

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
FUNDAÇÃO PARQUE ZOOLOGICO DE SÃO PAULO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DA FAUNA

ROBERTA MARIÁH TEODÓSIO SILVA

**Comunicação química em quelônios dulcícolas:
reconhecimento específico e possíveis impactos de
uma espécie invasora**

SÃO CARLOS - SP
2020

ROBERTA MARIÁH TEODÓSIO SILVA

Comunicação química em quelônios dulcícolas: reconhecimento específico e possíveis impactos de uma espécie invasora

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Conservação da Fauna, da Universidade Federal de São Carlos em Parceria com a Fundação Parque Zoológico de São Paulo, como parte das exigências para obtenção ao título de Mestre Profissional em Conservação da Fauna.

Orientador: Dr. Vinícius de Avelar São Pedro

São Carlos – SP
2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Roberta Maria Teodosio Silva, realizada em 30/06/2020.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Vinícius de Avelar São Pedro (UFSCar)

Prof. Dr. Flavio de Barros Molina (UNISA)

Prof. Dr. Daniel Marques de Almeida Pessoa (UFRN)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.
O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna da Universidade Federal de São Carlos por proporcionar um curso de formação profissional tão importante para a área e aos excelentes docentes que se dedicam ao sucesso do programa.

À Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP) por ter permitido a realização desse projeto e pelo suporte estrutural e financeiro.

À Cybele S. Lisboa, chefe do setor de répteis da FPZSP, por ter abraçado esse projeto, por me permitir interferir na rotina do setor durante meses, por todo apoio técnico e de pessoal. Obrigada também ser uma inspiração como pessoa e como herpetóloga e por sempre me tratar com tanto carinho.

Ao pessoal do setor de répteis da FPZSP (principalmente Lucão, Edson, Acássio, Júnior, Santana e Tita) por toda ajuda nos bastidores dos meus experimentos, pelo conhecimento e pelos momentos compartilhados.

Ao meu orientador, Vinícius, por ter aceitado me orientar e me permitir trabalhar com esse grupo incrível de animais e realizar esse meu sonho de bióloga. Também por toda paciência, dedicação e ensinamentos durante todo esse processo de formação profissional e pessoal. Ter você como orientador fez toda a diferença!

Ao Dr. Iuri Ferreira, por toda ajuda com as análises estatísticas e por todo tempo doado para as reuniões e conversas.

À minha família e amigos por toda a torcida, amor incondicional e por sempre acreditar e apoiar os meus sonhos e objetivos e assim permitir que eles se realizem.

Ao meu namorado e melhor amigo, Paulo, por ser meu ponto de apoio, por ouvir meus desabafo diários e aguentar meus surtos esporádicos e por sempre me trazer de volta à calma e ao equilíbrio.

Aos meus colegas do PPGCFau (Aimée, Beatriz C., Beto, Emily, João Mendes, João Barbosa, Mariana, Rafael, Renato e Sóstenes) pelos perrengues compartilhados, pelas conversas, pelos momentos divididos, pelas risadas, pela força nos momentos difíceis e pelos ensinamentos passados. Vocês foram presentes que essa fase trouxe para minha vida.

A minha colega de apartamento e de turma, Bia Robbi, por fazer dessa fase morando em São Paulo um período inesquecível e tornar meus dias muito mais leves e doces (literalmente)!

Sem o apoio e ajuda de cada um de vocês esse projeto não seria possível!

RESUMO

Apesar da comunicação química ser amplamente usada por quelônios para diversos comportamentos sociais e sexuais, poucos estudos abordam quelônios dulcícolas. A comunicação química entre diferentes espécies de quelônios também é uma área pouco explorada. A introdução de espécies exóticas é uma grande ameaça para os quelônios, porém o impacto de pistas químicas de espécies invasoras sobre espécies nativas brasileiras ainda é desconhecido. Hipotetizamos que as espécies nativas estudadas eram capazes de reconhecer as pistas químicas da sua própria espécie e da espécie exótica invasora e de que a presença da pista química exótica afetaria o uso do espaço pelas espécies nativas. Para tanto, foi testada experimentalmente a influência de pistas químicas da espécie exótica invasora (*Trachemys scripta elegans*) sobre a escolha de ambientes aquáticos e de sítios de termorregulação por espécies de cágados nativos do Brasil. Um primeiro experimento investigou a influência das pistas químicas da espécie invasora sobre a escolha de ambientes aquáticos pelo tigre-d'água (*Trachemys dorbigni*). Os animais foram submetidos individualmente a testes de escolha binária em que podiam escolher entre duas amostras de água com tratamentos variando entre água limpa, água com pista química de conspecíficos e água com pista química da espécie exótica. No segundo experimento, investigou-se o efeito de pistas químicas na escolha de sítios de termorregulação por tartarugas-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) e tracajás (*Podocnemis unifilis*). Em um recinto contendo os animais nativos foram disponibilizadas estruturas de madeira com três tratamentos (com pista química das espécies testadas, com pista química da espécie exótica ou sem pistas químicas) e observado o uso das estruturas pelos indivíduos testados. Os tigres-d'água testados demonstraram diferenciar as pistas químicas de sua própria espécie das pistas químicas da espécie exótica, uma vez que quando contrastadas as duas amostras de água houve preferência significativa das fêmeas de *T. dorbigni* pelas amostras de água com pistas químicas de conspecíficos. Entretanto, quando as amostras de água com pistas químicas foram contrastadas com água limpa não houve preferência dos animais por nenhuma amostra. As espécies *P. expansa* e *P. unifilis* não apresentaram diferenças na frequência do uso dos sítios de termorregulação com relação aos tratamentos oferecidos. Apesar de não ter sido possível estabelecer uma relação clara entre a presença da pista química da espécie exótica no ambiente e o uso do espaço pelas espécies nativas testadas, este estudo constitui um passo importante no estudo da ecologia química de cágados e suas implicações para a conservação de espécies nativas do Brasil.

Palavras-chave: Ecologia química. Tartarugas de água doce. Espécie Exótica. Uso do espaço.

ABSTRACT

Although chemical communication is widely used by turtles for various social and sexual behaviors, few studies address freshwater turtles. Chemical communication between different species of turtles is also an area to be explored. The introduction of exotic species is a major threat to turtles; however, the impact of chemical cues from invasive species on native Brazilian species is still unknown. We hypothesized that the focal native species were able to recognize the chemical cues of their own species and of the invasive species and that the presence of the exotic chemical cue would affect the use of space by the native species. For this purpose, the influence of chemical cues from the invasive exotic species (*Trachemys scripta elegans*) on the choice of aquatic environments and thermoregulation sites by species of native freshwater turtles was tested experimentally. A first experiment investigated the influence of the chemical cues of the invasive species on the choice of aquatic environments by the black-bellied slider (*Trachemys dorbigni*). The animals were individually subjected to binary choice tests in which they could choose between two water samples with treatments varying between clean water, water with chemical cues of conspecifics and water with chemical cues of the invasive species. In the second experiment, it was investigated the effect of chemical cues on the choice of thermoregulation sites by the giant South American river turtle (*Podocnemis expansa*) and yellow-spotted Amazon River turtle (*Podocnemis unifilis*). In an open enclosure containing the native animals, wooden structures were available with three treatments (with chemical cues of the subject species, with chemical cues of the invasive species or with no chemical cues) and the use of the structures by the subject animals was observed. The tested black-bellied sliders demonstrated to differentiate the chemical cues of their own species from the chemical cues of the invasive species, since when these two water samples were contrasted there was a significant preference of *T. dorbigni* females for water samples with chemical cues of conspecifics. However, when the water samples with chemical cues were contrasted with clean water, the animals did not prefer any sample. The species *P. expansa* and *P. unifilis* showed no differences in the frequency of use of the thermoregulation sites in relation to the treatments offered. Although it was not possible to establish a clear relationship between the presence of the chemical clue of the invasive species in the environment and the use of space by the tested native species, this study constitutes an important step in the study of the chemical ecology of freshwater turtles and its implications for conservation of native species in Brazil.

Keywords: Chemical ecology. Freshwater turtles. Exotic species. Use of space.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Caixa d'água adaptada onde foram realizados os testes do experimento de escolhas de ambiente aquático.....	12
Figura 2 - Estruturas de madeira utilizadas no experimento 2 como sítios de termorregulação.....	18
Figura 3 - Proporções observadas na escolha da pista química conspecífica (nativa) em função do gênero.....	23
Figura 4 - Proporções observadas na escolha do controle (água limpa) em função do gênero.....	24
Figura 5 - Proporções observadas na escolha do controle (água limpa) em função do gênero.....	25
Figura 6 - Distribuição das observações individuais de uso dos sítios de regulação térmica em função dos tratamentos e ao longo do tempo (em dias).....	26
Figura 7 - Distribuição de uso dos sítios de termorregulação em função do sexo para as espécies <i>P. expansa</i> e <i>P. unifilis</i>	26
Figura 8 - Distribuição de uso dos sítios de termorregulação em função dos tratamentos, espécie e do sexo de origem da pista química exótica.....	27
Tabela 1 - Significância dos fatores período (Dia), localização (Posição dos sítios de termorregulação) e pistas químicas (Tratamentos) sobre o uso de sítios de regulação térmica nas espécies <i>P. expansa</i> e <i>P. unifilis</i>	28
Anexo A - Correlações entre as frequências relativas para as escolhas individuais por pistas químicas em três condições experimentais.....	40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral	10
2.2 Objetivos específicos.....	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS	10
3.1 Experimento 1 – Escolha de ambientes aquáticos.....	10
3.1.1. Espécies Investigadas.....	14
3.1.2 Análises Estatísticas	16
3.2 Experimento 2 – Escolha de sítios de termorregulação	17
3.2.1 Espécies Investigadas	19
3.2.2 Análises Estatísticas	20
4 RESULTADOS	20
4.1 Experimento 1	20
4.1.1 Caracterização dos animais testados.....	20
4.1.2 Condição experimental A (pista química de conspecíficos vs. pista química exótica)	21
4.1.2.1 Primeira escolha	21
4.1.2.2 Escolhas pós-ambientação.....	21
4.1.3 Condição experimental B (controle vs. pista química exótica).....	23
4.1.3.1 Primeira escolha	23
4.1.3.2 Escolhas pós-ambientação.....	23
4.1.4 Condição experimental C (controle vs. pista química de conspecíficos).....	24
4.1.4.1 Primeira escolha	24
4.1.4.2 Escolhas pós- ambientação.....	24
4.1.5 Análise <i>a posteriori</i>	25
4.2 Experimento 2	26
5. DISCUSSÃO	29
5.1 Experimento 1	29
5.2 Experimento 2	32
6. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS.....	36
ANEXOS	40

1. INTRODUÇÃO

A informação química, desde intracelular até entre diferentes espécies, é algo essencial à vida (DICKE; SABELIS, 1988). Por ser provavelmente uma das formas mais básicas de comunicação, a comunicação química é encontrada em inúmeros táxons dentro do reino animal (WYATT, 2003). A comunicação química é comum tanto entre indivíduos da mesma espécie (intraespecífica), como através do uso de feromônios, quanto entre indivíduos de espécies diferentes (interespecífica), como por meio do uso de aleloquímicos (DICKE; SABELIS, 1988). Os organismos usam pistas químicas para várias funções, tais quais, localizar comida, encontrar parceiros sexuais, reconhecer indivíduos aparentados, detectar inimigos e marcar território (DICKE; TAKKEN, 2006).

Em relação aos répteis, diversos estudos com lagartos, serpentes, quelônios e crocodilianos indicam a importância dos sinais químicos na coordenação de comportamentos sociais (revisado por MADISON, 1977; MASON; PARKER, 2010). No caso de quelônios dulcícolas, especificamente, por habitarem ambientes com baixa visibilidade devido à presença de densa vegetação e água turbida, a comunicação química é favorecida em detrimento do uso de pistas visuais (MUÑOZ, 2004). Além disso, características morfofisiológicas também indicam a importância da comunicação química nesses animais. Dentre elas, destacam-se a presença de glândulas especializadas na pele dos quelônios dulcícolas que secretam componentes químicos (NEIL, 1948; AUFFENBERG, 1965; ROSE, 1970; EHRENFELD; EHRENFELD, 1973; MADISON, 1977), a anatomia olfativa complexa com sistema olfativo e vomeronasal bem desenvolvidos (HALPERN, 1992; SCHWENK, 2008) e o comportamento de bombeamento bucal aquático com função parcialmente olfativa (ROOT, 1949; SCHWENK, 2008).

Nos quelônios em geral informações químicas são importantes para comportamentos como evitação de predadores (JACKSON, 1990; KATS; DILL, 1998), seleção de habitat e reconhecimento do local de origem (QUINN; GRAVES, 1998; SMAR; CHAMBERS, 2005; ANDRES; CHAMBERS, 2006), reconhecimento de indivíduos da mesma espécie e busca por parceiros sexuais (AUFFENBERG, 1965; MUÑOZ, 2004; GALEOTTI et al., 2007; LEWIS et al., 2007), seleção de parceiros sexuais através de caracteres indicadores de fitness (POSCHADEL et al., 2006; IBÁÑEZ et al., 2012) e reconhecimento de parentes próximos (WHITEAR et al.,

2016). Entretanto, somente uma parte destes estudos aborda quelônios dulcícolas e poucos têm buscado investigar a comunicação química sob o ponto de vista da conservação.

As populações de quelônios têm sofrido declínio devido a diversos fatores globais como perda e fragmentação de habitat (GIBBONS et al., 2000), poluição ambiental, mudanças climáticas (BUJES, 2010) e superexploração para comercialização no mercado *pet* e para consumo (ERNST; BARBOUR, 1989; BUJES, 2010). Além disso, outra importante ameaça a este grupo é a introdução de espécies invasoras (BUJES, 2010), que já é considerada a segunda maior causa de perda de biodiversidade no mundo (GIBBONS et al.; 2000). As espécies invasoras podem modificar o funcionamento e a organização das comunidades nativas através de diversos processos ecológicos como a predação, a transferência de parasitas e a exclusão por competição (CADI; JOLY, 2004).

Dentre os quelônios, a espécie *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1838), também conhecida por tartaruga-de-orelha-vermelha, foi incluída na lista das 100 piores espécies invasoras do mundo (“*World’s Worst invaders*”) (LOWE et al., 2000). No Brasil, esta espécie exótica também já é considerada invasora (MARTINS et al., 2014), havendo relato de ser encontrada em estado feral na natureza (FERRONATO et al., 2009). A alta tolerância ecológica e diversidade alimentar (ROCHA, 2005), bem como as características biológicas de maturação sexual precoce, alta taxa de fecundidade e tamanho corporal relativamente grande em adultos (ARVY; SERVAN, 1998) tornam *T. s. elegans* uma ameaça às espécies nativas de quelônios, tanto pela competição interespecífica quanto pela possibilidade de perda genética devido à hibridização (PRIMACK; RODRIGUES, 2001).

Estudos indicam que, nos ambientes que invade, *T. s. elegans* compete com espécies nativas (CADI; JOLY 2003, 2004; POLO-CAVIA et al., 2009), podendo até ser considerada uma das razões de declínio populacional e da piora do *status* de conservação de uma espécie europeia (DA SILVA; BLASCO, 1995). Ainda, experimentos têm mostrado que a presença desta espécie invasora pode causar o deslocamento de populações nativas (POLO-CAVIA et al., 2009), além de afetar negativamente a termorregulação, o ganho de massa e a sobrevivência da espécie competidora nativa (CADI; JOLY 2003, 2004). No Brasil, embora haja registro de comportamento agressivo e competição por locais de termorregulação entre *T. s. elegans* e *T. dorbigni* (ROCHA, 2005), ainda há necessidade de mais estudos para

entender como esta espécie exótica pode afetar as espécies nativas.

Desse modo, o presente estudo visa avaliar os possíveis impactos das pistas químicas de uma espécie exótica de cágado no comportamento de espécies nativas brasileiras. Para tanto, foram realizados experimentos para testar as hipóteses: 1) as espécies nativas de cágados estudadas são capazes de diferenciar pistas químicas da sua própria espécie das de uma espécie exótica e 2) a presença de pistas químicas da espécie exótica no ambiente afeta a maneira com que as espécies nativas estudadas fazem uso do espaço.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de pistas químicas de um quelônio exótico no comportamento de espécies nativas.

2.2 Objetivos específicos

- 1) Testar a influência de pistas químicas de uma espécie exótica (*T. s. elegans*) na escolha de ambientes aquáticos por *T. dorbigni*.
- 2) Testar a influência de pistas químicas de uma espécie exótica (*T. s. elegans*) no uso de sítios de termorregulação pelas espécies nativas, *P. expansa* e *P. unifilis*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi composto por dois experimentos: o experimento 1 envolvendo as espécies *Trachemys dorbigni* e *Trachemys scripta elegans* que investiga o uso de ambientes aquáticos e o experimento 2 envolvendo as espécies *Trachemys scripta elegans*, *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* que investiga o uso de sítios de termorregulação. Ambos os experimentos foram realizados na Fundação Parque Zoológico de São Paulo utilizando os animais do seu plantel, com as permissões do Ofício nº160/2018/FPZSP e CEUA (Comissão de ética no uso de animais da Universidade Federal de São Carlos) nº 6350011218.

3.1 Experimento 1 – Escolha de ambientes aquáticos

Neste experimento foi avaliada a influência de pistas químicas de

conspécíficos e da espécie invasora *Trachemys scripta elegans* sobre o uso de ambientes aquáticos pelo cágado nativo brasileiro *T. dorbigni*. Foram utilizados 49 espécimes de *T. dorbigni* (31 machos e 18 fêmeas) e 44 espécimes de *T. s. elegans* (24 machos e 20 fêmeas). Os animais das duas espécies utilizadas no estudo compartilhavam os mesmos recintos na área de exposição ao público da FPZSP, sendo separados por sexo como método de evitar a reprodução descontrolada. Foram usadas pistas químicas de ambas as espécies, mas apenas os espécimes da espécie nativa foram utilizados como indivíduos experimentais. Todos os animais testados no experimento (*T. dorbigni*) eram adultos, com comprimento de carapaça ≥ 130 mm para machos e ≥ 150 mm para fêmeas (BAGER, 2003)

O experimento 1 constituiu em uma série de testes de escolhas binárias simultâneas realizados individualmente, dando a cada indivíduo a possibilidade de escolha entre duas opções de amostras de água diferentes, contendo ou não pistas químicas. Os procedimentos e desenho experimental foram adaptados de estudos prévios sobre preferências quimiosensoriais em quelônios dulcícolas (MUÑOZ, 2004; LEWIS et al., 2007; IBÁÑEZ et al., 2012, 2013; WHITEAR et al., 2016). O experimento foi realizado em duas caixas-d'água de 1000 litros modificadas (0,72 m de altura x 1,13 m de largura x 1,61 m de comprimento), de modo a apresentar dois reservatórios de água isolados e de igual tamanho, conectados por uma área seca mais elevada (Figura 1). Cada lado da caixa-d'água continha uma amostra de água diferente, sendo o lado de cada amostra alternado a cada teste. As possíveis amostras de água eram: controle (água limpa obtida da torneira), água com pista química de conspécíficos (machos e fêmeas de *T. dorbigni*) e água com pista química exótica (machos e fêmeas de *T. s. elegans*). Sendo assim, ao longo do experimento cada indivíduo foi exposto a três condições experimentais distintas, tendo como opções os seguintes tratamentos: 1) água com pista química de conspécíficos vs. com pista química exótica; 2) água limpa (controle) vs. água com pista química exótica e 3) água limpa (controle) vs. água com pistas químicas de conspécíficos. Devido a alterações na disponibilidade dos animais, o número de indivíduos testados em cada condição experimental foi diferente, sendo que na condição experimental A, 46 animais fizeram os testes (29M e 17F), na condição experimental B, 42 animais (26M e 16F) e na condição experimental C, 41 animais (27M e 14F).



Figura 1 – Caixa-d'água adaptada onde foram realizados os testes do experimento de escolhas de ambiente aquático. Fonte: Roberta Mariáh, 2019.

As amostras de água presumivelmente contendo pistas químicas foram obtidas de tanques contendo indivíduos machos e fêmeas de cada uma das espécies utilizadas (*T. dorbigni* e *T. s. elegans*). Os animais utilizados nesse processo foram mantidos em recintos de diferentes tamanhos (devido à disponibilidade estrutural da FPZSP) localizados fora da área de exposição ao público. Todos os recintos utilizados tinham disponíveis área seca e área com água. Os grupos de animais foram alocados em recintos separados pela espécie e pelo sexo, havendo portanto quatro recintos para os seguintes grupos: machos de *T. dorbigni*, fêmeas de *T. dorbigni*, machos de *T. s. elegans* e fêmeas de *T. s. elegans*. O número de indivíduos em cada recinto variou entre 3 e 20 animais, dependendo do tamanho do recinto. Estes animais eram alimentados normalmente e os tanques eram lavados duas vezes por semana. Após o mínimo de 24 horas de permanência dos animais em contato com a água dos recintos (LEWIS et al., 2007; WHITEAR et al., 2016), uma parte dessa água era coletada e diluída em água limpa para formar as amostras de água usadas no experimento. Nessa etapa, uniu-se as águas retiradas dos tanques de machos e fêmeas da mesma espécie para compor as amostras de água utilizadas nos experimentos. Foi utilizada como parâmetro de diluição a razão 1:4, presente no artigo

de LEWIS e colaboradores (2007). Além disso, como o tamanho dos grupos das duas espécies usados para gerar pista química não eram iguais foi feito um ajuste no volume retirado de cada grupo de modo que a quantidade de animais geradores de água multiplicada pelo volume de água retirada resultasse em uma concentração equilibrada entre as amostras de água. O mesmo grupo de animais foi usado para gerar pista química em todas as repetições de uma mesma condição experimental. Ao iniciar testes com uma nova condição experimental, se substituía o grupo de animais geradores de pistas químicas, de modo que o animal testado não fizesse teste com água proveniente de um mesmo grupo mais de uma vez. Não foi possível padronizar a intensidade das pistas químicas presentes nas amostras de água, ou evitar que uma espécie ou grupo de animais produzissem sinais químicos mais intensos do que outros, assim como em outros experimentos similares realizados anteriormente (MUÑOZ, 2004; POSCHADEL et al., 2006; LEWIS et al., 2007; IBÁÑEZ et al., 2012, 2013; WHITEAR et al., 2016).

Todos os animais focais (da espécie *T. dorbigni*) fizeram o teste para as três situações experimentais, sendo cada teste em dias diferentes para evitar influência de eventual estresse nas respostas. Os animais focais, previamente selecionados, eram escolhidos aleatoriamente para a ordem de realização dos testes. No início do teste, o animal era colocado na parte seca da caixa d'água, onde era mantido por cinco minutos de forma a ser impedido de entrar nas amostras de água através de uma barreira composta por uma tela. Neste momento o animal podia se aclimatar e tinha a oportunidade de perceber as pistas químicas das amostras através do ar. Em seguida, a barreira era retirada e o animal ficava livre para entrar na amostra de água escolhida. O animal era deixado na primeira amostra escolhida por cinco minutos e depois retirado da água e colocado novamente na área seca. Neste momento, o lado da amostra já experimentada era fechado com a tela, ficando disponível somente o lado ainda não explorado. Após o animal entrar voluntariamente na amostra de água disponível, este era deixado na água por mais cinco minutos. Este processo foi realizado para dar ao animal a oportunidade de "experimentar" as duas amostras de água, no caso do mesmo não conseguir perceber as pistas somente pelo ar, pois levou-se em consideração que para escolher entre as amostras de água antes era preciso conhecer as duas opções disponíveis (MUÑOZ, 2004; WHITEAR et al., 2016). Terminada essa etapa, o animal era colocado no centro da área seca e era permitido que entrasse na amostra do lado que desejasse. Após entrar na água, o animal era

deixado nesta por 30 segundos e então retirado e colocado novamente na posição central da área seca. Esta última etapa era repetida por 10 vezes (LEWIS et al., 2007) e então o teste era encerrado.

Os dados coletados durante este experimento foram: data, horário inicial e final do teste, identificação do animal (número de microchip e chanfra), sexo do animal, comprimento da carapaça e do plastrão do animal, temperatura ambiente, temperatura das duas amostras de água, a primeira amostra de água escolhida, e as 10 amostras de água escolhidas subsequentemente. Como em cada teste o animal ficava em contato direto com a água por cerca de somente 15 minutos totais foi considerado que este tempo não era o suficiente para alterar as pistas químicas dos tratamentos, pois estudos similares deixavam os animais em contato com a água dentre 20h (POSCHADEL et al., 2006) a 24h (WHITEAR et al., 2016) horas para gerar amostras de água com pistas químicas. Desta forma, para evitar o uso excessivo de água (para cada configuração de teste eram utilizados mais de 200l de água), a mesma configuração de teste (mesmas amostras de água) foram utilizadas por até três testes consecutivos com animais diferentes. Entre uma rodada de teste e outra (de um a três testes com as mesmas amostras de água) toda a estrutura utilizada era lavada e escovada com água limpa e deixada secar ao ar livre para evitar contaminação com outros odores.

Visto que a espécie testada é diurna, todos os testes foram realizados durante o dia, e somente em dias com temperatura amenas, nos quais os animais estavam mais ativos. O período de realização dos testes foi entre fevereiro e setembro de 2019. Antes do início da coleta de dados foram realizados testes pilotos com dois animais de cada sexo, onde ambas as amostras de água eram sem pistas químicas para descartar a possibilidade de preferência por um dos lados da caixa-d'água (viés lateral).

3.1.1. Espécies Investigadas

A espécie *Trachemys dorbigni* (Duméril and Bibron, 1835), conhecida popularmente como tigre-d'água (BUJES; VERRASTRO, 2008), ocorre no Uruguai, nordeste da Argentina (VANZOLINI, 1997) e no Brasil, no estado do Rio Grande do Sul (BAGER et al., 2007). Abundante em sua área de distribuição brasileira (BAGER et al., 2007), ela ocupa diversos ambientes, desde locais mais naturais como rios, lagos e áreas alagadas (LEMA; FERREIRA, 1990) até locais mais antropizados como

canais de esgoto e de drenagem de água de plantações de arroz (BUJES; VERRASTRO, 2008). A espécie *T. dorsalis* é considerada não ameaçada globalmente (IUCN, 2018), porém segundo avaliação nacional esta espécie foi classificada como quase ameaçada (NT) (VOGT et al., 2015a). Além disso, esse status pode ser agravado por diversos fatores como a perda de habitat causado pelo avanço da fronteira agrícola, a pressão gerada pela captura de ovos e filhotes para comercialização no mercado pet (BAGER et al., 2007; BUJES, 2010) e o crescente número de casos reportados de atropelamentos destes animais em estradas (BAGER et al., 2007).

O tigre-d'água é considerado um cágado onívoro oportunista, se alimentando de vegetais, frutas e carne, sendo que as preferências entre os itens alimentares podem variar de acordo com o sexo (HAHN, 2005). A maturidade sexual é atingida aproximadamente aos 130 mm de comprimento da carapaça nos machos e entre 150 e 160 mm nas fêmeas (BAGER, 2003). A espécie apresenta dimorfismos sexuais secundários evidentes, sendo que os machos possuem melanismo e a cauda mais comprida do que as fêmeas de mesmo tamanho, e as fêmeas possuem comprimento de carapaça maior do que os machos (BAGER, 2003). O período reprodutivo, que pode variar de acordo com a localidade e o ano, compreende entre final de setembro e meados de fevereiro (BUJES, 2010).

A espécie *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1838), também conhecida por tartaruga-de-orelha-vermelha, é nativa da América do Norte, estando originalmente distribuída do leste dos Estados Unidos para o nordeste do México (ERNST; BARBOUR, 1989). A espécie que é cultivada desde 1970 nos EUA para o comércio de animais de estimação (CADI et al., 2004) é considerada uma das 100 piores espécies invasoras do mundo (LOWE et al., 2000). Isto se deve, principalmente, à soltura clandestina em lagos e rios destes animais que, ao se tornarem adultos, deixam de ser considerados atraentes como animais de estimação (CADI; JOLY, 2004).

A tartaruga-de-orelha-vermelha é considerada onívora, sendo que em cativeiro apresenta preferência por proteína animal (ROSSI et al., 2006). A maturidade sexual é atingida nos machos quando o plastrão atinge cerca de 90 a 100 mm e nas fêmeas com cerca de 174 e 193 mm (ROSSI et al., 2006). O dimorfismo sexual está presente, de modo que machos possuem as garras frontais mais compridas, cauda mais larga na base, com a posição da cloaca ultrapassando a borda da carapaça e fêmeas

possuem a base da cauda mais estreita, com ponta mais fina em formato de seta, e a posição da cloaca antes do limite da borda da carapaça. Além disso, os machos possuem tamanho corporal menor do que as fêmeas (GRADELA et al., 2017). O período reprodutivo da espécie ocorre entre os meses de abril a julho (PEREZ-SANTIGOSA et al., 2008).

3.1.2 Análises Estatísticas

Primeiramente, foi caracterizado o grupo de animais testados, obtendo valores médios de comprimento de carapaça e plastrão para machos e fêmeas.

A preferência na primeira escolha (pré-ambientação) foi analisada a partir do teste χ^2 para igualdade de proporções. Para avaliar a influência das variáveis “gênero” e “comprimento de carapaça” sobre as escolhas, utilizou-se o modelo logístico para respostas binárias (MCCULLAGH; NELDER, 1989). A qualidade do ajuste foi checada a partir de gráficos dos resíduos de Pearson e envelopes simulados com 95% de confiança a partir da função estatística *half-normal plot* (hnp) do programa estatístico R (R CORE TEAM, 2019; MORAL et al., 2017). A significância do fator “gênero” e o efeito linear do comprimento da carapaça sobre a primeira escolha foram avaliados a partir do teste de razão de verossimilhança para modelos encaixados, a partir do teste χ^2 para a diferença de desvio (*deviance*) entre os modelos testados (HOSMER; LEMESHOW, 2013).

Na sequência, avaliaram-se as escolhas posteriores, após a adaptação dos indivíduos às amostras de água. O modelo binomial logístico convencional não foi apropriado nesta situação, uma vez que se verificou superdispersão nos dados, ou seja, os dados apresentaram dispersão significativamente superior à dispersão esperada a partir do modelo binomial. A superdispersão pode decorrer de variações ambientais que afetam as chances das escolhas ou de correlações existentes entre observações do mesmo indivíduo. Para modelar dados nessa situação, adiciona-se uma componente aleatória na parte fixa do modelo, capaz de acomodar a variação extra. No caso, usamos uma componente aleatória normalmente distribuída, somada à parte fixa do modelo, a qual influencia diretamente o log das chances (logito). O modelo resultante é conhecido como Logístico-Normal (DEMÉTRIO et al., 2014). A qualidade do ajuste foi checada a partir de gráficos dos resíduos de Pearson e envelopes simulados com 95% de confiança a partir da função estatística *half-normal*

plot. A influência do gênero, da ordem de execução do ensaio (cada uma das 10 repetições do teste na fase pós-ambientação) e do tamanho do animal (comprimento da carapaça) sobre as escolhas foi analisada a partir da estatística χ^2 para o teste de razão de verossimilhança. O teste de Wald para os coeficientes do modelo foi usado de forma complementar, para detectar se a preferência nas escolhas foi afetada pelo gênero. Nesta etapa, gráficos da distribuição das escolhas e dos ajustes da distribuição Logística-Normal foram apresentados para descrever o padrão de resposta de machos e fêmeas e auxiliar na identificação de grupos com comportamentos distintos.

As análises estatísticas e os gráficos foram obtidos a partir do *software* R (R CORE TEAM, 2019). Todos os testes de hipóteses foram realizados considerando-se o nível de significância de 5%.

3.2 Experimento 2 – Escolha de sítios de termorregulação

Neste experimento, foi testada a influência de pistas químicas de uma espécie exótica (*T. s. elegans*), no uso de sítios de termorregulação pelas espécies *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis*. Fizeram parte do experimento 53 indivíduos, sendo 21 espécimes de *P. expansa* (9 machos e 12 fêmeas) e 32 espécimes de *P. unifilis* (19 machos, 11 fêmeas e 2 indivíduos de sexo não identificado). O experimento foi realizado no recinto 53 da exposição da FPZSP, local que os animais já viviam.

Foram usados como sítios de termorregulação seis estruturas de madeira compensada (2,20 m de altura x 1,20 m de largura), sendo duas para cada tratamento. Foram afixadas em cada estrutura de madeira seis ripas de madeira dispostas paralelamente e com espaços regulares, com o intuito de facilitar a escalada e evitar que os animais escorregassem da estrutura. Foram empregados três tratamentos: 1) estrutura sem pista química (controle), 2) estrutura com pista química das espécies nativas (*P. expansa* e *P. unifilis*) e 3) estrutura com pista química da espécie exótica (*T. s. elegans*). Foram colocadas no recinto, paralelamente, uma estrutura para cada tratamento, permanecendo cada uma delas afixadas na borda do tanque e apenas com a parte inferior em contato com a água do recinto (Figura 2). A cada dia de coleta, as estruturas de madeira eram trocadas de posição no recinto de modo que ao final do experimento, todas tivessem ficado a mesma quantidade de vezes em cada

posição.

Para passar as pistas químicas para as estruturas de madeira, estas foram deixadas imersas na água de tanques contendo apenas as espécies alvo de cada tratamento por no mínimo 24 horas. Para a espécie exótica, foram separados grupos iguais de machos e fêmeas, sendo que as estruturas de madeira ficaram metade do tempo do experimento de molho na água de cada sexo, separadamente. Entre uma coleta e outra, as estruturas de madeira do tratamento com pistas químicas da espécie invasora eram trocadas por outras que estavam de molho em água e a estrutura de madeira controle trocada por uma limpa. As estruturas de madeira do tratamento com pistas químicas das espécies nativas ficavam de molho no próprio recinto onde era realizado o experimento e onde não eram mantidos indivíduos da espécie exótica. Após usadas no experimento, as estruturas de madeira do tratamento controle eram lavadas com água limpa, escovadas e deixadas secando ao ar livre e as estruturas de madeira dos tratamentos com pistas químicas da espécie exótica eram levadas para ficar de molho para a próxima coleta. No período de realização do experimento, foram retirados do recinto os troncos da ambientação utilizados pelos animais para termorregulação, de modo que ficassem disponível para tal somente as estruturas do experimento.



Figura 2 – Estruturas de madeira utilizadas no experimento de escolhas de sítios de termorregulação.
Fonte: Roberta Mariáh, 2019.

Durante as coletas de dados, os animais foram observados utilizando o método de varredura instantânea (“*scan sampling*”) (ALTMANN, 1974) no qual a cada cinco minutos durante três horas consecutivas era anotado a espécie, sexo e o número de animais utilizando cada tratamento. Para facilitar a identificação rápida do sexo dos animais no momento das varreduras, os animais, previamente sexados, foram identificados com esmaltes de cores diferentes de acordo com o sexo. Foram 30 dias não consecutivos de observações entre janeiro e maio de 2019, distribuídas no período da manhã (entre 08 e 12h) ou da tarde (entre 12 e 17h).

3.2.1 Espécies Investigadas

A tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa* - Schweigger, 1812) é a maior espécie do seu gênero, cujas fêmeas podem chegar a 1090 mm de comprimento de carapaça e os machos a 500 mm. Além de menores, os machos possuem também a cauda maior e mais larga e a carapaça mais circular do que das fêmeas. A espécie, que tem os adultos principalmente herbívoros e tem atividade diurna e noturna, ocorre em todos os estados do Brasil que fazem parte da bacia Amazônica, até o limite com o Maranhão, ocupando habitats como rios, lagos e florestas inundáveis (FERRARA, et al., 2017).

O tracajá (*Podocnemis unifilis* - Troschel, 1848) tem a mesma distribuição da tartaruga-da-Amazônia. A espécie que tem atividade diurna e noturna, é principalmente herbívora e habita grandes rios, remansos, lagos, córregos e florestas alagáveis. Estes animais medem entre 350 e 500 mm, fêmeas maduras, e entre 250 e 390 mm, machos. Além dessa diferença de tamanho, os machos possuem a cauda proporcionalmente mais comprida do que a das fêmeas e abertura do escudo anal em formato de “U”, enquanto nas fêmeas é em formato de “V” (FERRARA, et al., 2017).

As duas espécies amazônicas foram nacionalmente classificadas como Quase ameaçadas (NT, aproximando-se do critério A2d) (VOGT et al., 2015a,b), uma vez que vêm sofrendo acentuado declínio populacional devido à coleta excessiva de adultos, juvenis e ovos para consumo e venda. Além disso, outras ameaças podem afetar estas espécies como o desmatamento, a construção de hidrelétricas e o aquecimento global, que interfere na determinação do sexo dos filhotes desregulando a razão sexual das populações (FERRARA, et al., 2017).

3.2.2 Análises Estatísticas

Primeiramente, os dados foram explorados a partir de estatísticas descritivas e análise gráfica. Nesta etapa, foram utilizados gráficos de perfis e diagramas de caixas. Os grupos amostrais de machos e fêmeas foram comparados, dentro de cada espécie, por meio do teste de Wilcoxon para dados pareados ao longo do tempo. Já as comparações entre tratamentos (pistas químicas) foram realizadas a partir do teste de Friedman sobre dados longitudinais. As correlações entre as frequências diárias de uso dos sítios de regulação térmica, entre machos e fêmeas e entre as espécies *P. expansa* e *P. unifilis*, foram computadas a partir do coeficiente de Pearson e testadas com o auxílio da estatística t. A densidade populacional de machos e fêmeas das duas espécies foi considerada nas análises.

Para uma análise mais pormenorizada, as contagens obtidas em cada grupo amostral foram explicadas pelo ajuste de modelos quasi-Poisson, sendo incluídos como fatores experimentais o período (dia) da observação, a localização (posição) do sítio de termorregulação e os tratamentos. A influência dos fatores sobre a taxa de uso dos sítios de termorregulação foi inferida a partir do teste de razão de verossimilhança para modelos encaixados, por meio da estatística F. Dessa forma, primeiramente testou-se o efeito do tempo (dia a partir do início do experimento), comparando o resultado com o modelo nulo. Depois, testou-se o efeito da localização dos sítios de termorregulação, considerando a inclusão prévia do tempo (dia) no modelo. Por fim, testou-se a influência dos tratamentos considerando que o “tempo” e a “posição” já estavam no modelo.

O uso do modelo quasi-Poisson é justificado pelo fato das respostas serem contagens com variância consideravelmente maior do que a esperada pelo modelo de Poisson. A qualidade dos ajustes foi verificada por análise residual, com a construção de envelopes simulados com 95% de confiança.

4 RESULTADOS

4.1 Experimento 1

4.1.1 Caracterização dos animais testados

Os animais da espécie *T. dorbigni* testados neste estudo tinham comprimento de carapaça de $220,5 \pm 6,8$ mm para as fêmeas e $192,3 \pm 4,5$ mm para os machos e

comprimento de plastrão de $204,6 \pm 6,6$ mm para as fêmeas e $170,3 \pm 3,7$ mm para os machos (média \pm erro-padrão).

4.1.2 Condição experimental A (pista química de conspecíficos vs. pista química exótica)

4.1.2.1 Primeira escolha

Na primeira escolha, houve uma preferência significativa pelas amostras de água com pistas químicas de conspecíficos ($\chi^2 = 7,04$ $gl = 1$; $p = 0,0080$). Dos 46 animais testados, 30,4% escolheram amostras com pista química exótica e 69,6% amostras com pistas químicas de conspecíficos. Dessa forma, a chance de um animal escolher a pista química de conspecíficos foi 129% maior do que a de escolher a pista química exótica ($RC = 2,29$; $IC(RC, 95\%)$: [1,25; 4,42]).

Verificou-se que a primeira escolha não foi associada significativamente ao tamanho do animal (teste RV; $\chi^2 = 0,35$; $gl = 1$; $p = 0,5528$), mensurado pelo comprimento de carapaça. Além disso, não houve influência dos gêneros (masculino e feminino) sobre a primeira escolha ($\chi^2 = 0,01$; $gl = 1$; $p = 0,9080$).

4.1.2.2 Escolhas pós-ambientação

O ajuste do modelo Logístico-Normal considerou as variações individuais nos ensaios de preferência, pelo qual foi obtida a estimativa de 65,7% para a probabilidade de escolher pistas químicas de conspecíficos (95% IC = [51,0%; 78,4%]). O teste de Wald foi significativo (teste de Wald; $Z = 2,146$; $p = 0,0319$; $gl\ res. = 44$), indicando diferenças nas chances de escolha entre pista química exótica e pista química de conspecíficos após a ambientação aquática.

Como o animal era ambientado gradativamente, sendo imerso nas amostras de água durante a realização de 10 ensaios consecutivos, levantou-se a hipótese das chances de escolhas variarem de acordo com a ordem do ensaio, à medida que o animal percebe o ambiente. Porém, não se verificou associação linear significativa entre ordem do ensaio e chances de escolha (teste RV; $\chi^2 = 0,7856$; $gl = 1$; $p = 0,3756$). Análises exploratórias revelaram a inexistência de qualquer padrão de relação entre a ordem dos ensaios (com o mesmo animal) e as frequências das escolhas.

Assim como para a primeira escolha (fase anterior à ambientação), observou-se que o tamanho do animal não esteve associado às escolhas entre pista química conspecífica e exótica (teste RV; $\chi^2 = 0,004$; $gl = 1$; $p = 0,9453$). O gênero também não apresentou influência considerando-se o teste da razão de verossimilhança a 5% de significância (teste RV; $\chi^2 = 3,097$; $gl = 1$; $p = 0,078$). Contudo, foi verificada uma interação entre gênero e escolha ao retirarmos o intercepto do modelo: houve diferença significativa entre as chances de escolha da pista química conspecífica e exótica para as fêmeas (teste de Wald; $Z = 2,756$; $p = 0,00586$; $gl\ res. = 43$). As fêmeas seguiram as pistas químicas de conspecíficos com probabilidade estimada de 78,9% (95% IC = [59,1%; 91,3%]). Dessa forma, a chance de uma fêmea seguir a pista química conspecífica foi 274% maior do que a de se encaminhar para a pista química exótica (RC = 3,74). Por outro lado, não se verificou preferência entre pistas químicas para o grupo de machos (teste de Wald; $Z = 0,658$; $p = 0,510$; $gl\ res. = 43$).

Devido ao valor p consideravelmente baixo no teste de razão de verossimilhança para a variável “gênero”, o que caracteriza uma tendência, optou-se por explorar melhor a relação entre o gênero e a escolha a partir de ajustes separados do modelo Logístico-Normal para os sexos masculino e feminino. O ajuste da distribuição do modelo Logístico-Normal demonstrou que nas fêmeas o comportamento padrão foi seguir pistas químicas de conspecíficos, corroborando os resultados anteriores (teste de Wald; RC=3,29; $Z=3,44$; $p<0,001$).

Para o grupo de machos, não houve preferência entre os tratamentos (teste de Wald; RC=1,27; $Z=0,55$; $p=0,583$), mas os mesmos se dividiram em dois comportamentos notórios: 11 indivíduos exibiram preferências pelas pistas intraespecíficas, escolhendo-a com uma probabilidade igual ou maior do que 80%; enquanto isso, nove indivíduos apresentaram o comportamento oposto, apresentando preferência pela pista química exótica, isto é, escolhendo-a com probabilidade maior ou igual a 70%. Apenas 31% dos machos (N=9) apresentaram escolhas equilibradas, com probabilidades menores do que 80% (Figura 3).

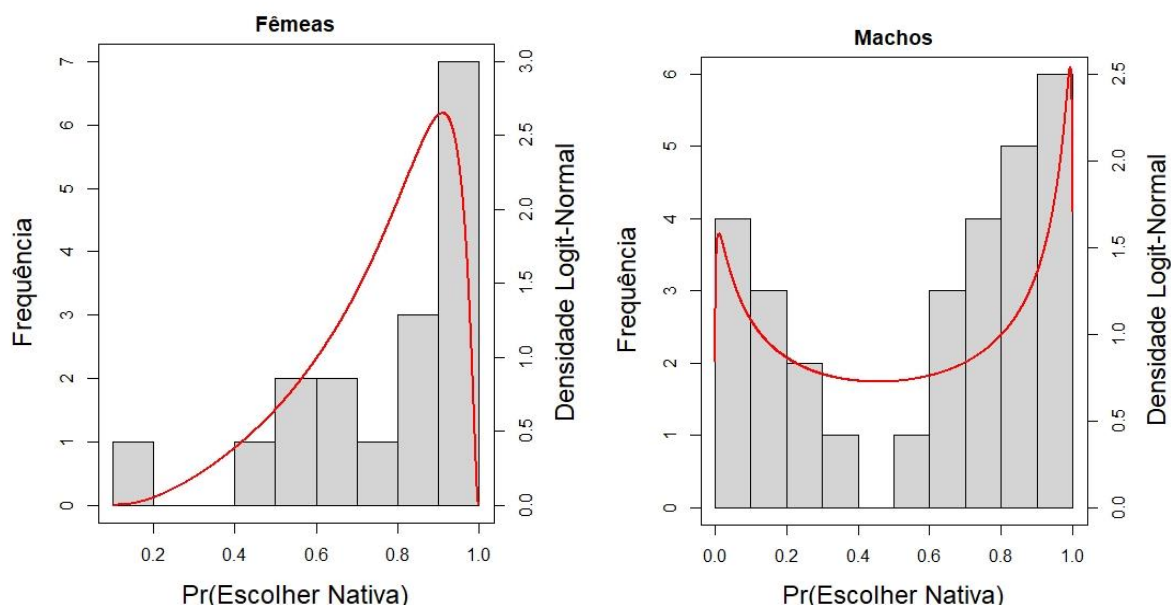


Figura 3 – Proporções observadas na escolha da pista química conspecífica (nativa) em função do gênero (colunas em cinza) e distribuição Logístico-Normal ajustada (curva em vermelho) para cada grupo amostral na condição experimental A (Pista química de conspecíficos vs. Pista química exótica).

4.1.3 Condição experimental B (controle vs. pista química exótica)

4.1.3.1 Primeira escolha

Na primeira escolha, não houve preferência entre os tratamentos ($\chi^2 = 0,8572$; $gl = 1$; $p = 0,3545$). Dos 42 animais estudados, 57,1% escolheram o controle (água limpa) enquanto 42,9% encaminharam-se para amostras de água com pista química exótica. Não foram verificadas influências significativas do tamanho do animal (teste RV; $\chi^2 = 0,3073$; $gl = 1$; $p = 0,5793$) e gênero (teste RV; $\chi^2 = 0,5371$; $gl = 1$; $p = 0,4636$) sobre as chances de cada escolha.

4.1.3.2 Escolhas pós-ambientação

Nesta etapa também não houve preferência entre os tratamentos disponíveis (teste de Wald; $Z = -0,782$; $p = 0,4340$; $gl\ res. = 40$). Ademais, não se verificaram influências do tamanho do animal, gênero e ordem de execução do teste sobre as chances de escolha (teste RV; $p > 0,05$).

Na descrição das escolhas de fêmeas e machos pelo modelo Logístico-Normal não se observam grupos com padrões de escolhas diferentes (Figura 4).

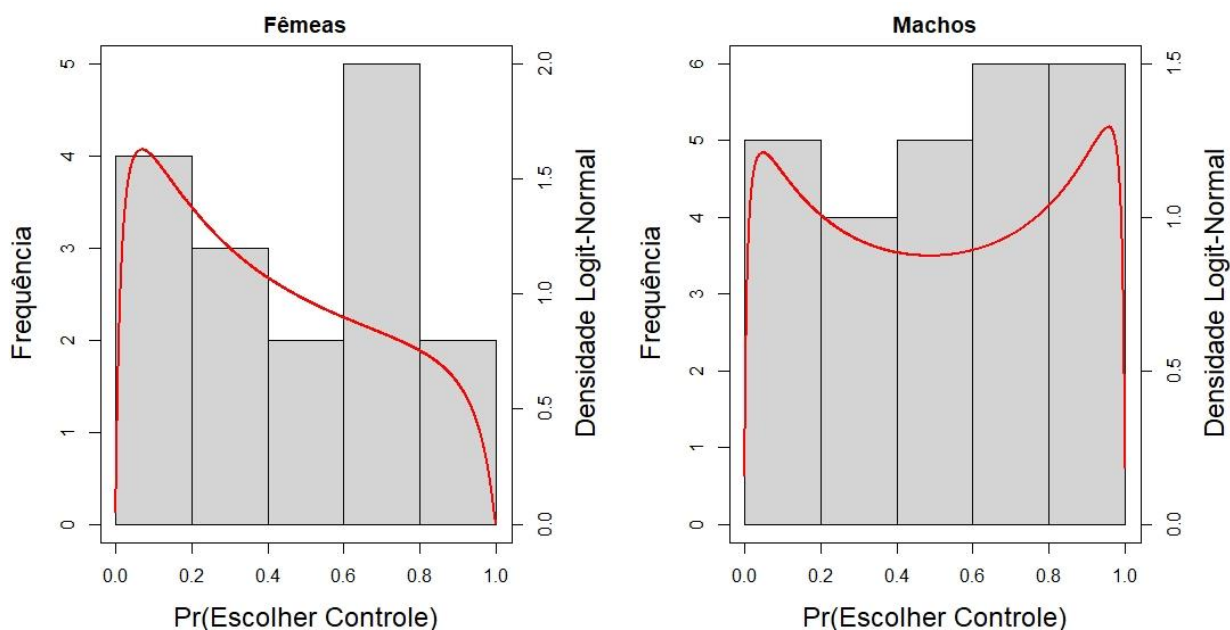


Figura 4 - Proporções observadas na escolha do controle (água limpa) em função do gênero (colunas em cinza) e distribuição Logístico-Normal ajustada (curva em vermelho) para cada grupo amostral na condição experimental B (Controle vs. Pista química exótica).

4.1.4 Condição experimental C (controle vs. pista química de conspecíficos)

4.1.4.1 Primeira escolha

Na primeira escolha, não houve preferência entre os tratamentos ($\chi^2 = 0,6098$; $gl = 1$; $p = 0,4349$). Dos 41 animais estudados, 56,1% escolheram o controle (água limpa) enquanto 43,9% encaminharam-se para amostras de água com pistas químicas de conspecíficos. Não foram verificadas influências significativas do tamanho do animal (teste RV; $\chi^2 = 0,1424$; $gl = 1$; $p = 0,7059$) e gênero (teste RV; $\chi^2 = 0,0094$; $gl = 1$; $p = 0,9226$) sobre as chances de cada escolha.

4.1.4.2 Escolhas pós- ambientação

Nesta etapa também não houve preferência entre os tratamentos (teste de Wald; $Z = 0,2610$; $p = 0,7940$; $gl\ res. = 39$). Ademais, não se verificaram influências do tamanho do animal, gênero e ordem de execução do teste sobre as chances de escolha (teste RV; $p > 0,05$).

A partir da distribuição das escolhas, observa-se que os machos não apresentam grupos com padrões de comportamento distintos. As fêmeas, entretanto, parecem formar dois grupos: nove fêmeas são mais propensas a escolher água limpa (com

probabilidade maior do que ou igual a 60%) e três fêmeas são mais propensas a escolher água com pistas químicas de conspecíficos (com probabilidade maior de 80%). Apenas duas fêmeas apresentaram um comportamento intermediário (Figura 5).

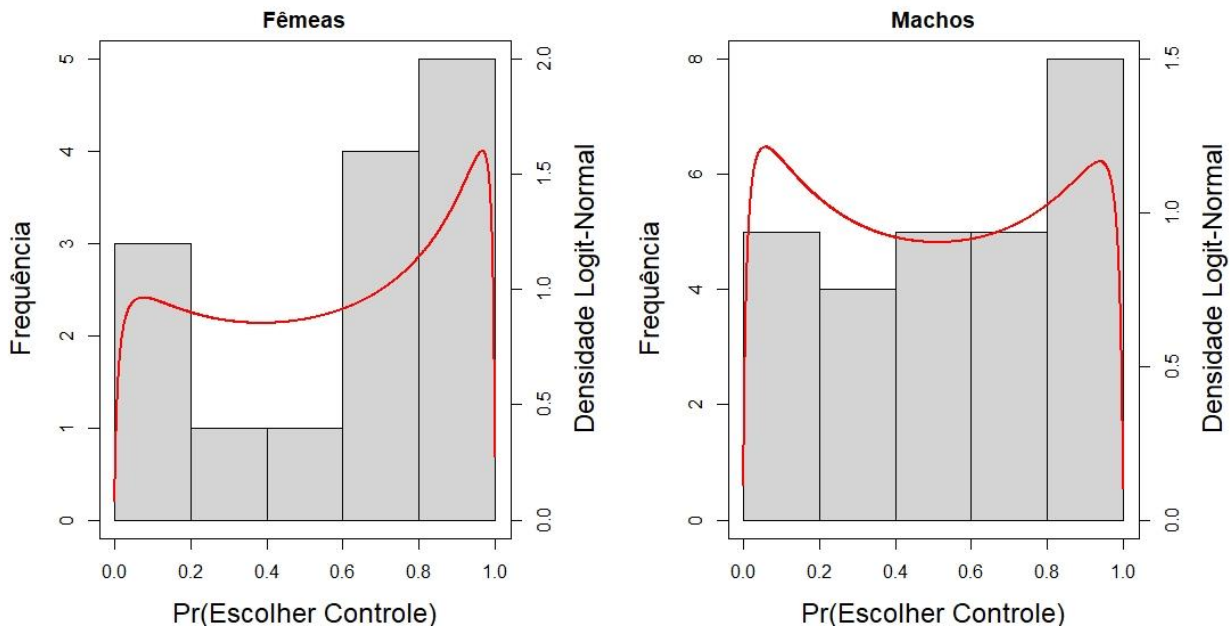


Figura 5 - Proporções observadas na escolha do controle (água limpa) em função do gênero (colunas em cinza) e distribuição Logístico-Normal ajustada (curva em vermelho) para cada grupo amostral na condição experimental C (Pistas químicas de conspecíficos x Controle).

4.1.5 Análise *a posteriori*

Para tentar explicar os resultados aparentemente contrastantes encontrados nos diferentes experimentos, investigamos se existe correlação entre as escolhas de um mesmo indivíduo nas diferentes condições experimentais. O método usado foi o de Pearson, para dados de proporção transformados pelo arcsin da raiz quadrada (ou simplesmente transformação arco seno). Os resultados indicam que escolhas individuais em situações distintas não apresentam correlação linear diferente de zero ($p > 0,05$), ou seja, não existe relação entre as escolhas de um mesmo indivíduo em condições experimentais diferentes. Por exemplo, escolher a pista química conspecífica na condição experimental A não está relacionado a escolher a pista química conspecífica na condição experimental C. É importante lembrar que as duas opções dentro de cada condição experimental (por exemplo, pista química de conspecíficos e pista química exótica na condição experimental A) sempre estarão perfeitamente correlacionadas, pois se o animal escolhe uma opção, acaba por não escolher a outra (Anexo A).

4.2 Experimento 2

Os tratamentos apresentaram números similares de contagens de indivíduos nos sítios de termorregulação ao longo do tempo, tanto para *P. expansa* como para a *P. unifilis* (Figura 6).

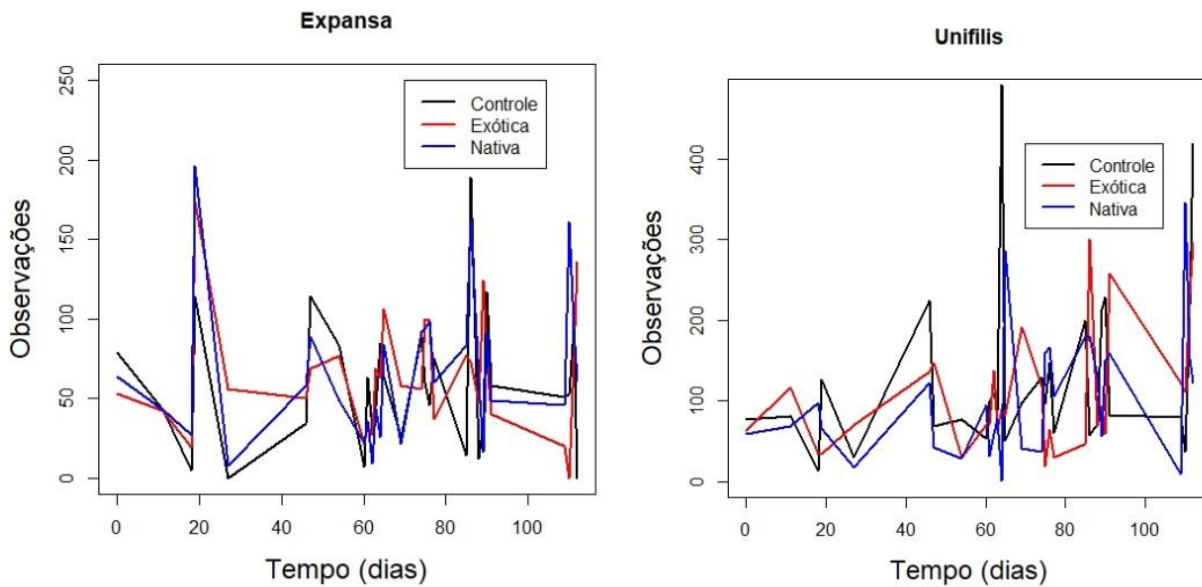
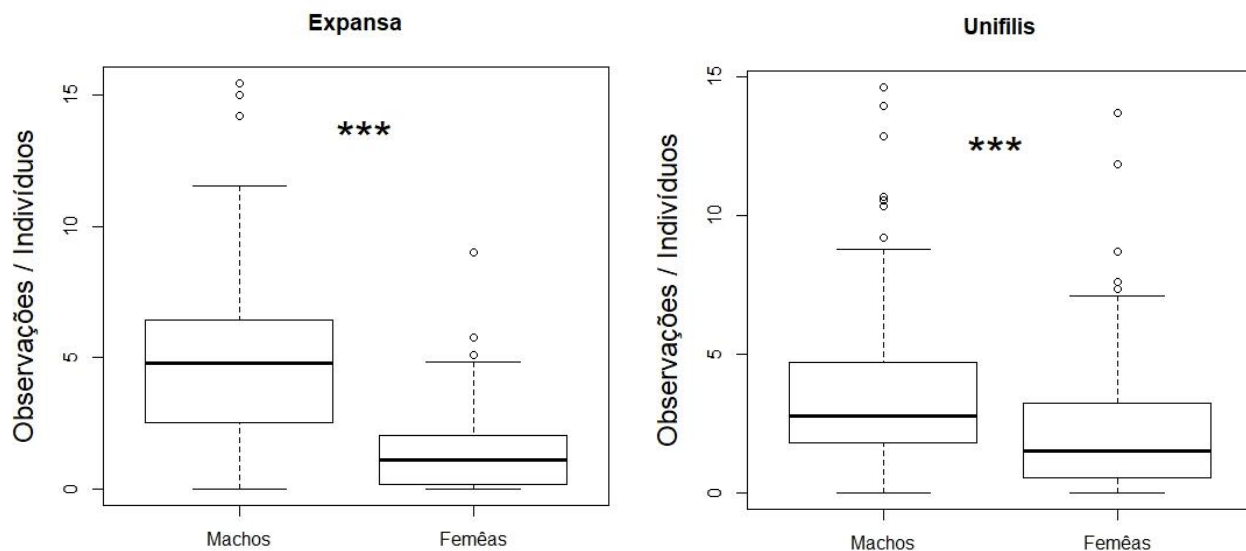


Figura 6 – Distribuição das observações individuais de uso dos sítios de regulação térmica em função dos tratamentos e ao longo do tempo (em dias).

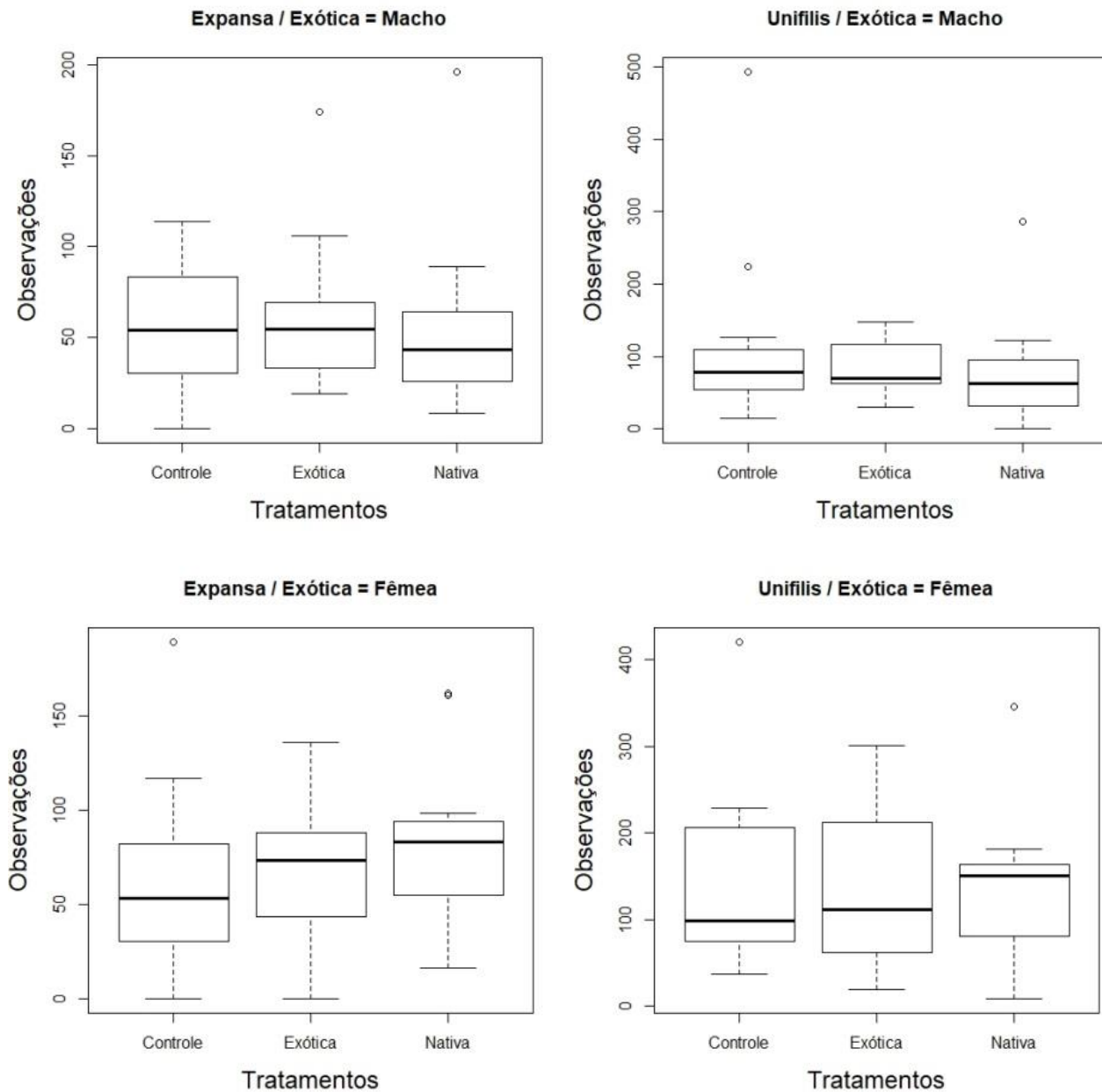
Observou-se que os machos foram mais propensos a ocupar os sítios de termorregulação, independentemente da espécie e do tratamento atribuído às estruturas de madeira (Wilcoxon pareado, $p < 0,001$) (Figura 7).



***: Teste de Wilcoxon pareado (no tempo) significativo ao nível $\alpha = 0.001$

Figura 7 - Distribuição de uso dos sítios de termorregulação em função do sexo (corrigido pelo número de indivíduos) para as espécies *P. expansa* e *P. unifilis*. Somatório das observações sobre os fatores "tempo" e "tratamentos".

Não houve diferenças entre tratamentos (pistas químicas) em todas as situações estudadas (espécies x sexo de origem da pista química exótica), sendo a distribuição de uso dos sítios de regulação térmica equivalente nos grupos experimentais, dentro de cada tempo (teste de Friedman, $p > 0,05$) (Figura 8).



Os tratamentos não diferem entre si com respeito ao número mediano de observações a partir do teste de Friedman para dados longitudinais ($\alpha = 0.05$)

Figura 8 - Distribuição de uso dos sítios de termorregulação em função dos tratamentos, espécie e do sexo de origem da pista química exótica (Exótica = macho/fêmea).

Observou-se que o dia do estudo, bem como a posição dos sítios de

termorregulação, pode afetar a frequência de uso do mesmo pelas espécies testadas. Não houve, no entanto, associação entre tratamentos (pistas químicas) e frequência de uso dos sítios de termorregulação ($p > 0,05$). Dessa maneira, uma vez que efeitos cronológicos e da localização dos sítios de regulação térmica são considerados no modelo, não foram constatadas diferenças quanto aos tratamentos (pistas químicas), refutando a hipótese de resposta diferenciada aos odores intraespecíficos ou interespecíficos (Tabela 1).

Tabela 1 – Significância dos fatores período (Dia), localização (Posição dos sítios de termorregulação) e pistas químicas (Tratamentos) sobre o uso de sítios de regulação térmica nas espécies *P. expansa* e *P. unifilis*.

CONDIÇÃO 1: Pista química exótica proveniente de machos									
FV	GL	GL _{RES}	Estatística F						
			<i>P. expansa</i>			<i>P. unifilis</i>			
			Total	Macho	Fêmea	Total	Macho	Fêmea	NI
Dia	13	28	8,67***	4,41***	8,84***	1,92	1,50	2,34*	2,51*
Posição	2	26	1,90	1,23	11,32***	8,09**	5,33*	3,11	15,59***
Tratamentos	2	24	0,42	2,13	0,29	0,52	0,86	0,10	0,18

CONDIÇÃO 2: Pista química exótica proveniente de fêmeas									
FV	GL	GL _{RES}	Estatística F						
			<i>P. expansa</i>			<i>P. unifilis</i>			
			Total	Macho	Fêmea	Total	Macho	Fêmea	NI
Dia	14	30	1,40	1,05	2,68*	1,51	0,99	1,98	4,22***
Posição	2	28	3,21	2,19	5,06*	6,06**	1,96	18,56***	1,87
Tratamentos	2	26	0,30	0,06	1,43	0,05	0,21	0,85	2,16

FV: Fontes de variação. GL: graus de liberdade. GL_{RES}: graus de liberdade residual. NI: sexo não identificado. Códigos de significância: $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***). Estatísticas F obtidas pelo teste de razão de verossimilhança sequencial, considerando-se os modelos quase-Poisson encaixados.

Não se verificou correlação significativa entre as frequências de uso dos sítios de termorregulação entre as espécies testadas ($r=0,16$; $p>0,05$; teste t). A princípio foi suposta a existência de competição interespecífica por sítios de termorregulação; fosse assim, seria verificada uma correlação negativa nas frequências de uso. Dessa forma, pôde-se refutar tal hipótese.

5. DISCUSSÃO

5.1 Experimento 1

Diversos estudos realizados com cágados e com metodologia similar ao deste estudo reportaram o reconhecimento de pistas químicas de conspecíficos na água (MUÑOZ, 2004; POSCHADEL et al., 2006; LEWIS et al., 2007; POLO-CAVIA et al., 2009; IBÁÑEZ et al., 2012; IBÁÑEZ; VOGT, 2015). Em nosso experimento, os tigrés-d'água preferiram significativamente as amostras de água com pistas químicas de conspecíficos quando estas foram contrastadas com amostra de água com pistas químicas da espécie exótica. Esta preferência por pistas químicas de conspecíficos foi relatada para a espécie *Mauremys leprosa* (Schweigger, 1812), nativa da Europa, quando esta tinha que escolher entre água limpa, água com pistas químicas de conspecíficos e água com pistas químicas da espécie exótica invasora, *Trachemys scripta* (POLO-CAVIA et al., 2009). Neste caso, a preferência de *M. leprosa* foi associada a uma estratégia para evitar encontros agonísticos com a espécie invasora que demonstra ser mais agressiva do que a espécie nativa em situações de competição por recursos alimentares ou por sítios de assoalhamento (POLO-CAVIA et al., 2009). Esta explicação também parece possivelmente adequada para o nosso resultado, uma vez que há relatos de comportamento agressivo entre tigrés-d'água e tartarugas-de-orelha-vermelha, com iniciativa principalmente da espécie invasora e também de competição por sítios de termorregulação, com a espécie exótica levando vantagem na seleção dos melhores locais de assoalhamento (ROCHA, 2005). Porém diferente do que era esperado, quando os animais testados tiveram que escolher entre água limpa e água com pistas químicas, de conspecíficos ou da espécie exótica, não houve preferência por nenhuma das amostras de água.

O padrão contrastante encontrado no presente estudo pode ser efeito de alguma variável não controlada no experimento. Os animais das duas espécies utilizadas no estudo compartilhavam os mesmos recintos, vivendo fêmeas das duas espécies em um recinto e machos das duas espécies em outro recinto. Desta forma, é possível que a habituação prévia dos indivíduos com as pistas químicas da espécie exótica presentes na água tenha afetado os resultados do nosso experimento. Além disso, os animais experimentais possuem origens diferentes, sendo alguns nascidos em cativeiro e outros oriundos de destinação de apreensões ou abandono (possivelmente nascidos na natureza). Se pistas químicas de uma espécie forem

previamente associadas a uma resposta agressiva ou a impossibilidade do uso de recursos devido a competição, espécie nativas podem aprender a evitar odores de espécies invasoras (POLO-CAVIA et al., 2009). Sendo assim, experiências anteriores diferentes podem ter afetado como os espécimes de tigras-d'água reagiram às pistas químicas da espécie exótica. Ainda, a relação entre o sexo dos animais testados e dos animais que geraram as pistas químicas também é uma variável que pode ter influenciado nossos resultados.

Respostas sexualmente dimórficas para pistas químicas na água são comumente encontradas em estudos com tartarugas de água doce (QUINN; GRAVES, 1998; MUÑOZ, 2004; POSCHADEL et al., 2006). Isso se deve ao fato de que machos e fêmeas podem depender das pistas químicas de conspecíficos para comportamentos diferentes, como por exemplo encontrar parceiros sexuais ou evitar encontros agonísticos (POSCHADEL et al., 2006). Além disso, as preferências de machos e fêmeas podem se alterar dependendo se os animais estão ou não na fase reprodutiva (MUÑOZ, 2004). Porém, por não fazer parte dos objetivos deste estudo analisar as diferentes respostas dos sexos ou da fase reprodutiva dos animais às pistas químicas disponíveis, as pistas químicas de machos e fêmeas (de conspecíficos ou da espécie exótica) não foram oferecidas separadamente aos tigras-d'água testados e os testes não foram feitos levando em conta o período reprodutivo dos animais. Entretanto, duas condições experimentais (A e C) do nosso estudo apresentaram tendências nas escolhas relacionadas ao sexo. Nestas duas condições experimentais, contudo, houve uma pequena sobreposição do período reprodutivo e não reprodutivo da espécie, considerando o período reprodutivo dos tigras-d'água na natureza, que vai de final de setembro a meados de fevereiro (BUJES, 2010).

Na primeira condição experimental, as fêmeas preferiram significativamente as amostras de água com pistas químicas de conspecíficos à pista química exótica, o que acabou dominando o resultado geral dos animais. Fêmeas costumam preferir água com pistas químicas de conspecíficos na época reprodutiva, sendo atraídas por pistas químicas de outras fêmeas da mesma espécie para formarem aglomerações (MUÑOZ, 2004). Estes agrupamentos de fêmeas podem ser uma estratégia reprodutiva, pois ao estarem juntas aumentam a concentração de pistas químicas na água, facilitando que os machos as encontrem para o acasalamento (MUÑOZ, 2004). Já os machos, nesta situação, apesar de não apresentaram preferência significativa pelas amostras de água, mostraram uma tendência a se dividir em grupos com

preferências distintas. Considerando ainda a fase reprodutiva, os machos também são atraídos por pistas químicas de fêmeas conspecíficas, porém evitam pistas químicas de machos conspecíficos (MUÑOZ, 2004; POSCHADEL et al., 2006). Desta forma, a preferência indefinida do grupo dos machos pode ser explicada por esses dois estímulos contraditórios presentes na mesma amostra de água simultaneamente. Porém, se considerarmos o período de fase não reprodutiva dentro do intervalo destes testes, era esperado que machos e fêmeas evitassem amostras com pistas químicas do sexo oposto, como forma de evitar competição intraespecífica (MUÑOZ, 2004).

Também, na condição experimental C (controle vs. água com pistas químicas de conspecíficos), houve tendências de escolhas relacionadas ao sexo. Desta vez, as fêmeas se dividiram em dois grupos com diferentes preferências. Os machos, por sua vez, apresentaram preferências individuais tão variadas que não houve formação clara de grupos distintos. Essa falta de preferência clara, para ambos os sexos, também pode estar relacionada à sobreposição das fases reprodutivas e às diferentes escolhas dos gêneros nas diferentes fases. É possível que estas condições tenham levado a um mascaramento de preferências nas escolhas dos animais.

Embora não tenham sido encontradas preferências significativas nas escolhas dos animais testados em duas condições experimentais (condições B e C), a distribuição das escolhas dos indivíduos sugere que os animais não selecionavam as amostras de água aleatoriamente, com probabilidades iguais e de forma equilibrada, como seria esperado se os animais não reconhecessem as pistas químicas presentes na água. Desta forma, apesar deste estudo não ter encontrado evidências consistentes de que a presença das pistas químicas da espécie exótica invasora, *T. s. elegans*, afeta a escolha de ambientes dos tigrés-d'água, é preciso que novas pesquisas continuem investigando as possíveis consequências que esta espécie pode trazer para os cágados nativos. Futuras pesquisas podem focar em medir os níveis de stress de espécimes de tigrés-d'água expostos à pistas químicas da espécie exótica e em verificar como a competição interespecífica com essa espécie exótica pode afetar o uso de recursos pela espécie nativa. É importante, porém, controlar as influências sexuais nos experimentos para evitar possíveis interferências nos resultados.

5.2 Experimento 2

Os resultados obtidos nos diferentes tratamentos experimentais avaliados não permitem afirmar o reconhecimento das pistas químicas da espécie exótica invasora pelas espécies nativas e a influência destas pistas químicas no uso de sítios de termorregulação. Diversos estudos apontam que a espécie exótica *T. s. elegans* em condições experimentais ou naturais compete com espécies nativas por sítios de termorregulação, prejudicando o acesso a bons locais de assoalhamento (CADI; JOLY, 2003; ROCHA, 2005, POLO-CAVIA et al., 2010). Essa competição pode até afetar a eficácia da termorregulação e desta forma as funções fisiológicas dos animais nativos (POLO-CAVIA et al., 2010). A vantagem da espécie exótica pode estar relacionada a ocupação antecipada dos melhores sítios de termorregulação e não necessariamente a comportamentos agressivos ou de deslocamento da espécie nativa competidora (CADI; JOLY, 2003). Porém, quando pareados com indivíduos de tamanho similar e com local de termorregulação limitado, os indivíduos de uma espécie nativa (*M. leprosa*) passaram menos tempo em atividade de assoalhamento quando em competição interespecífica com a espécie invasora do que quando em competição intraespecífica (POLO-CAVIA et al., 2010). Ainda, os animais nativos podem evitar de compartilhar sítios de termorregulação limitados (através do empilhamento de um animal sobre o outro), comportamento comum entre indivíduos da mesma espécie, quando o competidor é da espécie exótica (POLO-CAVIA et al., 2010). Este comportamento de evitar o contato com a espécie exótica pode estar relacionado ao reconhecimento e aversão às pistas químicas dessa espécie invasora no ambiente.

A presença de pistas químicas da espécie invasora *T. scripta* na água fez com que uma espécie nativa da Europa (*M. leprosa*), em condições experimentais, evitasse ocupar este ambiente (POLO-CAVIA et al., 2009). A associação da pista química de espécies invasoras com situações negativas, como respostas agressivas ou a competição mal sucedida por recursos, pode levar espécies nativas a evitar as pistas químicas da espécie invasora (POLO-CAVIA et al., 2009). Entretanto, a relação entre a presença de pistas químicas dessa espécie invasora e a seleção de sítios de termorregulação ainda não é conhecida. Diferente do encontrado por Polo-Cavia e colaboradores (2009) sobre a presença de pistas químicas da espécie invasora e ocupação de ambientes aquáticos, nossos resultados mostram que não

houve diferença no uso dos sítios de termorregulação em relação aos tratamentos empregados (estruturas de madeira com pistas químicas da espécie exótica, com pistas químicas das espécies nativas estudadas ou sem pistas químicas).

Este resultado pode estar relacionado à falta de contato prévio entre as espécies, uma vez que os espécimes estudados não compartilhavam o mesmo espaço com indivíduos da espécie exótica. Desta forma, a falta de experiências prévias com a espécie exótica e, conseqüentemente, de reconhecimento das pistas químicas deixadas por ela pode ter levado a falta de diferenciação na escolha dos sítios de termorregulação. Não há registros de ocorrência da tartaruga-de-orelha-vermelha nas áreas de distribuição das espécies nativas estudadas (GBIF, 2019). Contudo, se a espécie invasora chegar à área de ocupação das espécies nativas não é possível prever os impactos às espécies nativas que utilizam esse habitat, pois apesar das espécies estudadas serem maiores e portanto terem vantagem competitiva sobre a espécie exótica, outras espécies de cágados que ocupam esses ambientes são menores (por exemplo, *Kinosternon scorpioides*, Linnaeus 1766) e podem ser prejudicadas. Além disso, a espécie invasora e muitas espécies nativas que ocorrem na mesma área de distribuição das espécies estudadas apresentam os mesmos hábitos alimentares (onívoras) (FERRARA et al., 2017) e portanto podem competir por recursos alimentares.

Em caso de substratos limitados para assolhamento pode ocorrer competição agressiva por espaço entre tartarugas de água doce (LINDEMAN, 1999; ROCHA, 2005). Nesta situação, o tamanho corporal é um importante fator na determinação do resultado da interação agressiva entre cágados, com os indivíduos maiores levando vantagem (LINDEMAN, 1999; ROCHA, 2005). A espécie invasora *T. s. elegans* teve vantagem na ocupação de sítios de termorregulação quando em competição com espécimes de tamanho similar porém de espécies que atingem um menor tamanho corporal, como *Mauremys leprosa* (POLO-CAVIA et al., 2010) e *Emys orbicularis galloitalica* (CADI; JOLY, 2003). Entretanto, o tamanho corporal das espécies nativas estudadas é muito maior do que da espécie invasora (ver materiais e métodos), sendo assim é possível que mesmo que as espécies nativas reconheçam as pistas químicas da espécie exótica, a presença destas pistas químicas nos sítios de termorregulação não impeça seu uso, pois não representa uma ameaça. É possível ainda que a falta da percepção ou resposta das espécies nativas às pistas químicas da espécie invasora nas estruturas de madeira seja decorrente de uma rápida perda ou

substituição destas pistas ao entrarem em contato com a água do tanque, com o ar ou com os animais que se apoiavam sobre as estruturas.

O número de indivíduos de uma espécie usando os sítios de termorregulação não afetou o uso pela outra espécie. Essa falta de correlação na frequência de uso dos locais de assoalhamento entre as espécies sugere que a competição interespecífica não afetou o comportamento termorregulatório dos animais deste estudo. Esse resultado difere do encontrado em outros trabalhos com tartarugas de água doce que mostram que a competição interespecífica em condições experimentais pode afetar o tempo e a qualidade de termorregulação das espécies que apresentam menor sucesso nas interações competitivas (CADI; JOLY, 2003; POLO-CAVIA et al., 2010). Porém, de acordo com Lindeman (1999) em uma interação competitiva interespecífica por locais de assoalhamento o resultado depende mais do tamanho do indivíduo do que da sua espécie. Além disso a área oferecida pelas estruturas de madeira para o assoalhamento era relativamente grande e comportava um número razoável de indivíduos termorregulando simultaneamente (mais de 10 indivíduos, dependendo do tamanho). Alguns indivíduos ainda, usavam a borda do tanque e a área seca do recinto para assoalharem. Desta forma, o espaço para assoalhar pode não ter sido um recurso limitante, não causando assim competição excessiva entre os indivíduos das duas espécies.

Os machos, independente da espécie e do tratamento, apresentaram maior ocupação dos sítios de termorregulação. As duas espécies nativas testadas apresentam dimorfismo sexual, com fêmeas atingindo maiores tamanhos corporais (FERRARA, et al., 2017). O tamanho do indivíduo é um importante fator no resultado de competição intra e interespecífica por locais de assoalhamento entre espécies de cágados (LINDEMAN, 1999). Uma vez que as fêmeas das espécies estudadas são maiores era esperado que elas tivessem vantagem na ocupação dos sítios de termorregulação. Além disso, a duração do assoalhamento necessário para termorregular é diretamente relacionado ao tamanho corporal em quelônios (AUTH, 1975) e fêmeas maiores de tartarugas de água doce precisam de mais tempo do que machos e fêmeas juvenis para regular a temperatura corporal assoalhando (BULTÉ; BLOUIN-DEMERS, 2010). Desta forma, diferente do que foi encontrado em nossos resultados, era esperado que as fêmeas ocupassem os sítios de termorregulação com maior frequência do que os machos. Essa maior frequência do

uso das estruturas de madeira como sítios de termorregulação pelos machos pode estar relacionado à uma preferência a outros sítios de termorregulação pelas fêmeas, como por exemplo a parte seca do recinto ou as bordas do tanque, já que vários indivíduos foram vistos assoalhando fora do tanque durante o experimento.

Este estudo é pioneiro em investigar o efeito de pistas químicas na seleção de sítios de termorregulação em quelônios. No entanto, seus resultados devem ser interpretados com cautela, pois não foi possível distinguir se as espécies *P. expansa* e *P. unifilis* não são capazes de reconhecer as pistas químicas da espécie exótica invasora *T. s. elegans* ou se a presença das pistas químicas nos sítios de termorregulação não interfere no uso destes recursos. Em ambos os casos, esse resultado sugere que o comportamento de assoalhamento das espécies nativas não é prejudicado pela influência indireta da espécie invasora no ambiente. Entretanto, considerando a ampla dispersão da espécie invasora e o impacto negativo que ela pode trazer a fauna nativa (CADI; JOLY, 2003, 2004; POLO-CAVIA et al., 2010), é interessante continuar as investigações sobre possíveis futuros impactos dessa espécie exótica nas espécies amazônicas, que sofrem forte pressão antrópica (FERRARA et al., 2017) e podem ser ainda mais prejudicadas pela presença de uma espécie invasora.

6. CONCLUSÃO

As hipóteses levantadas neste estudo foram parcialmente corroboradas, uma vez que no experimento um, os animais testados demonstraram diferenciar as pistas químicas da sua própria espécie de pistas químicas da espécie exótica *T. s. elegans*. Entretanto, os resultados encontrados em ambos os experimentos não permitiram chegar a conclusões claras de como a presença de pistas químicas exóticas no ambiente pode afetar o uso do ambiente, tanto aquático como de termorregulação, pelas espécies nativas estudadas. Contudo, este estudo pode ser considerado um ponto de partida para que mais investigações dessa natureza sejam feitas com espécies de cágados nativas do Brasil. Ainda há muito a ser explorado e descoberto na área de comunicação química de quelônios e na relação de pistas químicas com a conservação de espécies.

REFERÊNCIAS

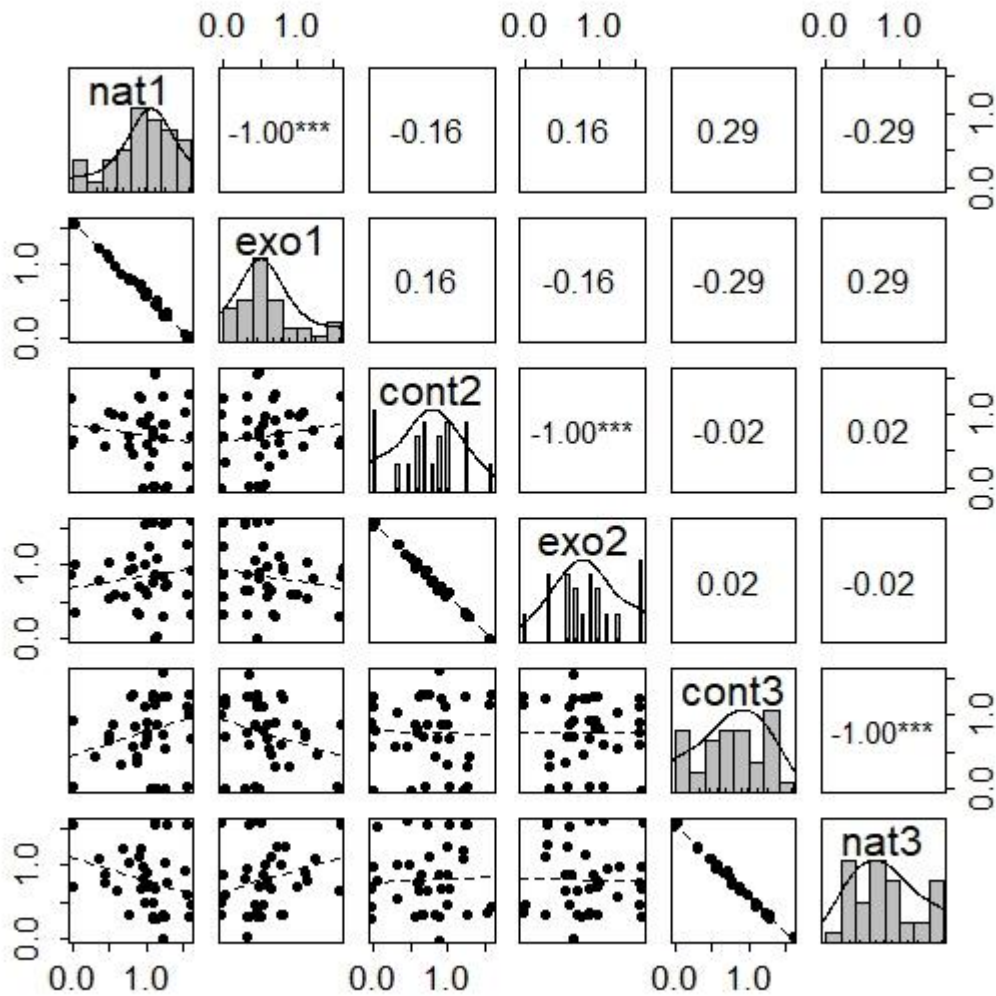
1. ALTMANN, J. Observational study of behavior: sampling methods. **Behaviour**, v. 49, n. 3-4, p. 227-266, 1974.
2. ANDRES, K. M.; CHAMBERS R. M. A test of philopatry by Common Musk Turtles. **American Midland Naturalist**, v. 156, n. 1, p. 45–51, 2006.
3. ARVY, C.; SERVAN, J. Imminent competition between *Trachemys scripta* and *Emys orbicularis* in France. **Mertensiella**, v.10, p. 33-40, 1998.
4. AUFFERNBERG, W. Sex and Species Discrimination in Two Sympatric South American Tortoises. **Copeia**, v. 3, p. 335-342, 1965.
5. AUTH, D. L. Behavioral ecology of basking in the yellowbellied turtle, *Chrysemys scripta scripta* (Schoepff). **Bull Florida State Mus Biol Sci**, v. 20, n. 1, 45p., 1975.
6. BAGER, A. Aspectos da biologia e ecologia da Tartaruga Tigre D'Água, *Trachemys dorbigni*, (Testudines-Emydidae) no extremo sul do Estado do Rio Grande do Sul-Brasil, 2003, 100f., Tese de doutorado (Ecologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
7. BAGER, A.; FREITAS, T. R. O. & KRAUSE, L. Nesting ecology of a population of *Trachemys dorbigni* (Emydidae) in Southern Brazil. **Herpetologica**, v. 63, n.1, p. 56-65, 2007.
8. BUJES, C. Os Testudines continentais do Rio Grande do Sul, Brasil: Taxonomía, Historia Natural e Conservação. **Iheringia, Sér Zool**, v.100, n. 4, p. 413–424, 2010.
9. BUJES, C. S.; VERRASTRO, L. 2008. Quelônios do delta do Rio Jacuí, RS, Brasil: uso de habitats e conservação. **Natureza e Conservação**, v. 6, n. 2, p. 47-60.
10. BULTÉ, G.; BLOUIN- DEMERS, G. Implications of extreme sexual size dimorphism for thermoregulation in a freshwater turtle. **Oecologia**, v. 162, n. 2, p. 313-322, 2010.
11. CADI, A., DELMAS, V., PRÉVOT-JULLIARD, A-C., JOLY, P., PIEAU, C.; GIRONDOT, M. Successful reproduction of the introduced slider turtle (*Trachemys scripta elegans*) in the south of France. **Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.**, v.14, pp. 237-246, 2004.
12. CADI, A.; JOLY, P. Competition for basking places between the endangered European pond turtle (*Emys orbicularis galloitalica*) and the introduced red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*). **Canadian Journal of Zoology**, v. 81, n. 8, p. 1392-1398, 2003.
13. CADI, A.; JOLY, P. Impact of the introduction of the Red-eared Slider (*Trachemys scripta elegans*) on survival rates of the European Pond Turtle (*Emys orbicularis*). **Biodivers. Conserv.** v. 13, p. 2511-2518, 2004.
14. DA SILVA, E.; BLASCO, M. *Trachemys scripta elegans* in Southwestern Spain. **Herpetol Rev** v. 26, p. 133–134. 1995.
15. DEMÉTRIO, C. G. B.; HINDE, J.; MORAL, R. A. Models for Overdispersed Data in Entomology. In: FERREIRA, C. P.; GODOY, W. A. C. **Ecological Modelling Applied to Entomology**. Springer. 2014, p. 219-259. DOI: 10.1007/978-3-319-06877-0_9.
16. DICKE, M.; SABELIS, M.W. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? **Functional Ecology**, v. 2, n. 2, p. 131-139, 1988.
17. DICKE, M.; TAKKEN, W. **Chemical Ecology: From Gene to Ecosystem**, Springer-Verlag, 2006, v.16, n. 1, 192p.
18. EHRENFELD, J. G.; EHRENFELD, D. W. Externally secreting glands of freshwater and sea turtles. **Copeia**, v. 1973, n. 2, p. 305–314, 1973.

19. ERNST, H.; BARBOUR, W. **Turtles of the world**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1989. 313 p.
20. FERRARA, C. R.; FAGUNDES, C. K.; MORCATTY, T. Q.; VOGT, R. C. **Quelônios Amazônicos: Guia de identificação e distribuição**. Manaus, Brazil: Wildlife Conservation Society Brasil, 2017, 182 p.
21. FERRONATO, B. O.; MARQUES, T. S.; GUARDIA, I.; LONGO, A. L.; PIÑA, C. I.; BERTOLUCI, J.; VERDADE, L. M. The turtle *Trachemys scripta elegans* (Testudines, Emydidae) as an invasive species in a polluted stream of southeastern Brazil. **Herpetological Bulletin**, v.109, p. 29-34, 2009.
22. GALEOTTI, P.; SACCHI, R.; ROSA, D. P.; FASOLA, M. Olfactory discrimination of species, sex, and sexual maturity by the hermann's tortoise *Testudo hermanni*. **Copeia**, v. 2007, p. 980–985, 2007.
23. GBIF: The Global Biodiversity Information Facility. *Trachemys scripta* subsp. *elegans* (Wied, 1838) in GBIF Secretariat (2019). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2020-06-01.
24. GIBBONS, J. W.; SCOTT, E. D.; RYAN, T. J.; BUHLMANN, K. A.; TUBERVILLE, T. D.; METTS, B. S.; GEENE, J. L.; MILLS, T.; LEIDEN, Y.; POPPY, S. & WINNE, C. T. The global decline of reptiles, déjà vu amphibians. **BioScience**, v.50. p. 653-666, 2000.
25. GRADELA, A.; SANTIAGO, T. O. C.; PIRES, I. C.; SILVA, A. D. C. S.; de SOUZA, L. C.; de FARIA, M. D.; NETO, J. P.; MILANELO, L. Sexual Dimorphism in Red-Eared Sliders (*Trachemys scripta elegans*) from the Wild Animal Triage Center of the Tiete Ecological Park, São Paulo, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 1-10, 2017.
26. HAHN, A. T. **Análise da dieta de *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) no sul do Rio Grande do Sul, Brasil** (Testudines, Emydidae). 2005, 53p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
27. HALPERN, M. Nasal chemical senses in reptiles: structure and function; In: C. Gans and D. Crews (eds.), **Biology of the Reptilia**, v.. 18. University of Chicago Press, Chicago., 1992, p. 423–523.
28. HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic regression**. Third Edition. New York: Wiley. 2013, 528 p. ISBN 978-0-470-58247-3
29. IBÁÑEZ, A.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J. Discrimination of conspecifics' chemicals may allow Spanish terrapins to find better partners and avoid competitors. **Animal Behaviour**, v. 83, p. 1107–1113, 2012.
30. IBÁÑEZ, A.; MARZALI, A.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J. Boldness and body size of male Spanish terrapins affect their responses to chemical cues of familiar and unfamiliar males. **Behavioral ecology and sociobiology**, v. 67, n.4, p. 541-548, 2013.
31. IBÁÑEZ, A.; VOGT, R. C. Chemosensory discrimination of conspecifics in the juvenile yellow-spotted river turtle *Podocnemis unifilis*. **Behaviour**, v. 152, n.2, p. 219-230, 2015.
32. IUCN. 2018. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Red List of Threatened Species. Version 2018-1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 31 August 2018.
33. JACKSON, J. F. Evidence for chemosensor-mediated predator avoidance in musk turtles. **Copeia**, v. 1990, p. 557–560, 1990.
34. KATS, L.B.; DILL, L.M. The scent of death: chemosensory assessment of predation risk by prey animals. **Ecoscience**, v.5, n.3, p. 361–394, 1998.

35. LEMA, T.; FERREIRA, M. T. S. Contribuição ao conhecimento dos testudines do Rio Grande do Sul (Brasil) – Lista sistemática comentada. **Acta Biológica Leopoldensia**, São Leopoldo, v.12, n.1, pp. 125-164, 1990.
36. LEWIS C. H.; MOLLOY, S. F.; CHAMBERS, R. M.; DAVENPORT, J. Response of common musk turtles (*Sternotherus odoratus*) to intraspecific chemical cues. **Journal of Herpetology**, v.41, n.3, p. 349–353, 2007.
37. LINDEMAN, P. V. Aggressive interactions during basking among four species of emydid turtles. **Journal of Herpetology**, v. 33, n. 214-219, 1999.
38. LOWE, S.; BROWNE, M.; BOUDJELAS, S.; DE POORTER, M. 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. **Auckland: Invasive Species Specialist Group**, v. 12, 2000.
39. MADISON, D.M. (1977) Chemical Communication in Amphibians and Reptiles. In: Müller-Schwarze D., Mozell M.M. (eds) **Chemical Signals in Vertebrates**. Springer, Boston, MA, 1977, 610 p.
40. MARTINS, R. A.; ASSALIM, A. M.; MOLINA, F. B. The presence of the Red-eared slider, *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1838) (Testudines, Emydidae), an invasive species, in the Paraibuna river basin, Southeastern Brazil. **Herpetology Notes**, v. 7, p. 437-441, 2014.
41. MASON, R. T.; PARKER, M. R. Social behavior and pheromonal communication in reptiles. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 196, n.10, p. 729 -749, 2010.
42. MCCULLAGH, P.; NELDER, J. A. **Generalized Linear Models**, Second Edition. Front Cover. CRC PRESS, Aug. 1, 1989 - Mathematics – 532p.
43. MORAL, R. A; HINDE, J; DEMÉTRIO, C. G. B. Half-Normal Plots and Overdispersed Models in R: The HNP Package. **Journal of Statistical Software**, [S.L.], v. 81, issue 10, p. 1 - 23, Nov. 2017. ISSN 1548-7660. AVAILABLE AT: <HTTPS://WWW.JSTATSOFT.ORG/V081/I10>. Date Accessd: 15 DEC. 2019. DOI:HTTP://DX.DOI.ORG/10.18637/JSS.V081.I10.
44. MUÑOZ, A. Chemo-orientation using conspecific chemical cues in the Stripe-Necked Terrapin (*Mauremys leprosa*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 10, p. 519–
45. NEILL, W. T. Odor of young box turtles. **Copeia**, v. 1948, n. 2, p. 130, 1948.
46. PEREZ-SANTIGOSA, N.; DIAZ-PANIAGUA, C.; HIDALGO-VILA, J. The reproductive ecology of exotic *Trachemys scripta elegans* in an invaded area of southern Europe. John Wiley & Sons, Ltd. **Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.**, v. 18, p. 1302 – 1310, 2008.
47. POLO-CAVIA, N.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J. Interspecific differences in chemosensory responses of freshwater turtles: consequences for competition between native and invasive species. **Biological Invasions**, v. 11, n. 2, p. 431-440, 2009.
48. POLO-CAVIA, N.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J. (2010). Competitive interactions during basking between native and invasive freshwater turtle species. **Biological Invasions**, v. 12, n. 7, p. 2141-2152, 2010.
49. POSCHADEL, J.; MEYER-LUCHT, Y.; PLATH, M. Response to chemical cues from conspecifics reflects male mating preference for large females and avoidance of large competitors in the European pond turtle, *Emys orbicularis*. **Behaviour**, v. 143, p. 569–587, 2006.
50. PRIMACK, R.B.; RODRIGUES, E. **Biologia da Conservação**. Londrina: Editora Planta, 2001, 327pp.
51. QUINN, V. S., GRAVES, B. M. Home pond discrimination using chemical cues in *Chrysemys picta*. **Journal of Herpetology**, v. 32, p. 457–461, 1998.

52. R CORE TEAM (2019). **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL [HTTPS://WWW.R-PROJECT.ORG/](https://www.R-project.org/).
53. ROCHA D.F.N.B. **Biologia termal das tartarugas *Trachemys dorbignyi* (Duméril & Bibron, 1835) e *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839) nos lagos de Porto Alegre, RS, Brail** (Testudines, Emydidae). 2005, 79f. Porto Alegre, RS. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
54. ROOT, R. Aquatic Respiration in the Musk Turtle. **Physiological Zoology**, v. 22, n. 2, p. 172-178, 1949.
55. ROSE, F. L. Tortoise chin gland fatty acids composition: **Behavioural significance. Comp. Biochem. Physiol.**, v. 32, p. 577–580, 1970.
56. ROSSI, S.; LOVATO, E.; RÖFLING, J. C. Aspectos biológicos da tartaruga-de-orelha-vermelha, *Trachemys Scripta Elegans* (Reptilia, Testudines, Emydidae), em cativeiro. **Bioikos**, Campinas, v. 20, n.1, p. 33-40, 2006.
57. SCHWENK, K. Comparative anatomy and physiology of chemical senses in nonavian aquatic reptiles. In: Thewissen JGM, Nummela S, eds. **Sensory evolution on the threshold. Adaptations in secondarily aquatic vertebrates**. Berkeley, CA: University of California Press, 2008, p. 65–81.
58. SMAR, C. M.; CHAMBERS, R. M. Homing behavior of musk turtles in a Virginia lake. **Southeastern Naturalist**, v. 4, p. 527-532, 2005.
59. VANZOLINI, P. E. 1997. A note on the reproduction of *Trachemys dorbigni* (Testudines, Emydidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 57, n. 2, pp.165-175.
60. VOGT, R. C.; FAGUNDES, C. K.; BATAUS, Y. S. L.; BALESTRA, R. A. M.; BATISTA, F. R. W.; 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 Podocnemis expansa (Schweigger, 1812) no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira**. ICMBio, 2015a. <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/estado-de-conservacao/7431-repteis-podocnemis-expansa-tartaruga-da-amazonia2.html>. Último acesso em outubro de 2018.
61. VOGT, R. C.; FAGUNDES, C. K.; BATAUS, Y. S. L.; BALESTRA, R. A. M.; BATISTA, F. R. W.; 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 Podocnemis unifilis Troschel, 1848 no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira**. ICMBio, 2015b. <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/estado-de-conservacao/7426-repteis-podocnemis-unifilis-tracaja.html>. Último acesso em outubro de 2018.
62. WHITEAR, A. K.; WANG, W., CATLING, P., MCLENNAN, D. A.; DAVY, C. M. The scent of a hatchling: intra-species variation in the use of chemosensory cues by neonate freshwater turtles, **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 120, n. 1, p. 179–188, 2016.
63. WYATT, T.D. (2003). **Pheromones and animal behaviour, communication by smell and taste**. - Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511615061>

ANEXOS



Anexo A – Correlações entre as frequências relativas para as escolhas individuais por pistas químicas em três condições experimentais: Condição A: pista química de conspecíficos (nativa) x pista química exótica (exótica); Condição B: controle x pista química exótica (exótica); Condição C: controle x pista química de conspecíficos (nativa). Diagramas de dispersão e ajustes lineares na parte inferior; histogramas e densidades empíricas para as frequências das escolhas na diagonal; coeficientes de correlação linear de Pearson (r) e significância na parte superior. Códigos de significância: * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; e *** = $P < 0.001$