e me permitido entrar no mundo da pesquisa com a minha primeira bolsa de Iniciação científica, e por tantas outras posteriores, obrigada pela paciência e confiança.

A Embrapa Amazônia Oriental do Campus de Salvaterra, pela concessão das amostras utilizadas neste trabalho.

Ao Laboratório Multidisciplinar da Biologia a distância e ao Laboratório de Técnicas Histológicas, pelo espaço concedido a mim para a realização deste trabalho.

A Universidade Federal do Pará pela concessão das bolsas de iniciação científica.

A todos meus queridos amigos de graduação, pelas viagens e diversos momentos de descontração e pelos “365 dias de beira”, obrigada Lorena, Raissa, Yuri e principalmente Marília pela amizade e por seus conselhos.

A todos meus amigos de laboratório Ailin, Aliceane, Bianca, Cereja, Cynthia, Gabriella, Gabriel e Thiago, por todos os nossos momentos divertidos e todas as nossas discussões acadêmicas.

As minhas amigas Stefany e Ana, por anos de amizade e apoio.

E a todos Professores, técnicos, alunos e colegas que contribuíram de forma direta ou indireta para realização desta etapa de minha vida.

SUMÁRIO

EPÍGRAFE i
AGRADECIMENTOS ii
LISTA DE FIGURAS iv
LISTA DE ABREVEATURAS v
RESUMO vii
ABSTRACT viii
INTRODUÇÃO 1
OBJETIVO 8
MATERIAL E MÉTODOS 9
RESULTADOS E DISCUSSÃO 10
CONCLUSÕES 38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Indivíduo adulto de *Kinosternon scorpioides.* 3

Figura 2 - Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 9 e 10 de desenvolvimento embrionário.. 11

Figura 3 - Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 11 e 12 de desenvolvimento embrionário.. 13

Figura 4 - Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 13 e 14 de desenvolvimento embrionário.. 15

Figura 5 - Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 16 a 17 de desenvolvimento embrionário.. 17

Figura 6 - Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 19 e 20 de desenvolvimento embrionário.. 20

Figura 7 - Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 21 e 22 de desenvolvimento embrionário.. 22

Figura 8 - Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 23 e 24 de desenvolvimento embrionário.. 24

Figura 9 - Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 25 e 26 de desenvolvimento embrionário.. 26

Figura 10 - Análises morfométricas comparando o comprimento da carapaça 29

Figura 11 - Análises morfométricas comparando o comprimento da plastrão 29

Figura 12 - Vista ventral das gônadas de *K. scorpioides* 30

Figura 13 - Vista ventral da gônada direita de *K. scorpioides* 31

Figura 14 - Comprimento (mm) e largura (mm) das gônadas nos estágios de desenvolvimento embrionário 32

Figura 15 - Cortes histológicos das gônadas indiferenciadas 33

Figura 16 - Gônada feminina durante o TSP (estágio 21) 34

Figura 17 - Gônada feminina de animais recém-eclodidos 35

Figura 18 - Gônada masculina durante o TSP (estágio 22) 36

Figura 19 - Gônada masculina de animais recém-eclodidos 37

LISTA DE ABREVIATURAS

Borda lateral da carapaça - bd ca

Broto do membro anterior - br ma

Broto do membro posterior - br mp

Carapaça – ca

Carúncula - cr

Células germinativas - Cg

Cordões medulares - cm

Cristalino - cr

Dígitos – dg

Dobras de pele – db pe

Epitélio germinativo - Eg

Escudos epidérmicos - es

Escudos marginais - es mg

Escudos peitorais - es pt

Escudos pleurais - es pl

Escudos vertebrais - es vt

Folículos primordiais - fp

Garras – ga

Gônada esquerda – GoE

Gônada feminina - GoD ♀

Gônada masculina - GoD ♂

Hérnia umbilical – he

Intestino delgado – Id

Intestino grosso – Ig

Iris - ir

Mandíbula – md

Membrana cloacal – co

Membrana interdigital – mb id

Pálpebra inferior - pa if

Pálpebra superior - pa sp

Papilas cutâneas - pp ct

Período termo sensível – TSP

Placas digitais - pl dg

Plastrão - pl

Ponte – po

Primeira fenda faríngea – 1 fe

Primeiro arco faríngeo – 1 ar

Primórdio cardíaco – pr ca

Processo caudal - pc cd

Processo frontal – pc fr

Processo mandibular - pc md

Processo maxilar - pc mx

Processo nasal - pc ns

Processo occipital – pc oc

Protuberância urogenital - pr ug

Pupila – pu

Região cortical – co

Região medular - me

Rudimento ótico - rd oti

Segundo arco faríngeo – 2 ar

Terceiro arco faríngeo – 3 ar

Túbulos seminíferos – ts

Túnica albugínea - ta

Quarto arco faríngeo – 4 ar

Vasos sanguíneos – vs

Vesícula óptica - vs opt

RESUMO

O *Kinosternon scorpioides*, espécie conhecida vulgarmente como muçuã, é bastante consumida na região norte do Brasil e principalmente na Ilha do Marajó. As populações tradicionais os utilizam como fonte alternativa de proteína, e não há estudos que indiquem o tamanho real das populações desses indivíduos. Sabe-se que esta espécie apresenta grande aptidão zootécnica, porém existem empecilhos que dificultam a criação destes animais em cativeiro, como a carência de estudos a respeito da sua biologia reprodutiva. Assim o intuito deste trabalho foi estudar o desenvolvimento embriológico macroscópico de *K. scorpioides*. Além de caracterizar morfologicamente a organogênese das gônadas desta espécie, fornecendo subsídios para a compreensão de diversos fatores relacionados ao seu manejo reprodutivo. O trabalho foi realizado no Campus Experimental Emerson Salimos - CEMES/BAGAM/Embrapa (Salvaterra, Pará, Brasil). Foram coletados de um a três ovos fertilizados para cada fase de desenvolvimento. Os embriões, a partir do 35° dia de incubação, tiveram o seu sistema reprodutor dissecado, e as gônadas fixadas foram encaminhadas para processo histológico. Dados do Instituto Nacional de Meteorologia foram utilizados para determinar as variáveis ambientais. Realizou-se a morfometria do comprimento, largura da carapaça, plastrão e das gônadas. Do 1° ao 15° dia de incubação, dos estágios 1 até o estágio 8, não foi possível diferenciar as características morfológicas visíveis à lupa. Os estágios 9 a 12, foram classificados pela presença de determinados números de arcos branquiais, vesícula óptica e ótica, além de membros. Já os estágios 13, 14, 16 e 17 foram marcados pela evidente pigmentação ocular, morfologia dos membros, além da morfologia e aparecimento da carapaça e da protuberância urogenital. Nos estágios 19 a 22 notou-se a presença dos dígitos nas placas digitais indo além na membrana interdigital nos membros, e pigmentação ao longo do corpo. Por fim, nos estágios 23 a 26 foram determinados a presença dos dígitos nos membros, pigmentação densa no corpo, além do desaparecimento da protuberância urogenital e da hérnia umbilical. Comparando os períodos de incubação com as temperaturas médias da região, observou-se que ovos incubados em meses mais quentes apresentaram um menor tempo de incubação e embriões de menor tamanho. Quanto a morfometria, as medidas de comprimento das gônadas e das demais estruturas apresentaram uma tendência a linearidade. As gônadas foram vistas na porção dorsal da cavidade celomática inferior, ventromedial aos rins. Durante a incubação, a partir do estágio 16, não foram vistas diferenças estruturais, apenas o crescimento destes órgãos. Após a eclosão as gônadas femininas possuíam superfície irregular e as masculinas superfície lisa. A análise histológica mostrou que nos embriões até o estágio 21 (50 dias de incubação) as gônadas estavam indiferenciadas, com a presença de um epitélio germinativo periférico e um maciço de células germinativas. Após o estágio 22 (50 dias de incubação) observou-se gônadas diferenciadas. Os ovários apresentaram córtex com folículos primordiais de diferentes tamanhos e medula com um estroma rico em vasos. Os testículos possuíam túnica albugínea na região cortical e o epitélio seminífero na região medular. Os resultados encontrados fornecerão subsídios para a melhoria do manejo reprodutivo e poderão ser utilizados em estudos futuros a respeito da incubação, eclosão e determinação sexual de *K. scorpioides*.

Palavras-chave: muçuã, embriologia, gônadas, morfometria.

ABSTRACT

The *Kinosternon scorpioides*, a species commonly known as muçuã, is widely consumed in the north of Brazil and mainly in the Marajó Island. Traditional populations use it as an alternative source of protein, and there are no studies that indicate the real size of the populations of these individuals. It is known that this species presents great zootechnical aptitude, but there are obstacles that prevent the creation of these animals in captivity, as the lack of studies on their reproductive biology. The aim of the present study was to study the macroscopic embryological development of *K. scorpioides*, in addition to characterizing the organogenesis of the gonads of this species, thus providing subsidies for the understanding of several factors related to the reproductive management of these animals. The work was carried out at the Emerson Salimos Experimental Campus - CEMES / BAGAM / Embrapa (Salvaterra, Pará, Brazil). We collected one to three fertilized eggs for each stage of development. The embryos, from the 35th day of incubation, had their reproductive system dissected and the gonads were fixed and sent to the histological process. Data from the National Institute of Meteorology were used to determine the environmental variables. In addition, measurements of length, carapace width, plastron and gonads were made. From the 1st to the 15th day of incubation, from stage 1 to stage 8, it was not possible to differentiate the morphological characteristics at a magnifying glass. Stages 9 to 12 were classified by the presence of certain numbers of gill arches, optic and otic vesicles, as well as limbs. Stages 13, 14, 16 and 17 were marked by evident ocular pigmentation, limb morphology and morphology and appearance of the carapace and urogenital protuberance. In stages 19 to 22 the presence of the digits on the digital plates going beyond the interdigital membrane in the limbs and pigmentation along the body. Finally, in stages 23 to 26 were determinants the presence of the digits in the limbs, dense pigmentation in the body, besides the disappearance of the urogenital protuberance and the umbilical hernia. In comparing the incubation periods with the average temperatures of the region, it was observed that eggs incubated in warmer months showed a shorter incubation time and embryos of smaller size. As for morphometry, the length measurements of the gonads and other structures showed a tendency to linearity. The gonads were seen in the dorsal portion of the inferior celomathic cavity, ventromedial to the kidneys. During the incubation, from the stage 16, structural differences were not observed, only the growth of these organs. After hatching the female gonads had irregular surface and the male gonads had smooth surface. Histological analysis showed that in the embryos up to stage 21 (50 days of incubation) the gonads were undifferentiated with the presence of a peripheral germinal epithelium and a mass of germ cells. After stage 22 (50 days of incubation), differentiated gonads were observed. Ovaries presented cortex with primordial follicles of different sizes and medulla with a stroma rich in vessels. Testicles had tunica albuginea in the cortical region and the seminiferous epithelium in the medullar region. The results obtained will provide subsidies for the improvement of reproductive management and may be used in future studies on the incubation, hatching and sexual determination of *K. scorpioides*.

Key words: muçuã, embryology, gonads, morphometry.

1. INTRODUÇÃO

Diante da diversidade de grupos biológicos que compõem o ecossistema amazônico, os quelônios talvez sejam uns dos táxons mais ameaçados de extinção. Fenômeno esse acarretado por vários fatores, tais como: a apreciação da sua carne e ovos para consumo humano; a descaracterização de habitats; as baixas taxas de crescimento, maturidade sexual lenta, juntamente com períodos de vida longos; e as baixas taxas de substituição de indivíduos na população (Pough *et al.*, 1993; Vogt, 1994), gerando oscilações nos níveis populacionais destes espécimes.

Durante muitos anos, esses animais tem sido fonte de proteína da dieta de populações humanas que vivem em locais mais distantes dos grandes centros urbanos (Silva, 2011). No Brasil a carne de quelônio é bastante consumida por populações tradicionais, na região amazônica os quelônios mais explorados são: a tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*), o tracajá (*Podocnemis unifilis*) e o muçuã (*Kinosternon scorpioides*) (Brito & Ferreira, 1978; Alho, 1985; Palha *et al.*, 1999; Castro, 2006).

A espécie *K. scorpioides*, é um réptil da ordem dos quelônios, da família Kinosternidae, é uma das tartarugas brasileiras que engloba as chamadas tartarugas-do-lodo pelo hábito de viverem na lama, ou tartarugas almiscaradas, devido ao forte cheiro de almíscar que exalam quando atacadas. É uma das menos conhecidas pela ciência e, provavelmente, uma das mais ameaçadas (Marques *et al.*, 2008).

O *K. scorpioides* habita campos alagados, e na Ilha do Marajó são bastante comuns. Estes quelônios são intensamente consumidos pelas populações tradicionais da ilha, onde há relatos de que as suas populações vêm diminuindo consideravelmente. Porém não existem estudos que comprovem o tamanho dessas populações no arquipélago e nem sobre as taxas de renovação desses estoques (Castro, 2006).

Esta espécie desperta interesse como alimento e opção de renda, tanto para a pequena produção familiar ou comunitária, como também para a criação em cativeiro, uma vez que possui grande aptidão zootécnica, como por exemplo, a capacidade de se reproduzir muito bem em cativeiro e responder aos insumos para ganho de peso (Marques *et al*., 2008).

Existem diversas ações conservacionistas que se esforçam para preservar as populações de quelônios, visando preservar o seu habitat, integrando as comunidades de áreas vizinhas e gerando renda alternativa para as mesmas (Pough *et al.*, 2001; Ferry, 2002). Segundo Conway (1980) a criação em cativeiro de forma conservacionista apresenta grande importância, pois além de facilitar a realização de pesquisas, promove o desenvolvimento da educação

ambiental. Além de constituir uma reserva genética que pode ser manuseada junto com as populações naturais.

Vários autores reconhecem a ameaça de extinção, a importância econômica e a insuficiência de dados bibliográficos a respeito de *K. scorpioides*, especialmente sobre os aspectos morfológicos reprodutivos e nutricionais (Vogt *et al.*, 2001; Castro, 2006; Marques *et al.*, 2008; Silva, 2011). Uma solução para isto seria a criação em cativeiro, pois facilitaria o consumo aumentando assim a renda, contribuindo com a conservação das espécies (Vanzolini *et al.*, 1980; Acuña-Mesén, 1994), uma vez que na ausência de criações comerciais no Brasil, o suprimento se faz de forma ilegal, sendo retirado diretamente da natureza.

A criação comercial desta espécie é autorizada pelo IBAMA desde 2008 (IN169/2008), e os estudos sobre o manejo *ex-situ* estão sendo conduzidos na Embrapa Amazônia Oriental, com a finalidade de promover alternativas sustentáveis de alimento, fonte de renda e educação ambiental às comunidades tradicionais marajoaras.

No entanto, para a criação em cativeiro de espécies como *K. scorpioides* há necessidade do melhor entendimento do desenvolvimento embrionário. Para isso é importante avaliar os eventos relacionados a embriologia da espécie e, consequentemente, compreender as condições necessárias para a incubação e eclosão dos ovos desse quelônio.

1.1. ASPECTOS BIOLÓGICOS DO MUÇUÃ

K. scorpioides é uma tartaruga da Família Kinosternidae, sua distribuição geográfica se estende por grande parte do continente Americano, ocorrendo no México, América Central, Bolívia, Peru, Venezuela, Equador, Colômbia, Brasil, Guianas, Guiana Francesa, Suriname, Paraguai e Argentina (Pritchard, 1964; Fretey, 1976; Vanzolini, *et al*. 1980; Freiberg, 1981; Pritchard & Trebbau, 1984; Savage & Villa, 1986; Ernest & Barbour, 1989; Soriano, *et al*. 1997).

No Brasil pode ser encontrado no Amapá, 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.*, 2009; ICMBIO, 2010). Apresenta duas subespécies: *K. scorpioides scorpioides* distribuída nas regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste, e *K. scorpioides carajasensis* encontradas perto da Serra dos Carajás (Rocha & Molina, 1987; Berry & Iverson, 2001).

A espécie é de fácil identificação por apresentar três quilhas longitudinais na carapaça estreita, e a cabeça é um pouco larga, com o queixo forte e arqueado (figura 1) (Pritchard, 1964; Fretey, 1976; Vanzolini, *et al*. 1980; Freiberg, 1981; Pritchard & Trebbau, 1984; Savage & Villa, 1986; Ernest & Barbour, 1989; Soriano *et al*., 1997). O plastrão largo é ligado à carapaça através de pontes, onde existem lobos articulados por uma área central como uma mola (chamada dobradiça), podendo mover-se, servindo para proteção (Pritchard, 1964; Freiberg, 1981; Ernest & Barbour, 1989; Pritchard & Trebbau, 1984; Berry & Iverson, 2001).

Figura 1: Indivíduo adulto de *K. scorpioides*.

A carapaça apresenta cor que varia do marrom ao verde oliva, a cabeça pode ser marrom, cinza ou preta com mancha de padrão creme, vermelho, amarelo, laranja e rosa (Pritchard & Trebbau, 1984; Berry & Iverson, 2001). As patas e cauda são cobertas por uma pele de cor cinza. Em muitos indivíduos machos, na ponta da cauda observa-se um apêndice córneo como um escorpião (Pritchard, 1964; Mahmoud, 1967; Berry & Iverson, 2001).

1.2. ASPECTOS REPRODUTIVOS DO MUÇUÃ

Os muçuãs apresentam dimorfismo sexual, onde os machos adultos são maiores que as fêmeas (Barreto *et al.*, 2009). Além de possuírem plastrão côncavo e a cauda maior e mais grossa, enquanto nas fêmeas o plastrão encontra-se plano e a cauda mais curta (Carvalho *et al*., 2010).

A maturidade sexual dos machos, em vida livre, ocorre entre quatro a sete anos, e das fêmeas entre cinco a oito anos (Mahmoud, 1967). O acasalamento pode ocorrer em qualquer época do ano, a reprodução é sexuada. O macho segura a fêmea com as quatro patas e a cauda, e fica com o pescoço inteiro esticado (Molina, 1992). Em cativeiro os machos maiores formam haréns (Rodrigues *et al*., 2014).

O período de desova desta espécie se estende de março a agosto na região norte e sudeste do Brasil, sendo os meses de junho a julho os que apresentam maior quantidade de posturas, caracterizando uma reprodução sazonal (Rocha & Molina, 1990; Castro, 2006; Araújo, 2009). As fêmeas põem ovos em buracos na terra, cavados com as patas traseiras. Em média são três ovos por posturas (Marques *et al*., 2008). Os ovos são elipsoides pesando de 6,8 a 11,8 g. A incubação artificial pode durar até 266 dias (Rocha & Molina, 1990).

Depois de um período de quatro a cinco meses, o filhote nasce medindo entre 3 e 4 centímetros de comprimento da carapaça, pesando entre 6 e 8 g. A casca é rompida com um tipo de dente que possuem abaixo das narinas, chamado ovorruptor (carúncula) e vão em direção à água (Rocha & Molina, 1990).

Carvalho *et al.* (2010) descreveram o aparelho reprodutor masculino de *K. scorpioides* formado por: testículos pares de aspecto ovoide, com tamanho e coloração variáveis, o que pode estar relacionado ao tamanho e atividade reprodutiva desses animais.

Os testículos foram vistos situados no interior da cavidade celomática, craniolateralmente à cintura pélvica, dispostos assimetricamente em cada lado da linha média, com o direito se apresentado mais cranial ao esquerdo; o epidídimo localizado dorsalmente a superfície medial de cada testículo, observados como estruturas delicadas, que dão continuidade aos ductos deferentes, os quais são estruturas simples, com trajeto convoluto se estendendo desde o epidídimo até a cloaca, seguindo lateralmente aos ureteres e pênis. Este é visto como um órgão muscular ímpar, localizado no assoalho da cloaca, envolvido por uma delgada membrana (Carvalho *et al.*, 2010).

O sistema reprodutor feminino de *K. scorpioides* foi descrito por Machado Junior *et al.* (2006) e Chaves *et al.* (2012) e é composto por: ovários pares dispostos simetricamente, vistos dorsalmente aos rins, na parte caudal da cavidade celomática. Sendo constituídos de duas massas de coloração amarelo-ouro, com folículos em diferentes estágios de desenvolvimento na sua superfície e pelos ovidutos, igualmente desenvolvidos, contorcidos, estendidos desde as proximidades de cada um dos ovários até a parede lateral da cloaca (Machado Junior *et al.*, 2006; Chaves *et al.*, 2012).

Entretanto, até o presente momento, os estudos a respeito da biologia reprodutiva de *K. scorpioides* não abrangem o seu desenvolvimento embrionário macroscópico externo tão pouco o desenvolvimento gonadal. Existindo assim diversas lacunas para a compreensão de fatores importantes na determinação sexual nesta espécie.

1.3. EMBRIOLOGIA DE QUELÔNIOS

Estudos da embriologia de répteis, principalmente em quelônios, têm focado na determinação e padronização de tabelas de desenvolvimento embrionário (Yntema, 1968, Packard *et al.*, 1977; Miller, 1985; Beggs, *et al*., 2000; Tokita & Kuratani, 2001; Greenbaum, 2002; Greenbaum & Carr, 2002; Okada *et al*., 2011; Cordero & Janzen, 2014). Essas tabelas são baseadas nas mudanças morfológicas iniciais e nas alterações anatômicas que os animais sofrem no decorrer da embriogênese.

Em quelônios, a determinação dos estágios de desenvolvimento é baseada nos registros de características morfológicas específicas, associadas às condições ambientais de temperatura.

Yntema (1968) padronizou uma tabela de desenvolvimento embrionário para quelônios, com base em embriões de *Chelydra serpentina*, onde foram determinados 26 estágios de desenvolvimento. Neste trabalho, Yntema (1968) definiu dois períodos principais: um antes da postura e outro após a mesma; o primeiro período termina com o embrião em gástrula, com o canal cordomesodermal aberto. A fase de pós-postura, segundo período, pode ser subdividida em três períodos, que são: o período inicial do estágio 0 ao estágio 3; o período dos somitos (4-10); e o período dos membros (11-26). A tabela 1 ilustra os períodos de postura de Yntema (1968) de forma mais detalhada.

Tabela 1: Períodos de desenvolvimento embrionário estabelecidos por Yntema (1968).

Períodos	Fases	Características
1° Antes da postura	- -	Inicia-se com a fecundação e termina com embrião em gástrula com o canal cordomesodermal aberto.
2° Após a postura		
	1° fase: estágio 0 a 3	Surgimento do blastóporo, finalização da gástrula e aparecimento do sulco neural.
	2° fase: estágio de 4 a 10	Aparecimento dos somitos, do processo cefálico, da vesícula óptica, dos arcos faríngeos, do rudimento ótico, do coração, dos brotos dos membros, do processo caudal e mandibular.
	3° fase: estágio de 11 a 26	Surgimento e diferenciação dos membros, do processo maxilar, da carapaça e plastrão. Aparecimento e dispersão da pigmentação.

A partir deste estudo, outros pesquisadores publicaram trabalhos com tabelas de desenvolvimento embrionário para diversas espécies de quelônios, seguindo os padrões estabelecidos por Yntema (1968), como: Packard *et al.* (1977), Miller (1985), Beggs *et al.* (2000), Greenbaum & Carr (2002), Cordero & Janzen (2014).

Durante o desenvolvimento embrionário, fatores como: temperatura, umidade e oxigenação são variáveis de grande importância na embriogênese dos quelônios, pois influenciam diretamente a taxa de desenvolvimento, duração da incubação, tamanho dos filhotes, metabolismo, comportamento e principalmente determinação sexual (Gettinger *et al.*, 1984; Bull, 1985; Leshem & Dmi'el, 1986; Miller *et al.*, 1987; Cagle *et al.*, 1993; Greenbaum, 2002; Okada *et al*., 2011).

1.4. DESENVOLVIMENTO GONADAL

Com o perpassar do processo reprodutivo, os quelônios têm de buscar locais de desova que apresentem fatores físicos que garantam abrigo para seus ovos e o calor necessário para garantir a incubação e a eclosão dos filhotes, principalmente para as espécies que possuem determinação sexual dependente das características ambientais (Ferreira-Junior, 2009).

A determinação sexual de quelônios dependente da temperatura pode também ser influenciada por outros vários fatores, tais como: localização, composição, tamanho, coloração e granulometria do sedimento do ninho (Bull & Vogt, 1981; Mrosovsky & Provancha, 1989; Ackerman, 1997). Além disso, o aquecimento metabólico do ninho pode ser afetado pelo número de ovos de uma desova (Ackerman, 1997), condições climáticas (Naro-Maciel *et al.*, 1999), local de desova (Miller *et al.*, 2004), profundidade do ninho e a vegetação local (Ferreira Jr., 2003).

Entre o 20° e 40° dia ocorre a determinação sexual (Wibbels, 2003), nesse período, a temperatura influencia ou determina, a síntese de enzimas (como Aromatase e SOX9) que irão atuar na diferenciação dos sexos (Pieau, 1996). Em temperaturas mais elevadas ocorre o desenvolvimento de fêmeas, enquanto que em situação inversa, há maior geração de machos (Ackerman, 1997; Naro-Maciel *et al*., 1999). Em uma dada faixa de temperatura ocorrerá a formação de ambos os sexos em proporções iguais (50% de machos e 50% de fêmeas ou razão sexual de 1:1), sendo essa temperatura denominada de pivotal ou central (Yntema & Mrosovsky, 1982).

A diferenciação gonadal ocorre durante o período termo sensível (TSP), onde esses órgãos são originados das cristas gonadais que se desenvolvem a partir de um espessamento do mesotélio, na região medial aos rins mesonéfricos (Gilbert, 2003; McGeady *et al.* 2006; Moore & Persaud, 2008; Fontenele-Neto *et al.* 2012). No embrião masculino, os túbulos seminíferos se desenvolvem a partir dos cordões medulares ou seminíferos presentes na gônada primordial. Já em embriões femininos, as células somáticas do epitélio cortical e as células germinativas proliferaram para formar os folículos ovarianos primordiais (Gilbert, 2003).

Durante o TSP, como relatado por Pieau *et al.* (1999), na diferenciação testicular, o epitélio gonadal se achata e as células germinativas os deixam para migrar para os cordões medulares. Nesses cordões algumas células epiteliais adquirem características sertólicas e assim os cordões medulares formam o princípio dos cordões seminíferos (com contorno arredondado delimitado por uma membrana basal).

Já nos ovários o epitélio germinativo se engrossa devido a proliferação *in situ* de células epiteliais e células germinativas, que darão origem aos futuros folículos ovarianos (Pieau *et al.,* 1999; Gilbert, 2003; Moore & Persaud, 2008).

Depois do TSP, uma fina túnica albugínea envolve os testículos, a mesma é composta por algumas camadas de fibroblastos. No final do desenvolvimento embrionário células de Leydig se diferenciam no tecido intersticial.

No ovário o córtex se espessa fortemente devido a meiose das células germinativas. Na eclosão folículos primordiais em crescimento são vistos na parte interna do córtex gonadal (Pieau *et al.,* 1999). Mas, para algumas espécies de quelônios as células germinativas não são vistas em divisão meiótica durante o desenvolvimento embrionário.

O desenvolvimento das gônadas de quelônios foi relatado para algumas espécies como *Emys orbiculares* (Pieau *et al.*, 1999), *Lepidochelis olivaceae* (Merchant-Larios *et al.*, 1997), *Testudo graeca* (Pieau, 1975), *e Dermochelis coraceae* (Rimblot *et al.*, 1985). Porém, para espécies que compõem a fauna amazônica esses aspectos reprodutivos são desconhecidos. São principalmente relatadas nos trabalhos, a morfologia das gônadas de filhotes recém-eclodidos e indivíduos adultos. Já para *K. scorpioides* estes são limitados a anatomia das gônadas de adultos (Carvalho *et al.* 2010; Machado Junior *et al.* 2006; Chaves *et al.* 2012).

Inclusive a maioria dos estudos que analisam o desenvolvimento morfológico interno ou externo de embriões de muçuãs são realizados em condições laboratoriais, nas quais é possível isolar uma ou mais variáveis. Contudo, em campo, nos ninhos naturais, onde esses fatores podem sofrer grandes oscilações, pouco se sabe. A fase da incubação dos ovos é o período mais vulnerável no ciclo de vida dos quelônios; um bom conhecimento sobre os fatores que influenciam a incubação e a embriogênese pode ser essencial para que a conservação e o manejo destes animais sejam bem-sucedidos.

2. OBJETIVOS

Estudar o desenvolvimento embriológico macroscópico de *K. scorpioides*, além de caracterizar o desenvolvimento gonadal desta espécie.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Descrever as características morfológicas do muçuã e estabelecer fases de desenvolvimento embrionário.

b) Descrever as características anatômicas das gônadas do muçuã durante o desenvolvimento embrionário.
c) Descrever as características histológicas das gônadas do muçuã durante o desenvolvimento embrionário.
d) Relacionar as características morfológicas e histológicas com as fases embrionárias.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Campus Experimental Emerson Salimos - CEMES/Embrapa Amazônia Oriental, localizado de acordo com as coordenadas 48˚ 30’ e 54” de longitude W e 00˚ 45´ e 21” de latitude S, na Mesorregião geográfica Marajó, à margem direita do rio Paracauari. Distando, por via terrestre, cerca de 17 km da cidade de Salvaterra - Pará.

Foram realizadas quatro coletas, duas em 2014 nos meses de julho e outubro, e outras duas em 2015 nos meses de junho e outubro. Foram utilizadas posturas de muçuãs do plantel do Banco de Germoplasma da Amazônia Oriental, onde todos os animais foram identificados individualmente, com o uso de microchip da marca Partners®. Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética Animal da Embrapa Amazônia Oriental (Lo n° 7310/2014).

Ao todo foram utilizados 50 ovos, onde este foram coletados a cada cinco dias, a partir da desova até a eclosão, que aconteceu com aproximadamente 125 dias. Em seguida, estes foram abertos e o conteúdo disposto em placa de petri para a identificação e dissecação dos embriões. Os embriões passaram por morfometria onde o comprimento e a largura da carapaça e do plastrão foram medidos.

Os embriões foram fixados em solução de *Bouin* e conservados em álcool 70%. Para a análise das caraterísticas morfológicas internas foram utilizados embriões a partir do estagio 16 (35 dias), até o período da eclosão. Os mesmos foram primeiramente, excisados na região da ponte e, em seguida, o plastrão foi removido. Realizou-se um corte longitudinal a partir da região mandibular, finalizando na região da pélvis. Toda a musculatura peitoral e abdominal foi rebatida, e a cavidade celomática exposta para a descrição do sistema reprodutor que foi dissecado.

Para avaliação do desenvolvimento gonadal, medidas de comprimento e largura das gônadas foram realizadas, utilizando um paquímetro manual.

Para as análises histológicas as gônadas foram desidratadas em solução etanólica crescente (70%, 80%, 90% e 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Cortes de 5 μm de espessura foram montados em lâminas e corados com Hematoxilina e Eosina.

As condições ambientais do período de incubação foram determinadas por meio dos dados do Instituto Nacional de Meteorologia da estação meteorológica 82141, Soure - PA.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Os primeiros estágios, relativos ao primeiro terço do desenvolvimento (1° ao 14° dia, estágio 1 até o estágio 8), não puderam ser observados, inclusive os estágios 15 e 18, devido a questões técnicas. Foi observado que os estágios embrionários de *K. scorpioides* são semelhantes ao da espécie *Chelydra serpentina*, os quais Yntema (1968) utilizou para padronizar o desenvolvimento embrionário de quelônios, em 26 estágios a uma temperatura de 20° C.

Os estágios encontrados no intervalo do 15º ao 20º dia de incubação foram os estágios 9, 10, 11, 12 (figura 2AB e 3AB). Sendo esses classificados pela presença de arcos branquiais, vesícula óptica e ótica, além de membros.

- Estágio 9 (figura 2A)

Características craniais: A projeção occipital é maior que o processo frontal. A vesícula óptica está presente e o rudimento ótico é perceptível. Podem ser vistos três arcos faríngeos, sendo o terceiro arco delimitado posteriormente. O primórdio do coração já está presente.

Outras características: Um pequeno processo caudal está presente.

- Estágio 10 (figura 2B):

Características craniais: Quatro arcos faríngeos estão presentes. A vesícula óptica ainda está fechada.

Outras características: Processo caudal ainda está limitado.

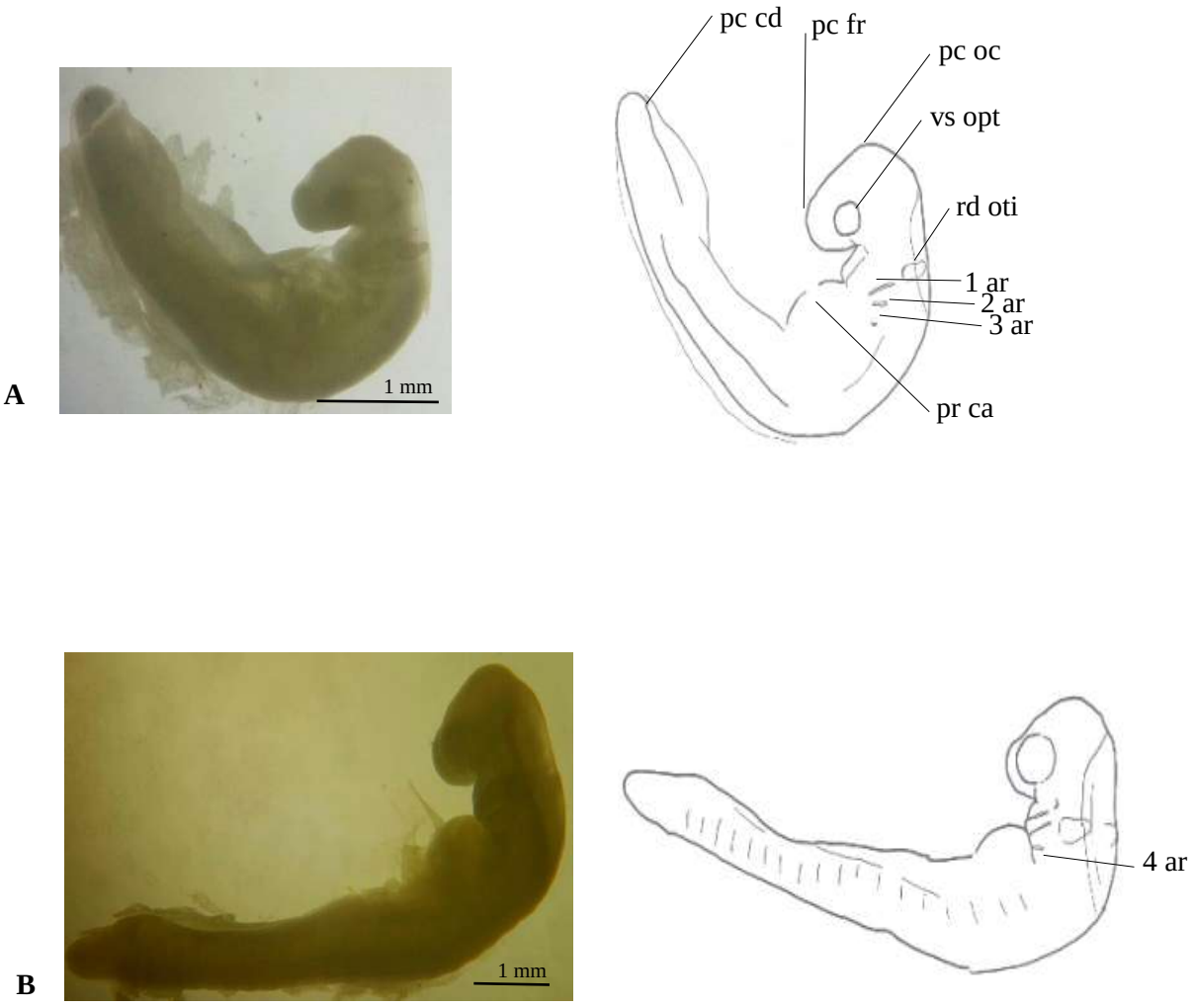


Figura 2: Embriões de *K. scorpioides* nos estágios de 9 e 10 de desenvolvimento embrionário. A) Estágio 9: primeiro arco faríngeo (1 ar), primórdio cardíaco (pc ca), processo frontal (pc fr), processo occipital (pc oc), processo caudal (pc cd), segundo arco faríngeo (2 ar), rudimento ótico (rd oti), terceiro arco faríngeo (3 ar) e vesícula óptica (vs opt). B) Estágio 10: quarto arco faríngeo (4 ar).

- Estágio 11 (Figura 3A)

Características craniais: O quarto arco está complemente delimitado. Processo mandibular se estende em direção do olho, o processo maxilar está se diferenciando. Primeira fenda branquial ainda permanece aberta posteriormente. Região do cristalino pode ser observada.

Membros: Pode ser vista a presença do broto dos membros, como abaulamentos nas regiões laterais do corpo.

- Estágio 12 (figura 3B)

Características craniais: Segundo e terceiro sulcos branquiais estão presentes, o quarto sulco não está mais aberto. A primeira fenda faríngea que se diferenciou apresenta o processo maxilar com tamanho igual ao processo mandibular. Processo nasal é aparente (ainda aberto) e separado do processo maxilar. Além disso, o primórdio da pigmentação ocular pode ser notado.

Membros: Os brotos dos membros são visíveis orientados posterolateralmente, sendo o anterior maior que o posterior.

Outras características: A hérnia está presente e o processo caudal está alongado.

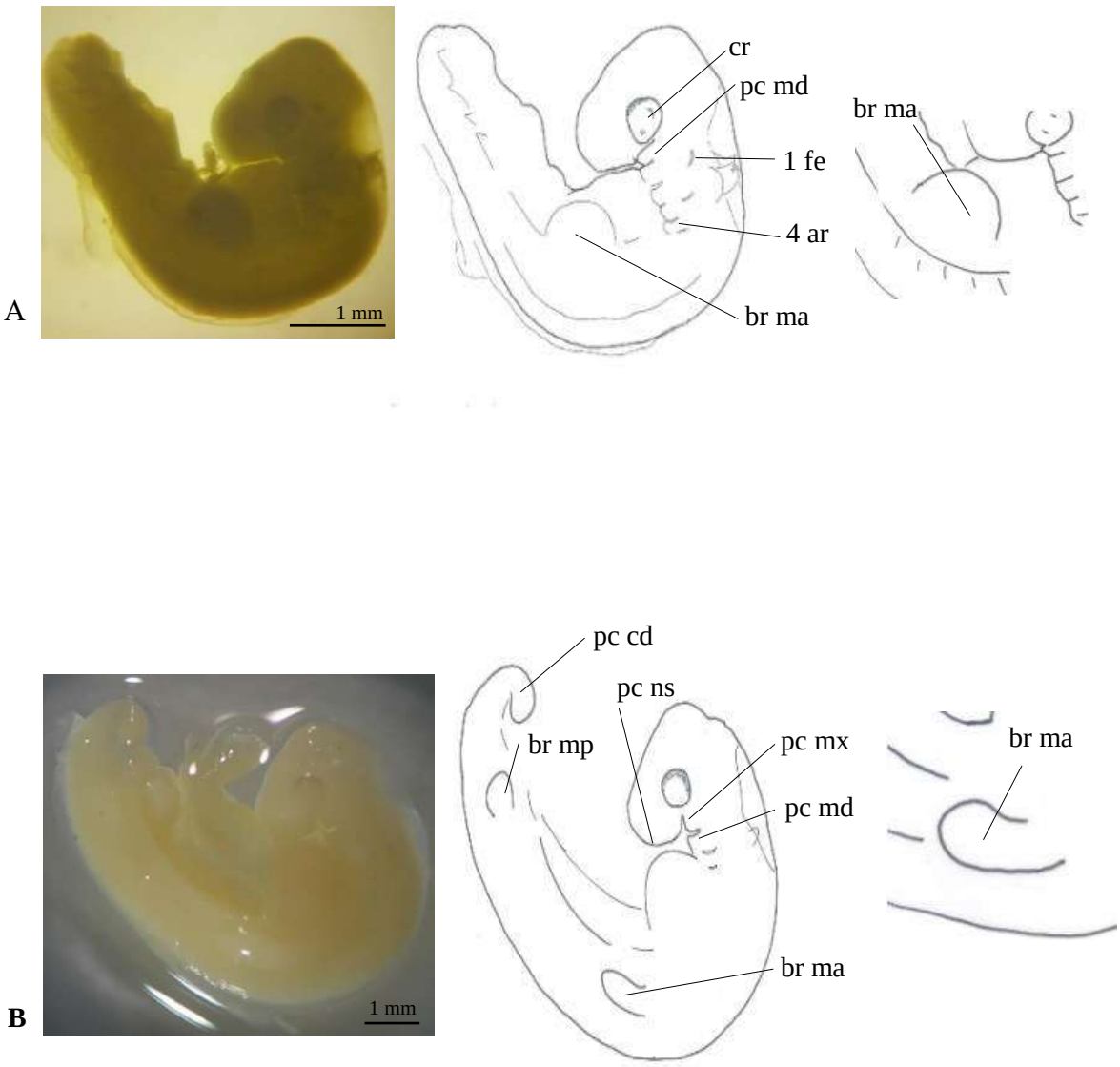


Figura 3: Embriões de *K. scorpioides* nos estágios de 11 e 12 de desenvolvimento embrionário. A) Estágio 11: broto dos membros anteriores (br ma), cristalino (cr), primeira fenda faríngea (1 fe), processo mandibular (pc md) e quarto arco faríngeo (4 ar). B) Estágio 12: brotos dos membros anteriores (br ma) e posteriores (br mp), processo caudal (pc cd), processo mandibular (pc md), processo maxilar (pc mx) e processo nasal (pc ns).

Nos intervalos do 25º ao 35º dia de incubação nos encontramos os estágios 13, 14, 16 e 17 (figura 4AB e 5AB). Sendo esses marcados pela evidente pigmentação ocular, morfologia dos membros, além da morfologia e aparecimento da carapaça e da protuberância urogenital.

- Estágio 13 (figura 4A)

Características craniais: A pigmentação ocular está aparente e uma área despigmentada liga o cristalino (que também está despigmentado) com a região inferior do olho. O processo naso-lateral está se fusionando com o processo maxilar. Primórdio do coração ainda está bastante elevado.

Membros: O broto do membro anterior é um pouco mais curto do que largo e em forma de remo, orientado posteroventralmente. O broto do membro posterior presente.

Outras características: O processo caudal é bastante evidente e alongado.

- Estágio 14 (figura 4B)

Características craniais: O processo occipital ainda é maior que o processo frontal. A íris está altamente pigmentada e pode ser visto a borda da pupila pigmentada. Os processos maxilar e mandibular ainda estão abertos e o processo naso-lateral está fusionado com o processo maxilar. O primórdio do coração começa a diminuir.

Membros: Os membros anteriores possuem placas digitais (com forma de pá), porém ela não apresenta dígitos. Membros anteriores e posteriores estão orientados caudalmente.

Complexo carapaça-plastrão: Borda lateral da carapaça está presente, marcada como um sulco na parte lateral do corpo.

Outras características: A hérnia umbilical está em forma de tubo. E o primórdio da papila urogenital é visível.

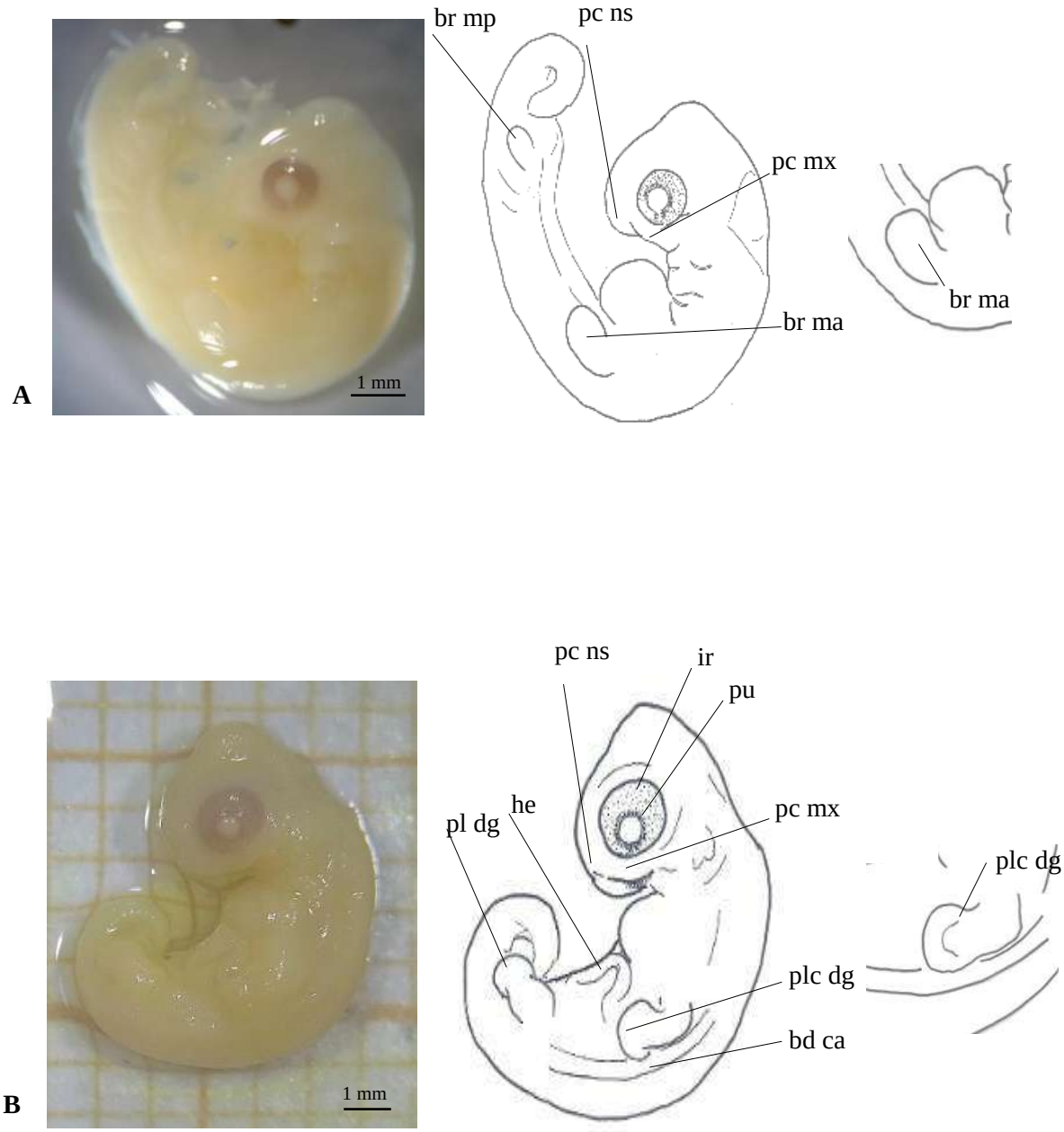


Figura 4: Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 13 e 14 de desenvolvimento embrionário. A) Estágio 13: broto do membro anterior (br ma) e posterior (br mp), processo maxilar (pc mx) e processo naso-lateral (pc ns). B) Estágio 14: borda lateral da carapaça (bd ca), placas digitais (plc dg), hérnia umbilical (he), íris (ir), pupila (pu), processo maxilar (pc mx) e processo naso-lateral (pr ns).

- Estágio 16 (figura 5A)

Características craniais: O processo maxilar ultrapassou o olho e a mandíbula encontra-se no nível da pupila. Ocorre o aparecimento da pálpebra superior. A maxila ainda não está formada e a mandíbula está fechada. O processo nasal está completamente formado. Começa a formação da pigmentação na parte posterior da cabeça.

Membros: As placas digitais apresentam dígitos nos membros anteriores e posteriores não apresentam dígitos. Pigmentação começa na parte axial dos membros.

Complexo carapaça-plastrão: As costelas, a borda da carapaça, o plastrão e a ponte são vistos.

Outras características: O primórdio da papila urogenital aumenta de tamanho.

- Estágio 17 (figura 5B)

Características craniais: O processo occipital ainda está elevado. A pálpebra inferior é formada. A mandíbula encontra-se além do nível do cristalino, mas não alcançou o processo frontal. Mandíbula e maxila estão formadas. A carúncula pode ser observada. Ocorre o aumento da pigmentação na parte posterior da cabeça.

Membros: A periferia das placas digitais é serrilhada nos membros anteriores e são ligeiramente serrilhadas nos membros posteriores, com dígitos. Ocorre o aumento da pigmentação na parte axial dos membros.

Complexo carapaça-plastrão: O primórdio das placas epidérmicas vertebrais da superfície carapacial é notado como linhas sutis, indicando os escudos vertebrais e pleurais. A quilha carapacial vertebral é evidente.

Outras características: A protuberância urogenital está circundada pela membrana cloacal.

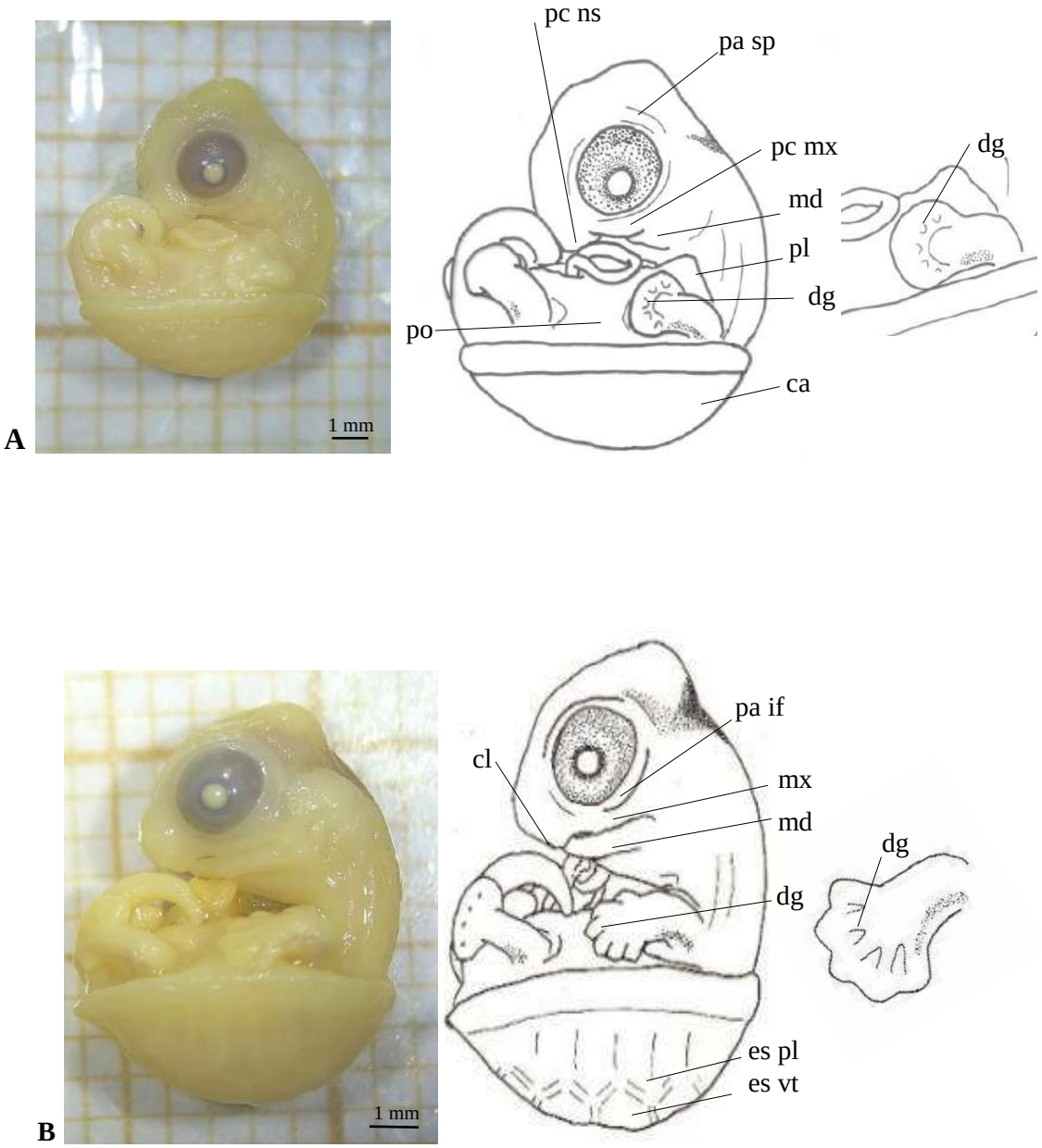


Figura 5: Embriões de *K. scorpioides* nos estágios 16 e 17 de desenvolvimento embrionário. A) Estágio 16: carapaça (ca), dígitos (dg), mandíbula (md), processo maxilar (pc mx), pálpebra superior (pa sp), plastrão (pl), ponte (po) e processo nasal (pc ns). B) Estágio 17: dígitos (dg), escudos vertebrais (es vt) e pleurais (es pl), mandíbula (md), maxilar (mx) e pálpebra inferior (pa if).

Nos intervalos do 40º dia até o 50º, nós pudemos observar animais nos estágios 19, 20, 21 e 22 (figura 6AB e 7AB), onde pode ser notado presença dos dígitos nas placas digitais indo além na membrana interdigital nos membros, e pigmentação ao longo do corpo.

- Estágio 19 (figura 6A)

Características craniais: O processo occipital se retraiu, seu tamanho equivale ao processo frontal. A pálpebra inferior encontra-se além da borda do olho. Podem ser notadas protuberâncias marcadas como papilas cutâneas na região ventral do pescoço e também dobras de pele puderam ser vistas nessa região do pescoço. A pigmentação da cabeça aumenta, se apresenta clara no dorso do pescoço, na região do tímpano e no entorno das narinas, que ainda estão fechadas.

Membros: Nos membros anteriores os dígitos estão além da rede (membrana interdigital), o primeiro a uma distância curta e os outros quatros a uma distância maior. Dobras cutâneas estão presentes no dorso do membro anterior. Surge pigmentação nas placas dos membros. Além disso, os membros anteriores apresentam poucas escamas.

Complexo carapaça-plastrão: A borda da carapaça é suave e apresenta escudos com pouca pigmentação, a carapaça possui três quilhas dorsais, e no plastrão ocorre a presença das linhas que marcam o primórdio dos escudos epidérmicos. Pigmentação clara é vista em toda a carapaça, e pontos de pigmentação escura podem ser vistos na parte inferior dos escudos vertebrais. Dobra de pele, na parte anterior do plastrão, demonstra o que virá a ser o princípio do escudo peitoral. Dois escudos são vistos compondo a ponte.

Outras características: A hérnia está se retraindo e a membrana continua a crescer ao redor da protuberância urogenital.

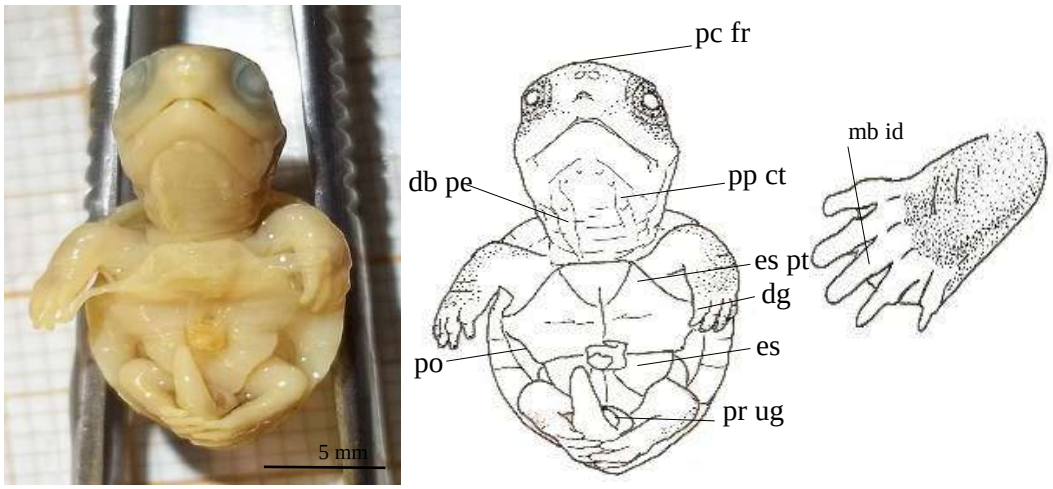
- Estágio 20 (figura 6B)

Características craniais: Dobras de pele são vistas em maior número do pescoço e as papilas cutâneas estão cercadas por uma mancha arredondada sem cor.

Membros: Os dígitos (sem pigmentação), que possuem pontas grossas e apresentam bainha, estão formados no membro anterior e se projetam além da membrana interdigital. No membro posterior as garras se projetam nos quatro primeiros membros, porém é muito menor no último (está internalizada).

Complexo carapaça-plastrão: Pigmentação clara é observada em toda a carapaça, há pontos de pigmentação escura na borda dos escudos vertebrais da carapaça. Podendo está presente até a metade dos escudos pleurais e nos escudos marginais da carapaça.

Outras características: Hérnia continua seu processo de retração. A protuberância urogenital está adentrando a abertura cloacal.



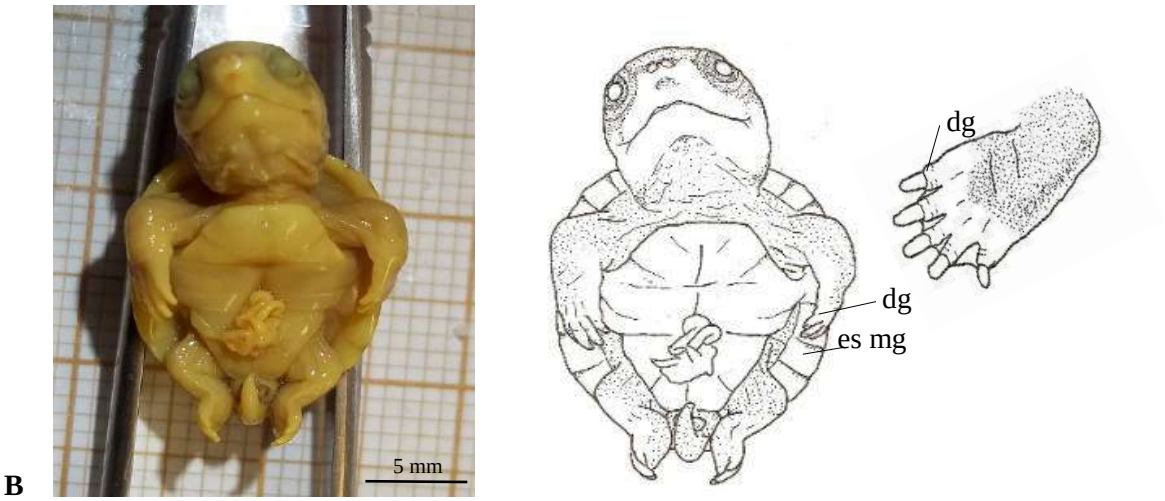


Figura 6: Embriões nos estágios 19 e 20 de desenvolvimento embrionário. A) Estágio 19: dígitos (dg), dobras de pele (do pe), escudos epidérmicos (es), escudo peitoral (es pt), papilas cutâneas (pp ct), ponte (po), processo frontal (pc fr) e protuberância urogenital (pr ug). B) Estágio 20: escudos marginais (es mg) e dígitos (dg).

- Estágio 21 (figura 7A)

Características craniais: A pálpebra superior alcança a íris. Aparece pigmentação na parte anterior da cabeça e também na parte central da região ventral do pescoço.

Membros: As garras são delimitadas do resto dos dígitos no nível da membrana por uma bainha, e são curvas.

Complexo carapaça-plastrão: A pigmentação está escurecendo na carapaça, mas no plastrão está clara. A ponte e os escudos marginais estão pigmentados. Leves ranhuras são vistas na carapaça, que marcam o princípio das rugosidades da mesma.

Outras características: A protuberância urogenital está totalmente circundada pela cloaca que ainda não se fechou totalmente. Pelo corpo a pigmentação começa a escurecer.

- Estágio 22 (figura 7B)

Características craniais: Pigmentação na cabeça começa a adquirir manchas escuras, e está presente na parte ventral do pescoço escureceu.

Membros: As garras estão fora da membrana interdigital, e são grossas e curvas com pigmentação uniforme, mas clara. Os membros ainda apresentam poucas escamas.

Complexo carapaça-plastrão: Carapaça com aspecto rugoso e quilhas com pigmentação clara.

Outras características: Hérnia umbilical ainda presente.

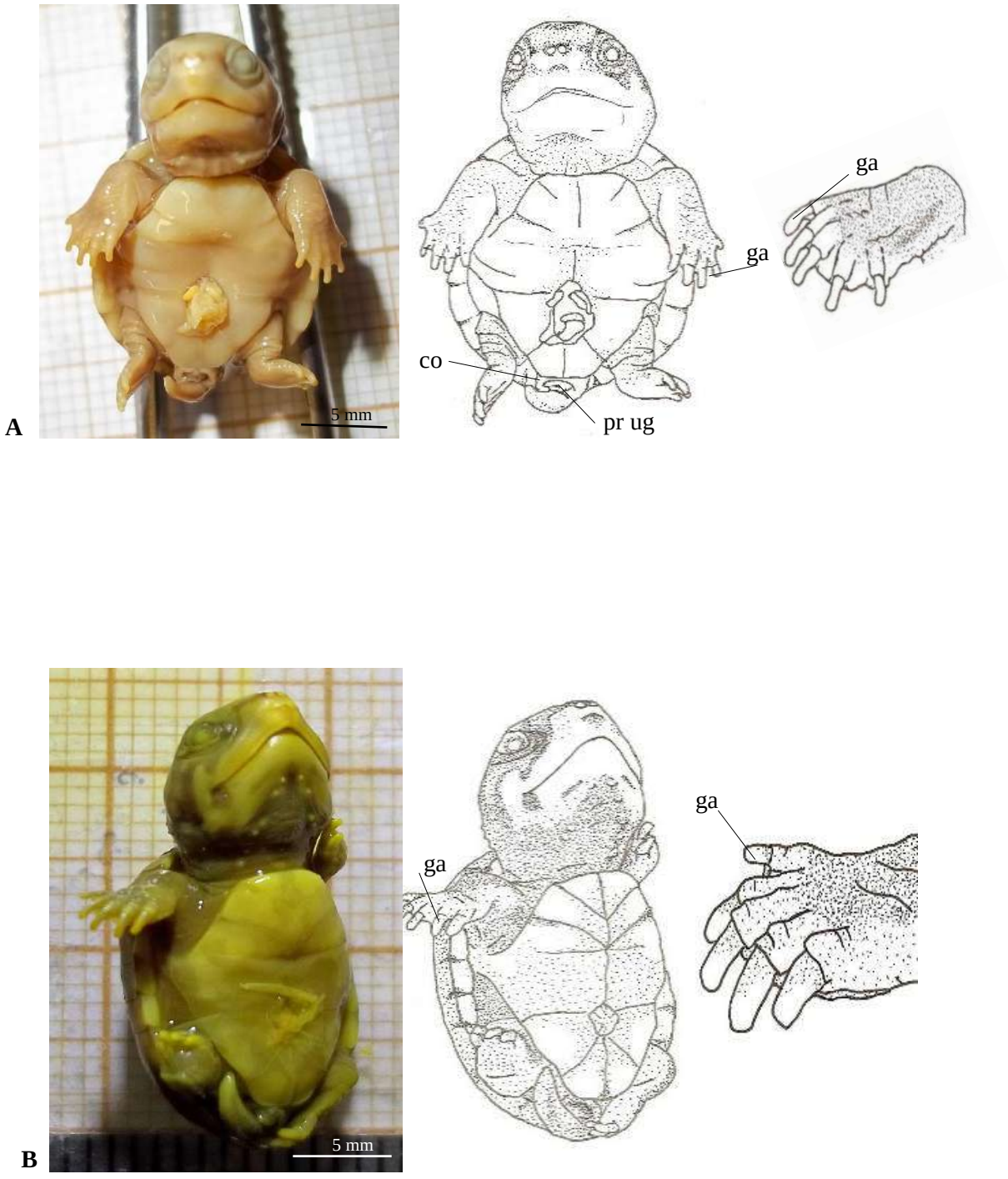


Figura 7: Embriões nos estágios 21 e 22 de desenvolvimento embrionário. A) Estágio 21: garras (ga), membrana cloacal (co) e protuberância urogenital (pr ug). B) Estágio 22: as garras (ga).

Por fim, nos intervalos do 55º até 125º dia foram observados os estágios 23, 24, 25 e 26 (figura 8AB e 9AB). Onde foram determinantes nesses estágios a presença dos dígitos nos membros, pigmentação densa no corpo, desaparecimento da protuberância urogenital e da hérnia umbilical.

- Estágio 23 (figura 8A):

Características craniais: As pálpebras superiores encontram-se na metade do cristalino. Manchas de pigmentação listradas são vistas na cabeça e no pescoço. Parte inferior da mandíbula encontra-se despigmentada.

Membros: Os membros anteriores possuem pigmentação pesada, escamas e garras longas, com estrutura homogênea. Os membros posteriores apresentam quatro dígitos com garras, porém o último digito encontra-se na membrana interdigital.

Complexo carapaça-plastrão: Pigmentação e escudos com aparência rugosa são bastante evidentes na carapaça. Quilhas dorsais laterais não pigmentadas. Algumas áreas do plastrão e dos escudos marginais encontram-se despigmentadas.

Outras características: A papila urogenital não é mais vista, a cloaca a cobre. A cauda possui escamas. Há pigmentação escura em todo o corpo do embrião, exceto em algumas áreas da cabeça e plastrão.

- Estágio 24 (figura 8B)

Características craniais: As pálpebras inferiores ultrapassam o cristalino. As narinas estão abertas. As papilas cutâneas abaixo da mandíbula aumentaram. A carúncula é nítida e pontuda. A mandíbula apresenta-se pigmentada.

Membros: Dobras cutâneas estão proeminentes nos membros anteriores e posteriores. O último dígito do membro posterior continua internalizado. Bases das garras estão pigmentadas, e as mesmas estão situadas dentro de um involucro um pouco opaco.

Complexo carapaça-plastrão: Os escudos marginais da carapaça estão começando a apresentar um aspecto rugoso, semelhantes ao das demais placas epidérmicas da carapaça. Dobra de pele, que dará origem a placa peitoral, aumentou de tamanho.

Outras características. A hérnia ainda se encontra presente.

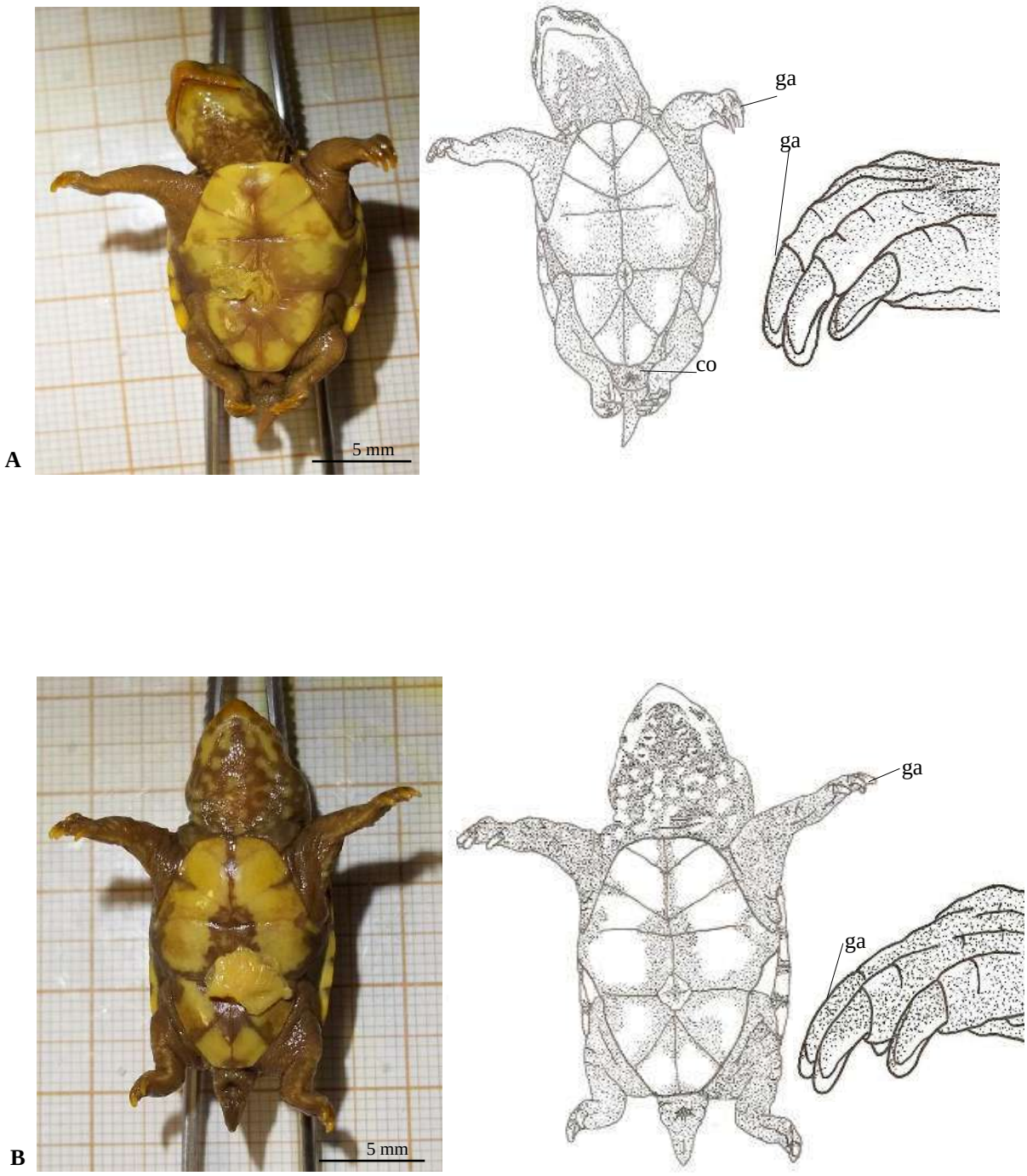


Figura 8: Embriões nos estágios 23 e 24 de desenvolvimento embrionário. A) Estágio 23: garras (ga) e membrana cloacal (co). B) Estágio 24: garras (ga).

- Estágio 25 (figura 9A)

Características craniais: Ocorre a dispersão da pigmentação da cabeça.

Membros: A pigmentação nas garras aumenta e a mesma está diferenciada dentro do invólucro translúcido que as cobre, para formar uma estrutura pontuda que é menor que o invólucro.

Complexo carapaça-plastrão: A carapaça e o plastrão encontram-se calcificados. A pigmentação escurece e se dispersa nos escudos do plastrão. A mesma aumenta nos escudos marginais.

Outras características: A hérnia umbilical ainda está aberta no plastrão. O corpo do embrião apresenta uma cor verde escuro, exceto nas regiões que apresentam as manchas como a cabeça e plastrão.

- Estágio 26 (figura 9B)

Membros: Os invólucros sobre as garras estão gastos.

Outras características: A hérnia é uma região macia no plastrão que está fechada, ainda com um resto de saco vitelínico internalizado.

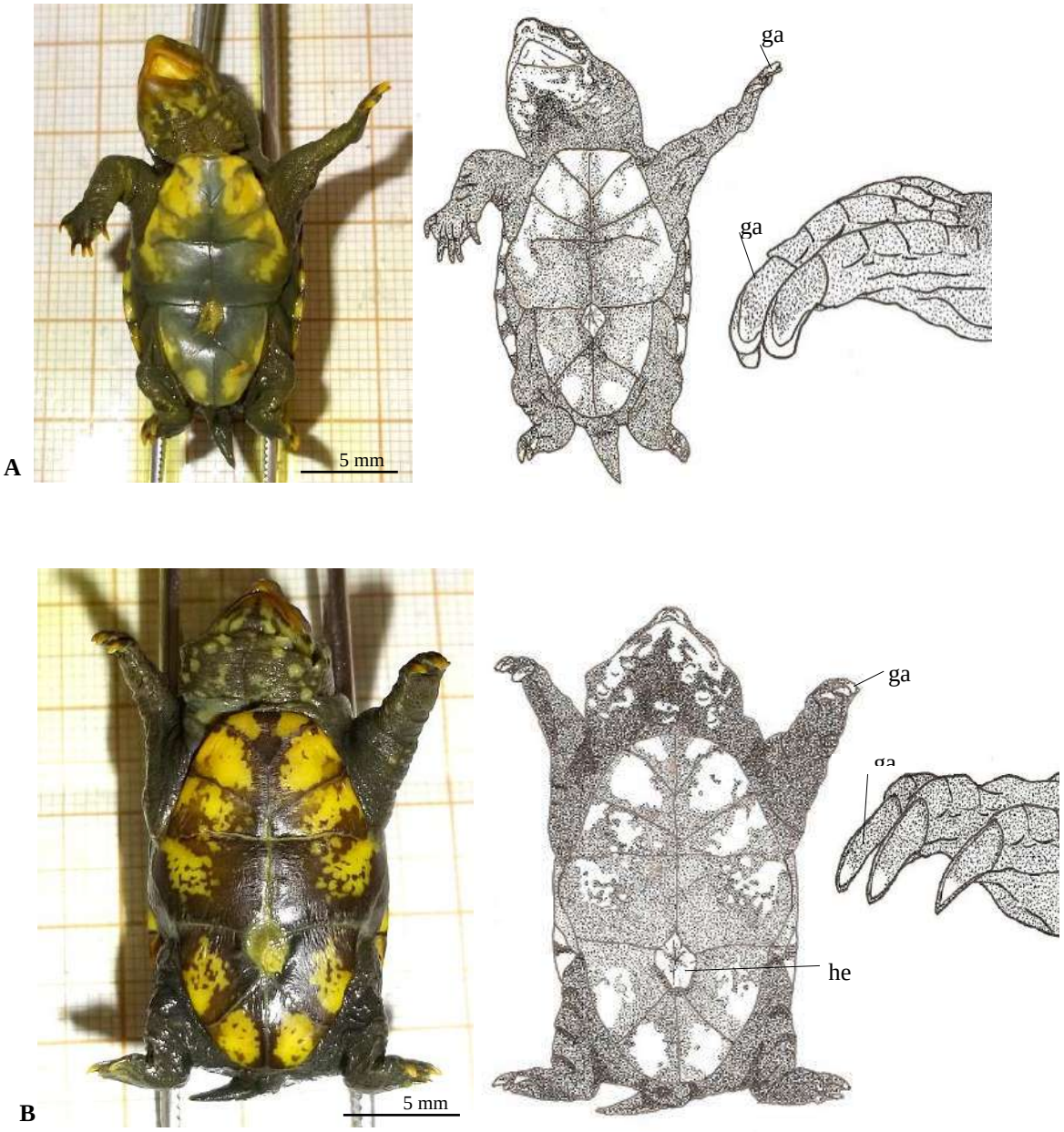


Figura 9: Embriões nos estágios 25 e 26 de desenvolvimento embrionário. A) Estágio 25: garras (ga). B) Estágio 26: garras (ga) e hérnia umbilical (he).

As características espécie específicas apenas foram vistas de forma tardia, no estágio 19, essas características foram: a presença das três quilhas carapaciais, de dois escudos compondo a ponte, as papilas cutâneas na região ventral do pescoço, e a pigmentação escura dispersa na cabeça e membros.

Características de indivíduos adultos como a presença da estrutura córnea na ponta da cauda, que deu origem ao nome da espécie, o aspecto liso com estruturas concêntricas da carapaça, além da predominância da cor amarela no plastrão com estruturas concêntricas bem delineadas (Berry & Iverson, 2001) não foram ser notadas nos embriões analisados, mostrando que a manchas com pigmentação escura no plastrão são características de filhotes.

Ao comparar o desenvolvimento embrionário de *K. scorpioides* com o da espécie *C. serpentina* descrita por Yntema (1968), observou-se que os caracteres relativos as posições das pálpebras (que ajudam na determinação dos estágios para *C. serpentina*) não são conclusivos para determinar estágio para o muçuã. Pois, as posições das pálpebras variam aleatoriamente durante o processo embrionário. Características como a morfologia dos dígitos e dos membros foram mais elucidativas, para confirmar as fases de desenvolvimento.

A morfometria realizada na carapaça e no plastrão desses animais mostraram um crescimento linear com o passar do desenvolvimento embrionário. Fato este comum para indivíduos nessa fase de vida, o que também foi relatado para espécies como: *Chelydra serpentina* (Yntema, 1968), *Carettochelys insculpta* (Beggs *et al.*, 2000), *Pelodiscus sinensis* (Tokita & Kuratani, 2001), *Apalone spinifera* (Greenbaum & Carr, 2002) *Chrysemis picta* (Cordero & Janzen, 2014); e pode ser visualizado na figura 10 e 11.

Quando se observou os dados das variáveis ambientais, percebeu-se que os meses de agosto, setembro e outubro de 2014 e 2015, apresentaram as temperaturas máximas elevadas e uma baixa umidade relativa do ar (Tabela 2).

Observou-se uma diferença no tempo de desenvolvimento embrionário entre a primeira e a segunda coleta. Onde a partir do estágio 19, a primeira coleta apresentou embriões maiores e uma diferença de cinco dias a mais, em relação à segunda coleta que apresentou embriões menores. Esse fato pode ser explicado pelo aumento da temperatura média durante os meses de incubação da segunda coleta (agosto, setembro e outubro), que aceleraria o metabolismo desses embriões, encurtando o período de incubação.

Tabela 2: Variáveis ambientais registradas na estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia, cidade de Soure – PA. Note o aumento da temperatura nos meses de agosto, setembro e outubro.

Mês	**Temperatura Máxima °C**	**Temperatura Mínima °C**	**Umidade Relativa (%)**
Maio/14	30,2	22	91
Junho/14	31	27,8	87,5
Julho/14	30,5	26,46	81,36
Agosto/14	31	22,8	80,71
Setembro/14	31	22	75,58
Outubro/14	36,44	29,03	78,5
Abril/15	-	22,5	86,8
Maio/15	-	23	83,9
Junho/15	-	23	80,3
Agosto/15	31,2	23,5	76
Setembro/15	31,7	24,1	72,2
Outubro/15	32,1	24,3	73,4

Esses dois fatores ambientais associados poderiam acelerar o desenvolvimento embrionário e, consequentemente, diminuindo o tamanho dos indivíduos. Fato que pode ser observado nas análises morfométricas do comprimento da carapaça e do plastrão de embriões da primeira e segunda coleta (figura 10 e 11), sendo também relatado por Gutzke & Packard (1986) para *Chrysemys picta* e Glen *et al.*, (2003) para *Chelonia mydas*. Esses autores observaram que ovos do ambiente úmido geram filhotes maiores, do que aqueles do ambiente seco, pois absorvem mais água.

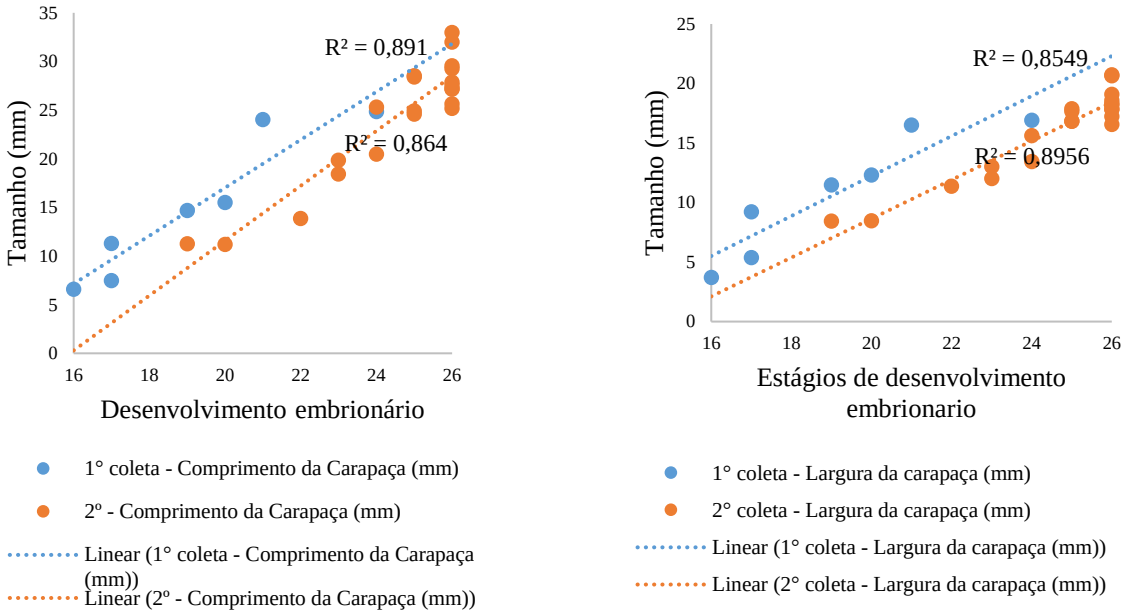


Figura 10: Análises morfométricas comparando o comprimento da carapaça. Mostrando o tamanho menor dos embriões incubados durante os meses de agosto, setembro e outubro, relativos a segunda coleta.

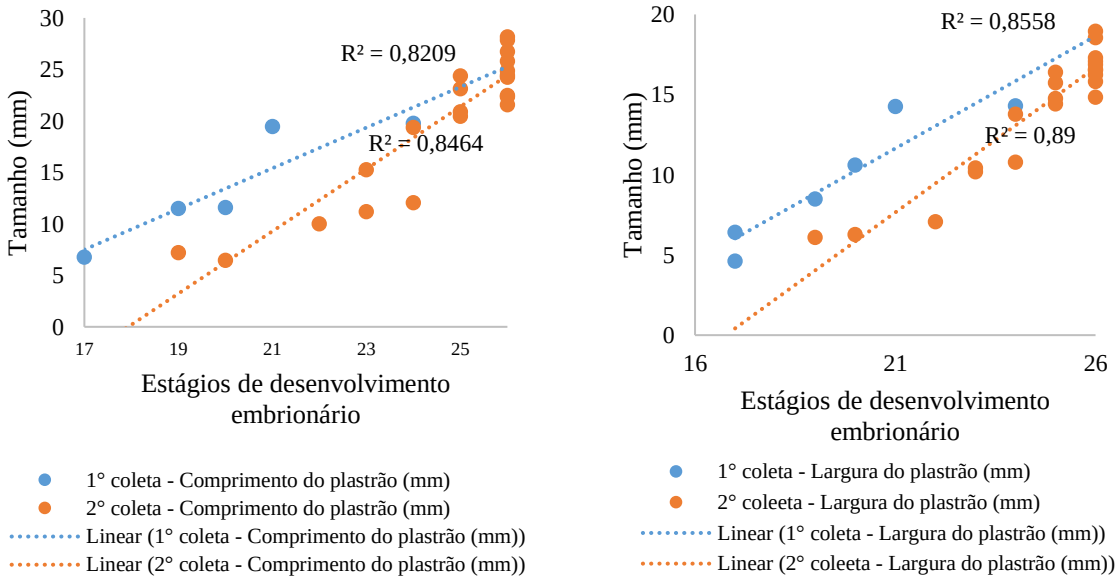


Figura 11: Análises morfométricas comparando o comprimento do plastrão. Mostrando o tamanho menor dos embriões incubados durante os meses de agosto, setembro e outubro, relativos a segunda coleta.

Ackerman & Prange (1972) afirmaram que a umidade e a temperatura atuam diretamente nas trocas gasosas no ambiente de incubação. Influenciando o desenvolvimento embrionário e a velocidade do metabolismo desses embriões, com reflexos no sucesso da eclosão e na duração da incubação dos ovos de quelônios. O que poderia explicar a diferença entre os dois períodos estudados'.

Porém, Booth (1998) relatou que os filhotes de tartaruga oriundos de ovos de casca rígida, como *Emydura signata,* não tiveram o tamanho afetado pela umidade e temperatura dos ninhos. Sendo necessário um estudo mais aprofundado para *Kinosternon scorpioides*.

4.2.ANÁLISE DA ORGANOGÊNESE GONADAL

4.2.1. Localização e sintopia das gônadas de *K. scorpioides*

As gônadas dos animais recém-eclodidos foram visualizadas na porção posterior-dorsal da cavidade celomática ligadas à porção ventromedial dos rins por uma membrana denominada de mesovário ou mesorquídio. Ventral a gônada observa-se o intestino grosso e superior a mesma pode-se observar o intestino delgado (Figura 12), onde a mesma disposição também foi observada por Hernández-Henao *et al.* (2013), em *Podocnemis vogli*.

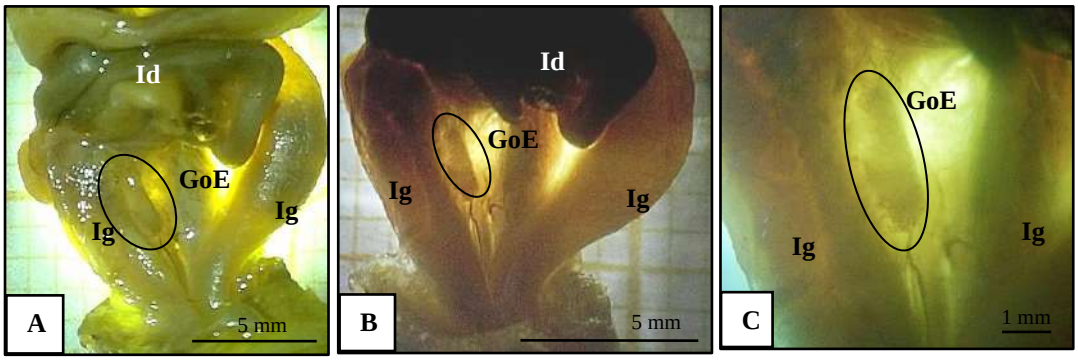


Figura 12: Vista ventral das gônadas de *K. scorpioides* recém-eclodidos. A) Vista ventral da parte inferior da cavidade celomática de *K. scorpioides*. Mostrando a gônada em sintopia com o intestino grosso (Ig) na sua parte ventral e com o intestino delgado (Id) na sua porção superior. B) Vista ventral da gônada esquerda (GoE). C) Vista ventral da gônada esquerda (GoE).

Durante a fase embrionária não houve observação de diferenças estruturais anatômicas em relação às gônadas masculina e feminina; foi observado apenas o crescimento do órgão de acordo com os estágios de seu desenvolvimento. Após a eclosão verificou-se que as gônadas femininas apresentavam superfície irregular e as masculinas com superfície lisa (Figura 13).

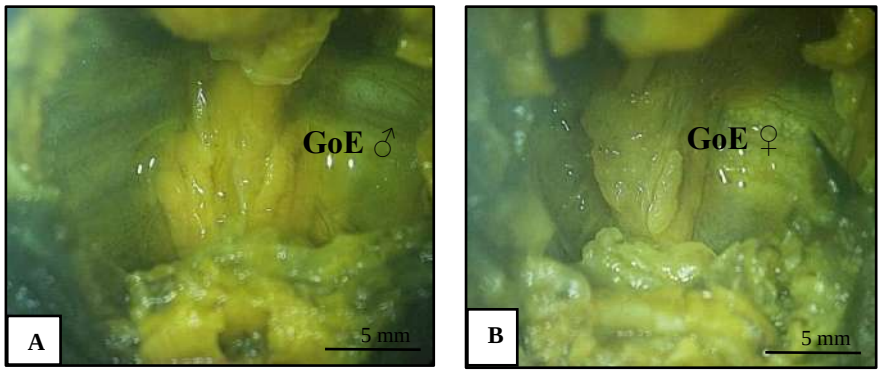


Figura 13: Vista ventral da gônada direita de *K. scorpioides* recém-eclodidos, aumento 10x. A) Gônada masculina (à esquerda) com superfície lisa (GoD ♂). B) Gônada feminina (à direita) com superfície irregular (GoD ♀).

Silva (2012) relatou que da região caudal das gônadas de *C. carbonaria* partem tubos sustentados pelo mesoviduto, estes se direcionam para a cloaca e desembocam nas suas paredes laterais próximos aos ureteres, similar ao encontrado para *K. scorpioides.*

As observações anatômicas deste trabalho foram compatíveis com os verificados por Guzmán & Bonilla (1990) que observaram as gônadas de *P. unifilis* separadas dos rins por uma membrana de tecido conjuntivo. Não foram observadas em muçuãs as membranas que compartimentalizam a cloaca, fato este que poderia ser explicado pelo tamanho dos indivíduos, prejudicando a visualização destas estruturas.

A análise morfométrica mostrou um crescimento linear das gônadas em relação aos estágios de desenvolvimento embriológico (figura 14), onde o comprimento e a largura das gônadas possuem um crescimento contínuo.

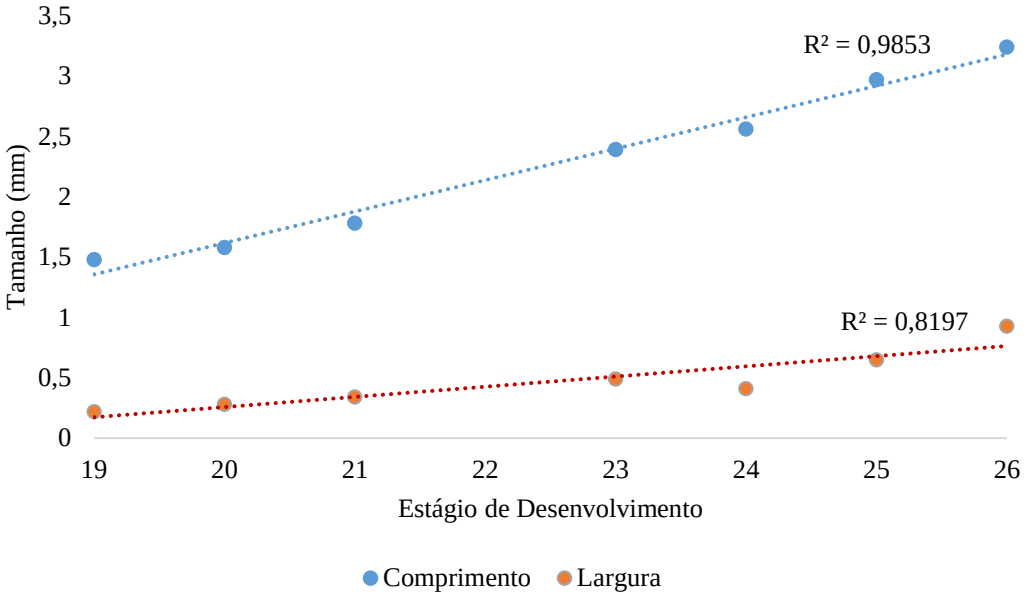


Figura 14: Comprimento (mm) e largura (mm) das gônadas nos estágios de desenvolvimento embrionário.

4.2.2 Análise histológica

A histologia foi realizada em embriões a partir do estágio 16 (Yntema, 1968) com 35 dias de incubação até a eclosão. Nessas amostras as gônadas dos estágios 16 e 19 foram vistas indiferenciadas ou bipotenciais, com epitélio germinativo periférico, constituído por células cúbicas, e um maciço de células germinativas na sua região central dispostas aleatoriamente (Figura 15A e B). Nestes estágios Pieau & Dorizzi (2004) também observaram as gônadas indiferenciadas para *Emys orbicularis*. Esta conformação estrutural, também foi observada por Pieau *et al.* (1999), Gilbert (2003) e Moore & Persaud (2008).

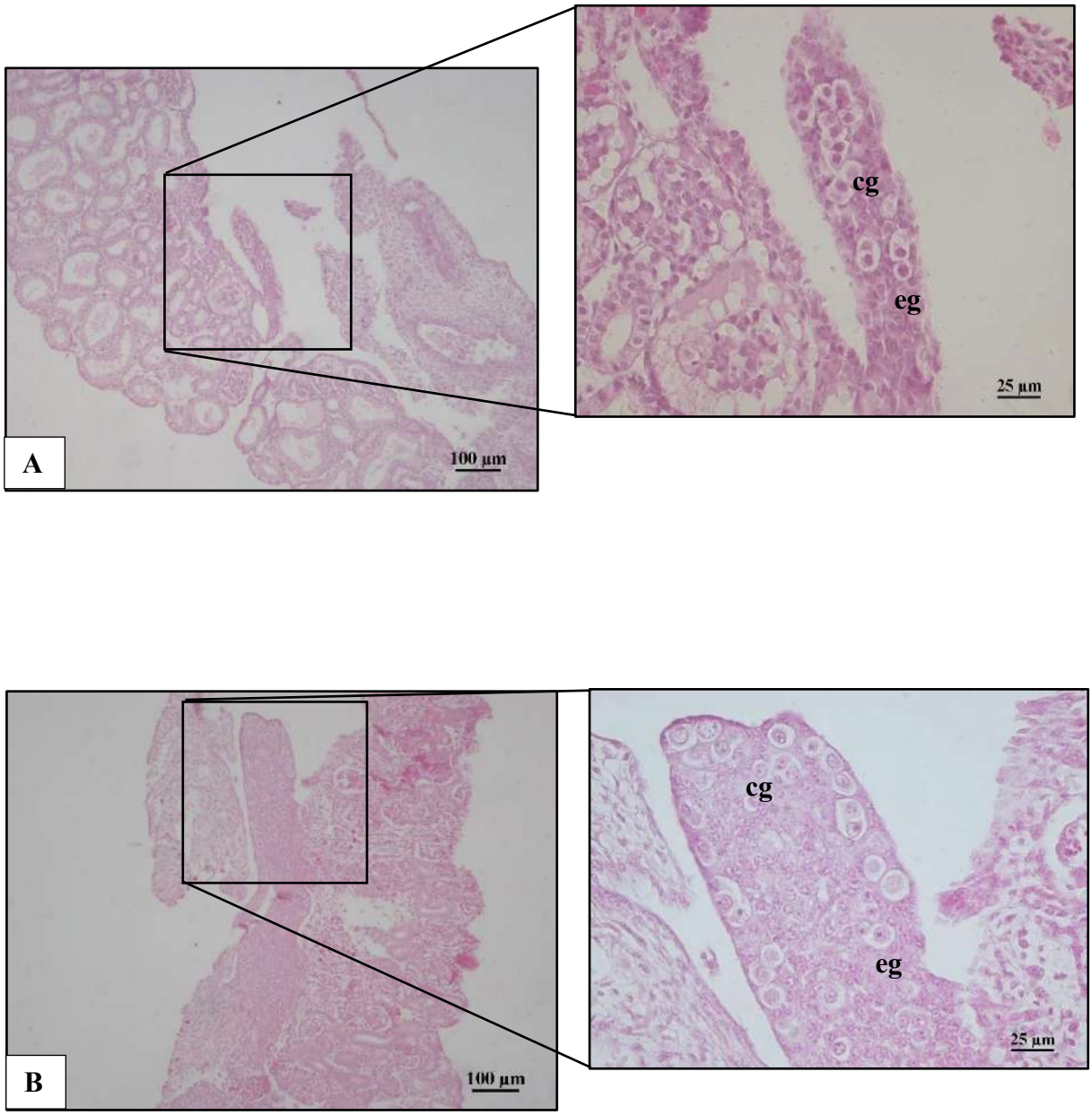


Figura 15: Cortes histológicos das gônadas indiferenciadas. A) estágio 16 e B) estágio 19. Gônada indiferenciada com epitélio germinativo (Eg) periférico e um maciço de células germinativas (Cg) dispostas de forma aleatória.

A partir do estágio 21 (Yntema, 1968) com aproximadamente 50 dias de incubação, observou-se o início da diferenciação gonadal, semelhante ao que foi observado por Pieau & Dorizzi (2004) em *Emys orbiculares*.

As gônadas femininas apresentaram na região cortical o epitélio germinativo periférico e células germinativas (oogônias). A região medular apresentou-se repleta de tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (Figura 16), como observados por Pieau et. al. (1999).

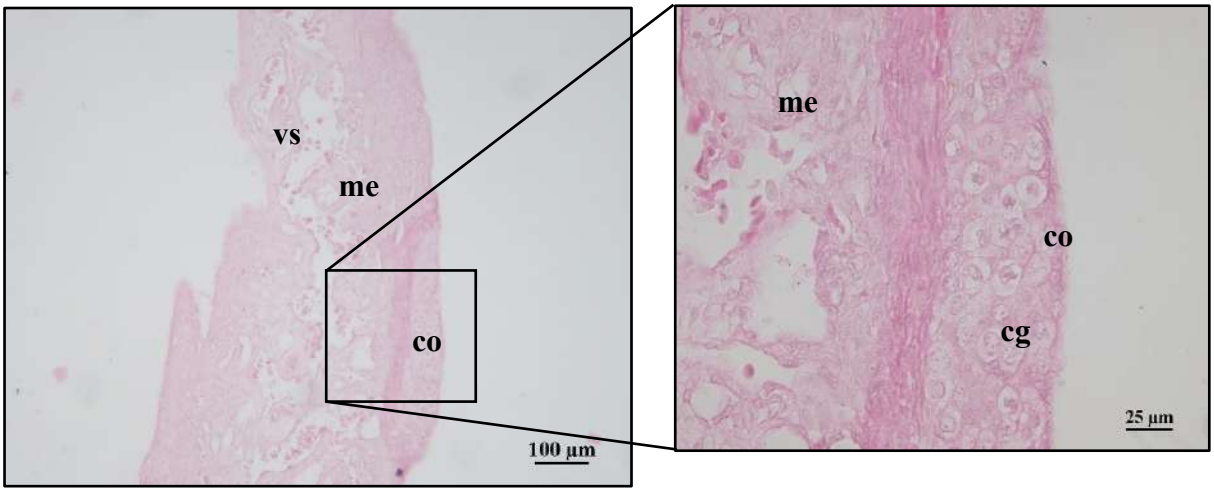


Figura 16: Gônada feminina durante o TSP (estagio 21). Apresentando células germinativas (cg) dispostas na sua região cortical (co) e a região medular (me) apresentou-se repleta de tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (vs).

Nos recém-eclodidos, as gônadas femininas foram visualizadas com o córtex repleto de folículos primordiais e a medula repleta de capilares e células sanguíneas (figura 17), semelhante ao que foi relatado em recém-eclodidos por Malvasio *et al.* (1999) para *Trachemys dorbignyi* e Malvasio *et al.* (2012) para *Podocnemis expansa* e *P. unifilis*, e Sánchez-Ospina (2014) para *P. lewyana.* Ao contrário do observado para *Dermochelis coriacea* (Rimblot *et al.*, 1985) e *Lepidochelis olivacea* (Merchant-Larios *et al.,* 1989) em que as células germinativas não entram em meiose durante o desenvolvimento embrionário e consequentemente não apresentam folículos primordiais na região cortical.

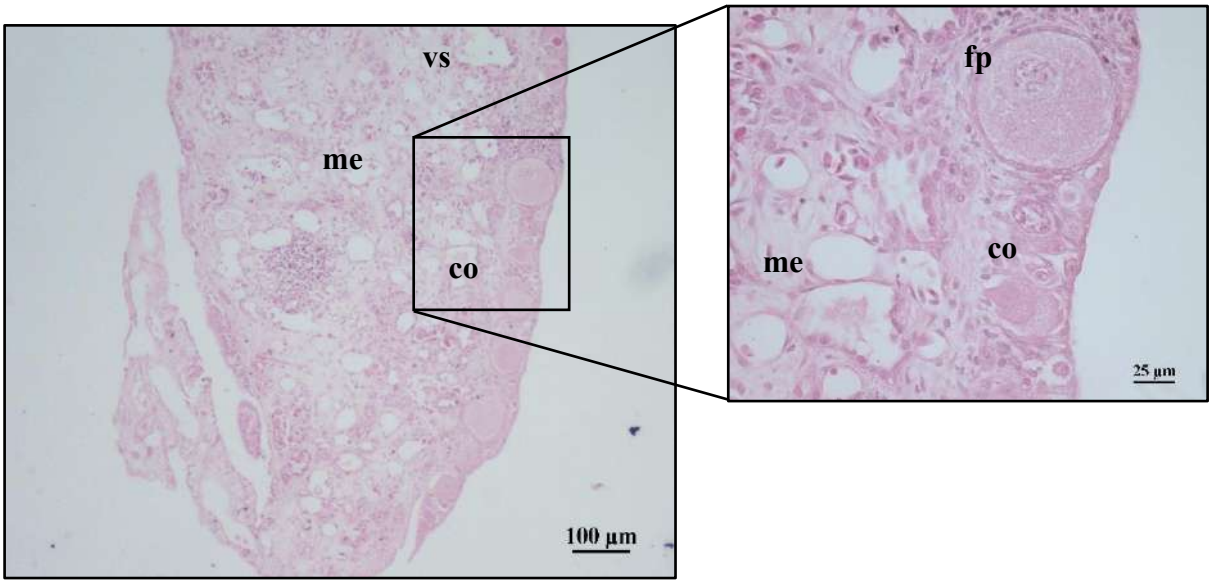


Figura 17: Gônada feminina de animais recém-eclodidos, com região cortical (co) apresentando folículos primordiais (fp), de diferentes tamanhos e a região medular (me) repleta de vasos sanguineos (vs).

Os embriões masculinos, no início da diferenciação gonadal, tiveram sua região cortical bastante reduzida, enquanto na sua região medular as células germinativas começaram a se arranjar para formar os cordões testiculares (figura 18), semelhante ao que foi relatado por Pieau *et al.* (1999). O epitélio dos cordões testiculares foi composto por uma camada de células cubóides.

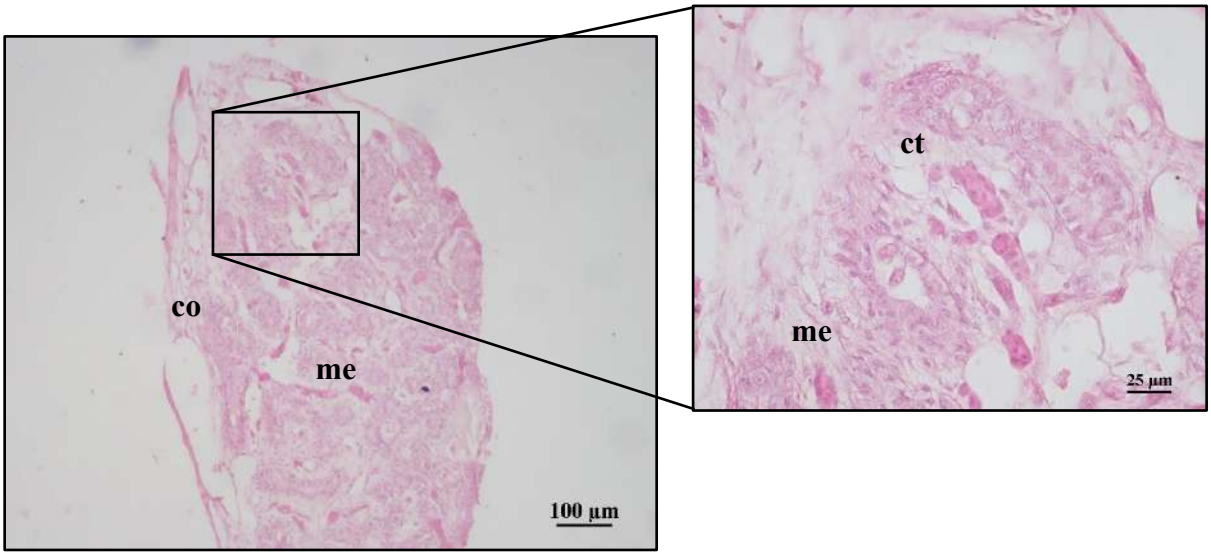


Figura 18: Gônada masculina durante o TSP (estágio 22). Apresentando região cortical (co) reduzida e na medula (me) pode ser visto células germinativas se organizando em cordões testiculares (ct).

Nos recém-eclodidos os testículos se apresentaram revestida por uma túnica albugínea constituída por um epitélio pavimentoso simples. Compondo a região medular foram visualizadas várias estruturas tubulares representando os túbulos seminíferos estes repletos por células densamente coradas (espermatogônias) e células maiores com núcleo menos corado (células de Sertoli) (figura 19). Revestindo cada túbulo seminífero observamos as células mióides, e entre os túbulos seminíferos nós observamos as células intersticiais e tecido conjuntivo vascularizado, semelhante ao que foi relatado por Malvasio *et al.* (1999) para recém-eclodidos de *Trachemys dorbignyi*, por Malvasio *et al.* (2012) para *P. unifilis* e para *P. expansa*, por Bonach1 *et al.* (2011) também para *P. expansa* e também por Sánchez-Ospina (2014) para *P. lewyana.*

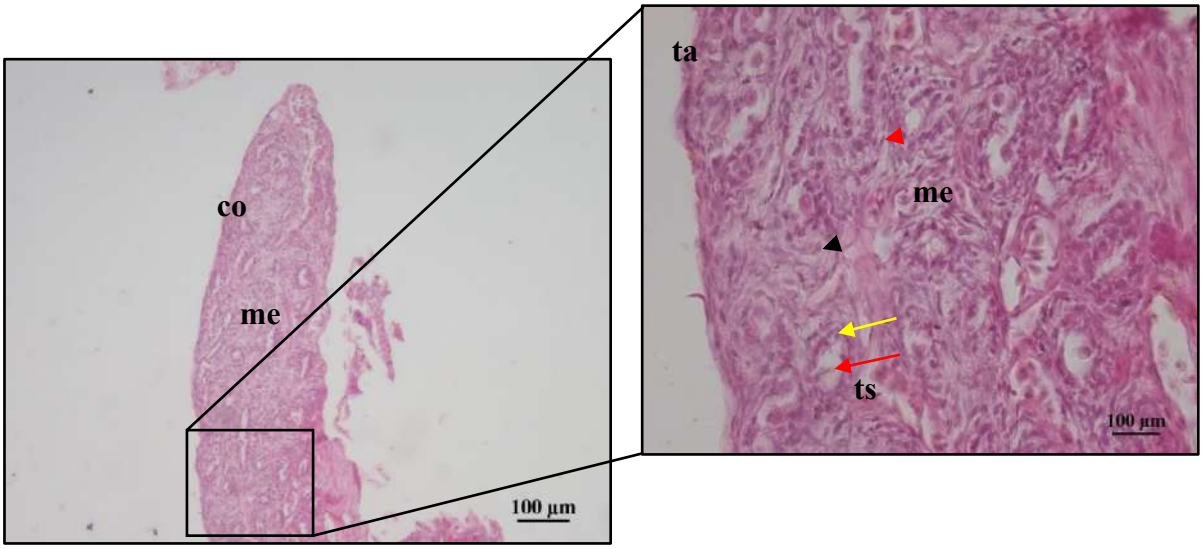


Figura 19: Gônada masculina de animais recém-eclodidos, com túnica albugínea (ta) na região cortical e internamente na região medular (me) largos túbulos seminíferos (ts) composto pelas espermatogônias (seta amarela) e pelas células de Sertoli (seta vermelha), revestindo os túbulos seminífero foram vistas as células mióides (cabeça de seta vermelha), entre os túbulos seminíferos foram visualizadas as células intersticiais (cabeça de seta preta).

Nossas análises apontaram para um período termossensível das gônadas de *K. scorpioides* que se estende dos estágios 16 até o estágio 21, o que também foi notado para *Emys orbiculares* por Pieau *et al*. (1999) e por Pieau & Dorizzi (2004). E o fato das nossas amostras serem advindas de ambiente natural só ressalta a importância desses resultados na compreensão dessas características reprodutivas.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo obteve sucesso ao analisar o desenvolvimento embrionário de *Kinosternon scorpioides* o qual se apresentou semelhante ao das espécies já relatadas na literatura. Ademais, se mostrou pioneiro nas observações do desenvolvimento das gônadas desta espécie, onde foram detalhados os tecidos gonadais desde o momento onde este se encontrava indiferenciado, até a caracterização de gônadas femininas e masculinas de filhotes recém-eclodidos. Estes resultados poderão ser aplicados em pesquisas futuras acerca do manejo reprodutivo, facilitando assim a determinação da temperatura pivotal e razão sexual destes embriões, e dos fatores que influenciam as mesmas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, R. A.; PRANGE, H. D. Oxygen diffusion across a sea turtle (*Chelonia mydas*) egg shell. **Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol., 43A:** 905-909. 1972.

ACKERMAN, R. A. The nest environment and the embryonic development of sea Turtles. In: **Lutz, P.L.; Musick, J.A. (Eds.).** The Biology of Sea Turtles. Boca Raton, CRC Marine Science Series. 1997. p. 83-108.

ACUÑA-MESÉN, R. A. Variación morfométrica y características ecológicas del habitats de la tortuga candado *Kinosternon scorpioides* em Costa Rica (Chelinia: Kinosternidae) **Revista Brasileira de Biologia 54 (3)**: 537-754. 1994.

ALHO, C. J. R, Conservation and manegement strategies for commonly exploitedamazonian turtles. **Biological Conservations, 32**: 291-298. 1985.

ARAÚJO, J. C. **Parâmetros produtivos e qualidade de ovos de muçuãs (***Kinosternon scorpioides***) submetidos a manejo alimentar diferenciado.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Lavras. 2009.

BARRETO, L.; LIMA, L.C.; BARBOSA, S. Observations on the ecology of *Trachemys adiutrix* and *Kinosternon scorpioides* on Curupu Island, Brazil. **Herpetological Review 40:** 283-286. 2009.

BEGGS, K.; YOUNG, J.; GEORGES, A.; WEST, P. Ageing the eggs and embryos of the pig-nosed turtle, *Carettochelys insculpta* (Chelonia: Carettochelydidae), from northern Australia. **Can J Zool 78:** 373–392. 2000.

BERRY, J. F. & IVERSON, J. B. *Kinosternon scorpioides*. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles 9725:** 1-11. 2001.

BONACHL, K.; MALVASIO, A.; MATUSHIMA, E. R.; VERDADE, E.M. Temperature-sex determination in *Podocnemis expansa* (Testudines, Podocnemididae). **Iheringia 101**(3): 151-155. 2011.

BOOTH, D. T. Effects of incubation temperature on the energetic of embryonic development and hatchling morphology in the Brisbane river turtle *Emydura signata*. ***J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.*, 168 (5):** 399-404. 1998.

BRITO, W. L. S.; FERREIRA, M. Fauna amazônica como alimento: uma análise regional. **Revista Brasil Florestal, 35**, jul/set. 1978.

BULL, J. J.; LEGLER, J. M.; VOGT, R. C. Non-temperature dependent sex determination in two suborders of turtles. **Copeia 3**:784-786. 1985.

CAGLE, K. D.; PACKARD, G. C.; MILLER, K.; PACKARD, M. J. Effects of the Microclimate in Natural Nests on Development of Embryonic Painted Turtles, *Chrysemys picta*. **Functional Ecology 7 (6):** 653-660. 1993.

CARVALHO, R. C.; SOUSA, A. L.; SILVA, A. L. A.; PEREIRA, J. G. Anatomia dos órgãos genitais do muçuã *Kinosternon scorpioides* macho (Chelonia, Kinosternidae). **Pesquisa Veterinária Brasileira, Seropédica 30 (4):** 289-294. 2010.

CASTRO, A.B. **Biologia reprodutiva e crescimento do muçuã *Kinosternon scorpioides* (LINNAEUS, 1766) em cativeiro.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal do Pará, Brasil. 2006 100p.

CHAVES, E. P.; OLIVEIRA, S. C. R.; ARAÚJO, L. P. F.; OLIVEIRA, A. S.; MIGLINO, M. A.; ABREU-SILVA, A. L.; MELO, F. A.; SOUSA, A. L. Morphological aspects of the ovaries of turtle *Kinosternon scorpioides* raised in captivity. **Pesquisa Veterinária Brasileira 32(7):** 667-671. 2012.

CONWAY, W. G. Where we go from here. **International Zoo Yearbook. Malden 20:** 184-189. 1980.

CORDERO, G. A. & JANZEN, F. A. An Enhanced Developmental Staging Table for the Painted Turtle, *Chrysemys picta* (Testudines: Emydidae). **Journal of morphology 275:**442–455. 2014.

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 29 (10):** 841-846. 2009.

ERNEST, C. H. & BARBOUR, R. W. **Turtles of the Word**. Smithsonian Institute Press.Washington, D. C. and Londres: 313. 1989.

FERRY, V. **Turtles & Tortoises: A Firefly Guide.** Firefly Books: 256. 2002.

FERREIRA-JUNIOR, 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, Departamento de Geologia). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais. 2003. 296p.

FERREIRA-JUNIOR, P. D. Efeitos de Fatores Ambientais na Reprodução de Tartarugas. **Acta Amaz. 39, (2**): 319-334, 2009.

FONTENELE-NETO, D. J.; MORAIS, M. R. P. T.; VELHO, A. L. M. C. S; SANTAS, S. E. S. Morfofisilogia da reprodução das aves: desenvolvimento embrionário, anatomia e histologia do Sistema Reprodutor. **Acta Veterinária 6 (3):** 165-176. 2012.

FREIBERG, M. Turtles of South America. **T.F.H.Publications, Inc. Ltda,** 1981.125p.

FRETEY, J. Reproduction of *Kinosternon scorpioides* (Testudinata: Kinosternidae). **Bulletin de la Société Zoologique de France,** Paris, **101 (4):** 732. 1976.

GARRONE, M. E. Revisão taxônomica de *Kinosternon scorpioides* Linnaeus 1766 (Testudines, Kinosternidae). Monografia conclusão de curso de Biologia. Universidade Presbiteriana Mackenzie. São Paulo: 68. 2006.

GETTINGER, R. D.; PAUKSTIS, G. L.; GUTZKE, W. H. N. Influence of hydric environment on oxygen consumption by embryonic turtles *Chelydra serpentina* and *Trionyx spiniferus*. ***Physiol. Zool.* 57:** 468-473. 1984.

GILBERT, S.F. Developmental Biology. **Sinauer Associates, Inc., Sunderland, 7, USA.** 2003.

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., 83:** 1183-1186. 2003.

GREENBAUM, E. & CARR, J. L. Staging criteria for embryos of the spiny softshell turtle, *Apalone spinifera* (Testudines: Trionychidae). **Journal for Morphology 240:** 472-291. 2002.

GREENBAUM, E. A standardized series of embryonic stages for the emydid turtle, *Trachemys scripta*. **Canadian Journal of Zoology 80:** 1350–1370. 2002.

GUTZKE, W. H. N.; PACKARD, G. C. Sensitive periods for the influence of the hydric environment on eggs and hatchlings of painted turtles (*Chrysemys picta*). ***Physiol. Zool.*, 59(3):** 337-343. 1986.

GUZMÁN, N. A & BONILLA, H. O. Serie Normal del Desarrollo Morfológico Embrionário de *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (TESTUDINATA: Pelomedusidae). **Acta Biológica Colombiana 2 (6):** 129-150. 1990.

HERNÁNDEZ-HENAO, W. J.; RODRÍGUEZ-PULIDO, J. A.; ASTWOOD-ROMERO, J. A. Anatomía macroscópica y microscópica del sistema urogenital de la tortuga sabanera *Podocnemis vogli* Muller, 1935. (Testudines Pelomedusidae). **ORINOQUIA - Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia 17 (1).** 2013.

ICMBIO. Ficha consolidada por espécie de quelônio continental avaliação do estafo de conservação. Disponível em: http://www.icmbio.gov.br/ran/download.php?id_download=133. Acessado em: 17 de julho de 2016.

LESHEM, A. & DMI'EL, R. Water loss from *Trionyx triunguis* eggs incubating in natural nests. **Herpetological Journal 1:** 115–117. 1986.

LINNAEUS, C. Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species cum characteribus, differentis, synonymis, locis. **Stockholm**: L. Salvius 12° ed. 1. 1766.

MACHADO JÚNIOR, A. A. N.; SOUSA, A. L.; SANTOS, F. C. F.; PEREIRA J. G. Morfologia dos órgãos genitais femininos do muçuã (*Kinosternon scorpioides*). **Archs Vet. Sci. 11(2):** 25-29. 2006.

MAHMOUD, I. Y. Courtship behavior and sexual maturity in four species of Kinosternidae turtles. **Copeia 1967 (2):** 314-319. 1967.

MALVASIO, A.; GOMES, N.; FARIAS, C. E. Identificação sexual através do estudo anatômico do sistema urogenital em recém-eclodidos e jovens de *Trachemys dorbignyi* (Duméril & Bibron) (Reptilia, Testudines, Emydidae). **Revista Brasileira de Zoologia 16 (1):** 99-102. 1999.

MALVASIO, A.; NASCIMENTO-ROCHA, J. M.; SANTOS, H. D.; ATAÍDES, A. G.; PORTELINNHA, T. C. G. Morfometria e histologia das gônadas de machos e fêmeas de recém eclodidos de *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences 34 (1):** 105-112. 2012.

MARQUES, J. R. F.; COSTA, M.R.; CAMARGO Jr., R.N.C.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; MARQUES, L.C.; AGUIAR de, J.F. 2008. Conservação e Melhoramento dos Recursos Genéticos Animais da Amazônia Brasileira [CD-ROM]. In: **XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, X CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA**, 18, 2008. Anais ZOOTEC. João Pessoa: Associação Brasileira de Zootecnistas. 2008.

MCGEADY, T. A., QUINN, P. J., FITZPATRICK, E. S. & RYAN, M. T. **Veterinary Embryology.** Blackwell Publishing, Oxford: 392. 2006.

MERCHANT-LARIOS, H.; FIERRO, I. V.; URRUIZA, B. C. Gonadal morphogenesis under controlled temperature in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*. **Herpetol. Monogr. 3:** 43–61. 1989.

MILLER, J. D. Embryology of marine turtles. In: Gans C, Billett F, Maderson PFA, editors. **Biology of the Reptilia 14**. NewYork: 269–328. 1985.

MILLER, K.; PACKARD, G. C.; PACKARD, M. J. Hydric conditions during incubation influence locomotor performance of hatchling of snapping turtles. **J. Exp. Bio., 127:** 401-412. 1987.

MILLER, D.; SUMMERS, J.; SILBER, S. Environmental versus genetic sex determination: a possible factor in dinosaur extinction. **Fertil and Steril, 81:** 954-964. 2004.

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

MOLINA, F. B.; ROCHA, M. B. Algumas observações sobre a biologia e manejo do muçuã. **Aquacultura 2**: 25-26. 1996.

MOORE, K. L & PERSAUD, T. V. N. **Embriologia Básica**. Elsevier Brasil. 2008.

MROSOVSKY, N.; PROVANCHA, J. Sex ratio of loggerhead sea turtles hatching on a Florida beach. **Can. J. Zool., 67:** 2533-2539. 1989.

NARO-MACIEL, E.; MROSOVSKY, N.; MARCOVALDI, M. A. Thermal profiles of sea turtle hatcheries and nesting areas at Praia do Forte, Brazil. **Chel. Conserv. Biol., 3(3):** 407-413. 1999.L

OKADA, Y.; YABE, T.; ODA, S. Embryonic Development of the Japanese Pond Turtle, *Mauremys japonica* (Testudines: Geoemydidae). **Current Herpetology 30(2):** 89-102. 2011.

PACKARD, G. C.; TRAEY, G. R.; ROTH, J. The physiologicai ecology of reptilian eggs and embryos, and the evolution of viviparity within the class Reptilia. **Biol.Rev. 52:** 71-105. 1977.

PALHA, M. D. C.; RIBEIRO, A. S. S.; RIBEIRRO, D. B.; TOURINHO, M. M. Faunistic inventori in várzea communities of the western Amazonia. In: **VII Congresso Internacional sobre Manejo de la Fauna Silvestre en la Amazonia.** Florida: TCD/University of Florida, p. 18. 1999.

PIEAU C. Temperature and sex differentiation in embryos of two chelonians, *Emys orbicularis* L. and *Testudo graeca* L. In: **Intersexuality in the Animal Kingdom**, Reinboth R. Springer, Berlin. 1975. p: 333–339.

PIEAU, C. Temperature variation and sex determination in reptiles. **BioEssays, 18(1):**19-26. 1996.

PIEAU, C. DORIZZI, M. & RICHARD-MERCIER, N. Temperature dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles. **Celular and Molecular Life Sciences 55:** 887–900. 1999.

PIEAU, C. & DORIZZI, M. Oestrogens and temperature-dependent sex determinatior in reptiles: all is in the gonads. **Journal od Endocrinology 181:** 367-377. 2004.

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

POUGH, F. H.; HEISER, J.B.; McFARLAND, W.N. 1993. **A vida dos vertebrados**. 4° ed. São Paulo: Atheneu. 2008. Cap.12, p. 303-325.

PRITCHARD, P.C.H. Turtles of British Guiana. **Mus. Zool. 39:** 19-32. 1964.

PRITCHARD, P. C. H. & TREBBAU, P. **The turtles of Venezuela.** Ithaca: Society the Study of Amphibians e Reptiles. 403p. 1984.

RIMBLOT, F.; FRETEY, J.; MROSOVSKY, N.; LESCURE J. E PIEAU C. Sexual differentiation as a function of the incubation temperature of eggs in the sea-turtle *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761). **Amphibia-Reptilia 6:** 83–92. 1985.

ROCHA, M. B. & MOLINA, F. B. Algumas observações sobre a biologia e manejo do muçuã. **Aquacultura 2:** 25-26. 1987.

ROCHA, M.B. DA & MOLINA, F.B. Reproductive Biology of *Kinosternon scorpioides* (Testudines: Kinosternidae) in captivity. **Tortoises and Turtles, 5:** 8. 1990.

RODRIGUES, J. F. M.; BORGES-NOJOSA, D. M. Do male *Kinosternon scorpioides* (LINNAEUS, 1766) select and monopolize females? **Herpetozoa 26 (3/4):** 186-188. 2014.

SÁNCHEZ-OSPINA, A. C.; RODRIGUEZ, B.; CEBALLOS, C. P. Histological description of the reproductive system of male and famele hatchlings of the Magdalena River turtle (*Podocnemis lewyana*). **Acta boil. Colomb. 19 (3):** 427-435. 2014.

SAVAGE, J.M. & VILLA, R.J. Introduction to the herpetofauna to Costa Rica. Indroduccion la herpetofauna de Costa Rica. **Society for Study of Amphibians and Reptiles Contribuitions to Herpetology (3) i-viii:** 1-207. 1986.

SILVA, A. S. L. **Aspectos reprodutivos do muçuã (*Kinosternon scorpioides*) em cativeiro.** Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e veterinárias. Jaboticabal, São Paulo. 2011.

SILVA, J. I. **Descrição anatômica e radiográfica dos órgãos celomáticos do jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*).** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Vila Velha, Espírito Santos, Brasil. 2012.

SORIANO, E. G.; DIRZO, R.; VOGT, R. C. **Historia natural de los tuxtlas 1**. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biologia: Instituto de ecologia: 648. 1997.

TOKITA, M. & KURANTANI, S. Normal embryonic stages of the Chinese softshelled turtle *Pelodiscus sinensis* (Trionychidae). **Zool Sci 18:**705–715. 2001.

VANZOLINI, P. E.; RAMOS-COSTA, A. M. M.; BIT, L. J. **Répteis das caatingas**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brasil, 1980. 140p.

VOGT, R. C. Temperature controll sex determination as a tool for turtles conservation. **Chelonian Conserv Biolog, 1:** 159-162. 1994.

VOGT, R. C.; MOREIRA, G. M.; DUARTE, A. C. O. C. Biodiversidade de repteis do bioma floresta Amazônica e ações prioritárias para sua conservação. In: CAPOBIANCO, J. P. R.; VERISSIMO, A. MOREIRA, A.; SAWYNER, 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.

WIBBELS, T. Critical approaches to sex determination in sea turtles. In: **Lutz, P.L.; Musick, J.A. & Wyneken, J.** Biology of Sea Turtles. Boca Raton, CRC Press 103-134. 2003.

YNTEMA, C. L. A series of stages in the embryonic development of *Chelydra serpentina*. **Journal Morphology 125:** 219-251. 1968.

YNTEMA, C. L. & MROSOVSKY, N. Critical periods and pivotal temperatures for sexual differentiation in loggerhead sea turtles. **Canadian Journal of Zoology, 60(5):**1012-1016. 1982.