



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
Fundação Instituída nos termos da Lei 5.152 de 21/10/1966 – São Luís Maranhão
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COORDENADORIA DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(Modalidade: Bacharelado)

CAROLINA BORGES CORDEIRO

**AVALIAÇÃO DA SISTEMÁTICA DE *Trachemys adiutrix* (Testudines, Emydidae),
ESPÉCIE ENDÊMICA E AMEAÇADA DA ILHA DE CURUPU, MARANHÃO, POR
MEIO DE DNA MITOCONDRIAL.**

SÃO LUIS - MA

2016

CAROLINA BORGES CORDEIRO

**AVALIAÇÃO DA SISTEMÁTICA DE *Trachemys adiutrix* (Testudines, Emydidae),
ESPÉCIE ENDÊMICA E AMEAÇADA DA ILHA DE CURUPU, MARANHÃO, POR
MEIO DE DNA MITOCONDRIAL.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção de do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Maranhão. Professores orientadores: Larissa Nascimento Barreto e Luis Fernando Carvalho Costa.

São Luís, 25 de janeiro de 2017.

SÃO LUÍS-MA

2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Larissa Nascimento Barreto
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dra. Ligia Tchaicka
Universidade Estadual do Maranhão

Prof. Dr. Marcelo Andrade
Universidade Federal do Maranhão

RESUMO

Trachemys adiutrix, apresenta distribuição restrita à zona litorânea entre os Estados brasileiros do Maranhão e Piauí, e está classificada como em perigo de extinção. Há dúvidas sobre o *status* taxonômico desse táxon, pois alguns autores discutem que ele seja uma subespécie ou população isolada de *Trachemys dorbigni*. Logo, o objetivo deste trabalho foi analisar a sistemática de *T. adiutrix* da Ilha de Curupu, Maranhão, utilizando um fragmento do gene mitocondrial do Citocromo B. As sequências obtidas foram comparadas com sequências depositadas no GenBank de amostras de Santo Amaro (MA) e de outras espécies e subespécies do gênero. Os resultados mostraram que as amostras de *T. adiutrix* de Curupu e Santo Amaro são geneticamente idênticas, mas diferentes em 1,2% de *T. dorbigni*. Mesmo que *T. adiutrix* seja considerada uma subespécie ou população isolada de *T. dorbigni*, sua singularidade evolutiva foi demonstrada e futuros planos de manejo devem levar essa informação em conta. O uso de mais marcadores moleculares, estudos ecológicos e morfológicos podem ajudar a definir melhor a situação sistemática de *T. adiutrix*.

Palavras-Chave: Quelônios, *Trachemys*, DNA mitocondrial, Sistemática Molecular.

ABSTRACT

Trachemys adiutrix turtles present a restricted distribution in the coastal region between Maranhão and Piauí Brazilian states and it is classified as an endangered species. There are doubts about the taxonomic status of this taxon since some authors argue that it is a subspecies or an isolated population of *T. dorbigni*. Therefore, the aim of this study was to analyze the *T. adiutrix* systematic from the Cururupu Island, in Maranhão state, using a fragment from the Cytochrome b gene from mitochondrial gene DNA. Sequences were compared to available data from GenBank, mainly sequences from Santo Amaro locality, also in Maranhão, and from other species and subspecies of the genus. The results showed that the samples of *T. adiutrix* in Cururupu and Santo Amaro are genetically identical, albeit being different in 1,2% from *T. dorbigni*. Even that *T. adiutrix* are to be considered as subspecies or an isolated population of *T. dorbigni*, its evolutionary uniqueness in Cururupu was shown and future conservation and management plans should take this information into consideration. The use of more molecular markers, ecological and morphological studies might help to fully determine the systematic status of *T. adiutrix*.

Key-words: Chelonian, *Trachemys*, DNA mitochondrial, Molecular Systematics.

INTRODUÇÃO

O gênero *Trachemys* possui ampla distribuição no mundo, ocorrendo desde a Argentina até o estado norte americano de Michigan (Ernst, 1990). Há, aproximadamente, 26 formas conhecidas e distribuídas em 15 espécies (Seidel, 2002). No entanto, a taxonomia deste gênero ainda é bastante confusa, sendo que algumas destas espécies e supostas subespécies só foram descritas na Mesoamérica (Legler, 1990), nas Antilhas (Seidel, 1988) e na América do Sul (Pritchard e Trebbau, 1984; Vanzolini, 1995).

T. adiutrix é a espécie do gênero descrita mais recentemente, apresentando sua distribuição restrita à zona litorânea entre os estados brasileiros do Maranhão e Piauí (Vanzolini, 1995; Batistella et al., 2008). No Maranhão, ela pode ser encontrada na Ilha de Curupu, no município de Raposa, e também nos Lençóis Maranhenses. Por se tratar de espécie com poucas informações sobre sua biologia e ecologia, e utilizada como recurso alimentar pela população local, é apontada por Vogt et al. (2001), em sua extensa revisão bibliográfica sobre os répteis da Amazônia, como sendo prioritária para estudos mais detalhados que subsidiem a implantação, em curto prazo, de um plano de manejo especial.

T. adiutrix é uma das 212 espécies de quelônios que estão incluídas na lista vermelha da IUCN (IUCN, 2008). Está classificada como em perigo de extinção, com grande risco de desaparecer num futuro próximo caso não haja implantação de um manejo especial para esses animais. Os agravantes para seu status de ameaça são sua área de ocorrência estimada em menos que 5.000 km², fragmentação do seu habitat e poucas informações sobre as áreas de vida da espécie. Esta estimativa baseia-se em observações diretas e projeções do declínio da área e da extensão de ocorrência e/ou na qualidade do habitat da espécie (TFTSG, 2008).

A sistemática e taxonomia do gênero *Trachemys* ainda são bastante mal resolvidas. Ernst et al. (2000) consideram que *T. adiutrix* pode ser uma subespécie de *Trachemys dorbigni*. Fritz & Havas (2007) sugeriram que o táxon descrito por Vanzolini (1995) pode ser uma população introduzida ou naturalmente isolada de *T. dorbigni*. Considerando que a resolução de incertezas taxonômicas, como a de *T. adiutrix*, é fundamental para o planejamento e execução de ações de manejo e conservação, neste trabalho objetivamos avaliar a sistemática molecular da espécie *T. adiutrix* da Ilha de Curupu, para tentar responder à seguinte pergunta: a espécie endêmica *T. adiutrix* residente na Ilha de Curupu é, na verdade, uma subespécie ou população isolada/introduzida de *T. dorbigni*? Devido à escassez de estudos moleculares sobre quelônios e mais precisamente sobre a espécie em questão, a pesquisa visa também com seus resultados implantar ações de manejo e

conservação mais adequados para que não haja extinção definitiva da espécie endêmica que habita Ilha de Curupu. Uma incorreta identificação taxonômica compromete os esforços de conservação, bem como ações de manejo mais adequadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram obtidos tecidos (sangue ou músculo) de trinta indivíduos identificados como *T. adiutrix*, coletados na Ilha de Curupu, no extremo norte da ilha do Maranhão, município de Raposa (02° 24'09" S; 44° 01'19" W) (Figura 1). A ilha está localizada no Golfão Maranhense, e compreende um sistema estuarino de formação pleisto-holocênica, configurado a partir de transgressões e regressões marinhas, que formaram grande quantidade de ilhas, apicuns, praias, falésias, canais de maré, planícies de maré, dunas moveis e fixas. (Ab'saber, 1960; Dias; Nogueira Júnior, 2005). Para captura, foram utilizadas armadilhas artesanais com iscas, que se assemelham às armadilhas de captura de lagostas (Rocha et al, 1997). As armadilhas foram colocadas em três diferentes lagoas eutróficas, sendo utilizada uma armadilha por lagoa durante dois dias consecutivos e retiradas a cada seis horas para contagem dos indivíduos. A licença de coleta e transporte das amostras foi concedida pelo IBAMA (No. 14078) e está protocolado no comitê de ética em pesquisa com animais (UFMA No. 005374/2010-0).

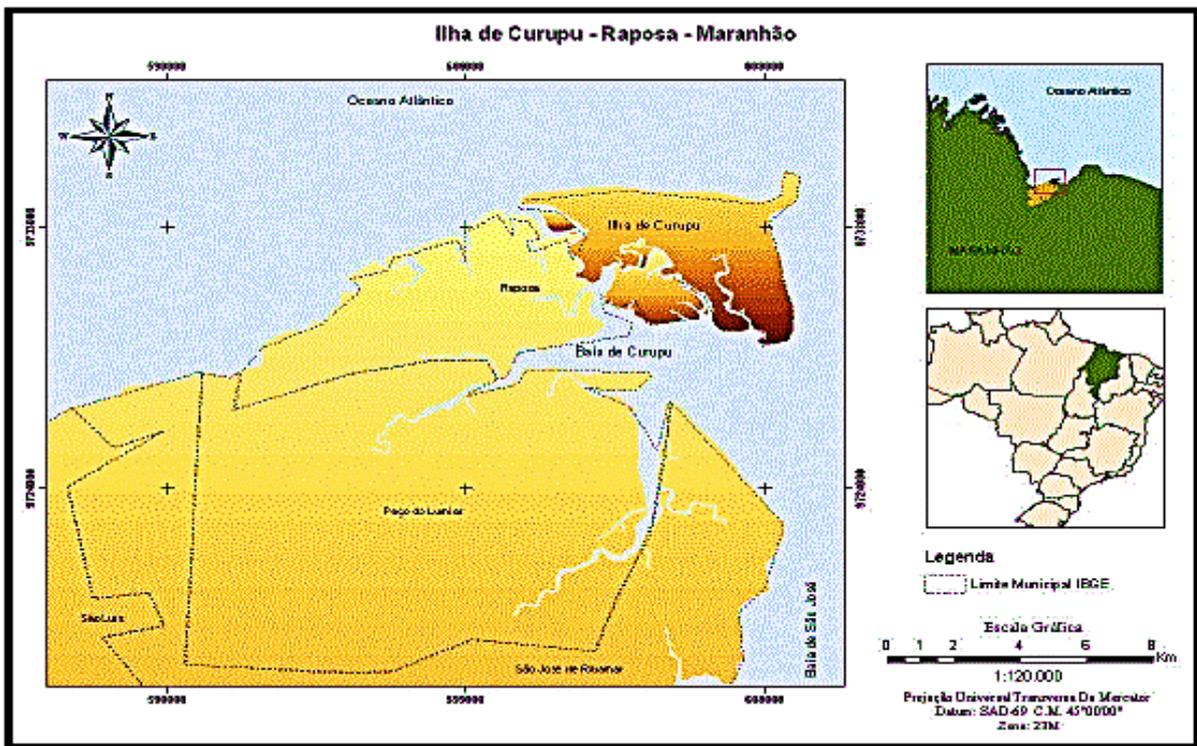


Figura 1: Localização da Ilha de Curupu-MA, onde foram coletadas amostras de tecido de *T. adiutrix*.
Fonte: (AZEVEDO,2010)

Primeiramente, foi realizada a assepsia do local de coleta de sangue utilizando-se água destilada e etanol 70%. Foi feita uma punção na veia subcarapacial, posicionada dorsal e superficialmente na base do crânio e lateralmente em relação à crista occipital. Após a coleta do sangue, foi realizada a assepsia do local com etanol 70% para prevenir infecções microbianas. Posteriormente, o sangue foi armazenado em tubos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e conservado na Coleção de Tecidos e Biomoléculas do Laboratório de Genética e Biologia Molecular, da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) (CCBS/DeBio).

As amostras de sangue tiveram seu DNA extraído de acordo com a metodologia desenvolvido por Lahiri & Nurnberger (1991). Os DNAs extraídos foram avaliados, quanto à sua qualidade e quantidade, por meio de eletroforese (30 min a 90 volts) em gel de agarose 1%, tratado com GelRed. Foi amplificado *in vitro*, por meio de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), o gene mitocondrial do Citocromo B. As ampliações tiveram um volume final de 25 µl contendo 50-200 ng/µl de DNA, 100 µM de dNTPs (dATP, dGTP, dCTP e dTTP), tampão 1x (Tris-HCl 200 mM, pH 8,4, e KCl 500 mM), 0,75 µM de cada *primer* (L Cytb 5'GCCTAAGAGCATCGGTCTTGTA 3'; H Cytb 5'GTCAGGACCATGCCTTTGTG 3')

1,5 mM de MgCl₂ e 1,5 U da enzima Taq polimerase (Go Taq Promega). As reações foram conduzidas em termociclador seguindo-se o programa de amplificação: 94 °C/2min, 35x (94 °C/ 30s, 55 °C/60s, 72°C/30s), 72°C / 5 min. Após a amplificação, os produtos de PCR foram submetidos a uma nova eletroforese para verificar seu sucesso.

Os produtos de PCR foram purificados mediante o uso de *kit* de purificação comercial e, depois, os fragmentos foram sequenciados em sequenciador automático ABI 3500.

As sequências foram alinhadas no CLUSTALW (Thompson et al., 1994), presente no programa BIOEDIT 5.0.9 (Hall, 1999). A qualidade do alinhamento foi inspecionada visualmente. O número de haplótipos e os índices básicos de diversidade genética foram obtidos no programa DNAsp (Rozas et al., 2004).

As distâncias genéticas (distância *p*) foram calculadas no programa MEGA versão 6.0 (Tamura *et al.*, 2011). Para as comparações, foram utilizadas sequências de *T. adiutrix* da localidade de Santo Amaro, nos Lençóis Maranhenses (Maranhão) e de outras espécies e subespécies do gênero disponíveis no GenBank (NCBI, National Center for Biotechnology Information). Uma árvore de máxima verossimilhança foi construída no programa MEGA, utilizando o método de *bootstrap* como medida de suporte estatístico dos nós.

RESULTADOS

Das 30 amostras obtidas, 18 amostras foram sequenciadas, e 13 sequências de boa qualidade foram utilizadas nas análises. Após edição para retirar as bases não confiáveis, resultou um fragmento de 351 pares de base. O polimorfismo permitiu a identificação de apenas um haplótipo, que é o mesmo encontrado nas sequências de *T. adiutrix* depositada no Genbank (Santo Amaro).

Na árvore filogenética, observa-se a formação de um grupo monofilético altamente apoiado (98), contendo as amostras da Ilha de Curupu junto com as sequências do Genbank de *T. adiutrix* oriundas da cidade de Santo Amaro, nos Lençóis Maranhenses (Figura 2). A distância genética os indivíduos coletados em Curupu e Santo Amaro foi zero, demonstrando que não há diferenças genéticas entre essas populações para este marcador.

As amostras de *T. adiutrix* também formam um clado altamente suportado (99) com as sequências de *T. dorbigni* disponíveis no GenBank. A distância genética entre *T. adiutrix* e *T. dorbigni* foi 1,2% (Tabela 1). A média interespecífica das distâncias genéticas

entre as espécies de *Trachemys* é de 4,9%, de modo que as diferenças entre *T. adiutrix* e *T. dorbigni* estão muito abaixo daquelas encontradas para outros pares de espécies desse gênero.

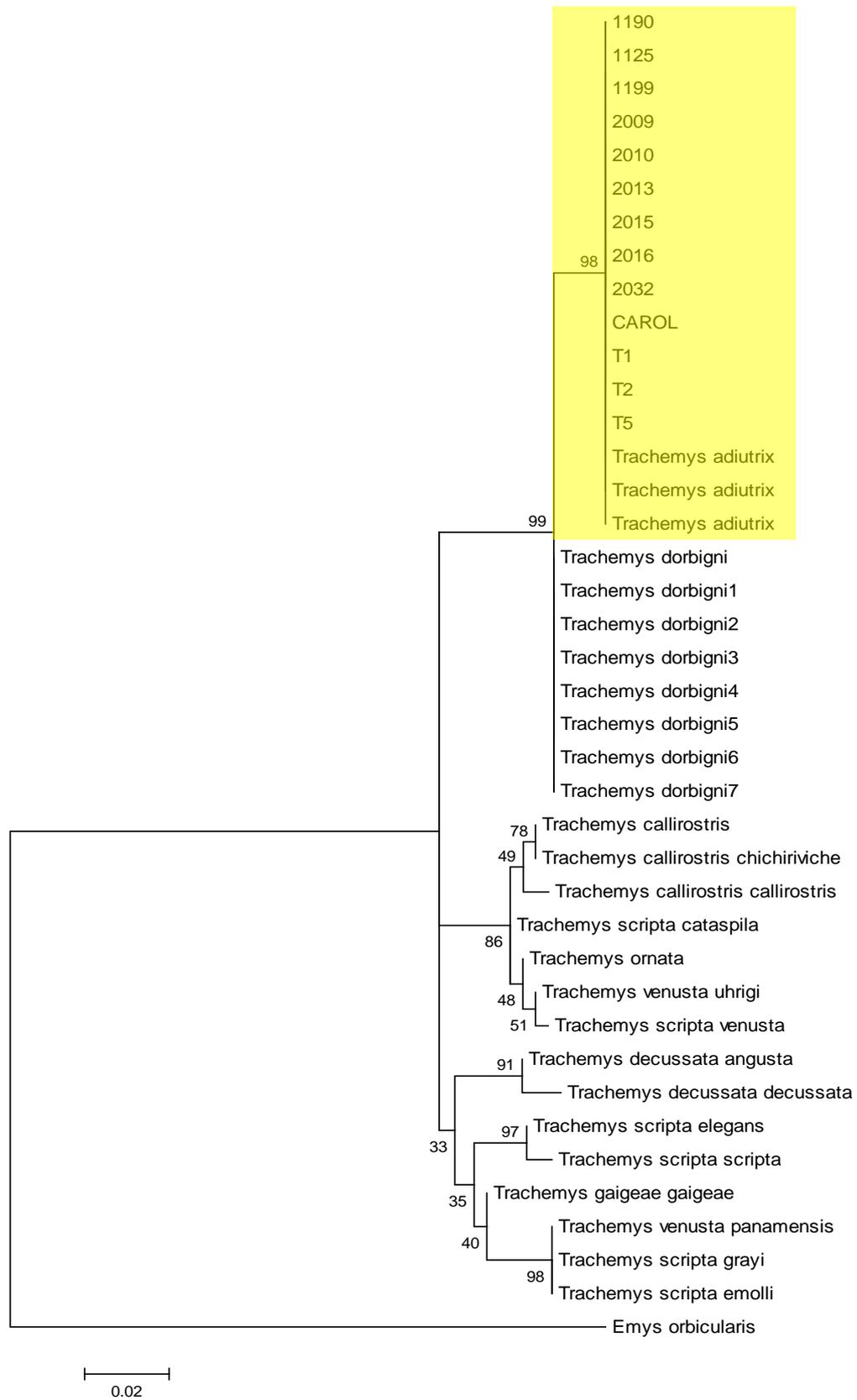


Figura 2: Filogenia molecular do gênero *Trachemys*, com base em uma sequência parcial do gene mitocondrial do Citocromo B, estimada pelo método de máxima verossimilhança e modelo de evolução Hasegawa- Kishino-Yano (HKY).

Tabela 1: Distância genética p par-a-par entre *T. adiutrix* e as outras espécies e subespécies do gênero.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>T. adiutrix</i> (1)																
<i>T. venusta_uhrigi</i> (2)	0,052															
<i>T. venusta_panamensis</i> (3)	0,052	0,037														
<i>T. scripta_grayi</i> (4)	0,052	0,037	0,000													
<i>T. scripta_cataspila</i> (5)	0,046	0,006	0,032	0,032												
<i>T. scripta_venusta</i> (6)	0,049	0,003	0,040	0,040	0,009											
<i>T. scripta_elegans</i> (7)	0,046	0,035	0,029	0,029	0,035	0,037										
<i>T. scripta_scripta</i> (8)	0,052	0,035	0,035	0,035	0,035	0,037	0,006									
<i>T. ornata</i> (9)	0,049	0,003	0,035	0,035	0,003	0,006	0,037	0,037								
<i>T. scripta_emoli</i> (10)	0,052	0,037	0,000	0,000	0,032	0,040	0,029	0,035	0,035							
<i>T. decussata_angusta</i> (11)	0,049	0,032	0,035	0,035	0,032	0,035	0,029	0,035	0,035	0,035						
<i>T. decussata_decussata</i> (12)	0,058	0,040	0,037	0,037	0,040	0,043	0,032	0,037	0,043	0,037	0,009					
<i>T. callirostris</i> (13)	0,046	0,012	0,032	0,032	0,006	0,009	0,040	0,040	0,009	0,032	0,037	0,046				
<i>T. callirostris_chichiriviche</i> (14)	0,046	0,012	0,032	0,032	0,006	0,009	0,040	0,040	0,009	0,032	0,037	0,046	0,000			
<i>T. callirostris_callirostris</i> (15)	0,049	0,014	0,040	0,040	0,009	0,012	0,043	0,043	0,012	0,040	0,040	0,049	0,009	0,009		
<i>T. gaigeae_gaigeae</i> (16)	0,043	0,026	0,014	0,014	0,026	0,029	0,014	0,020	0,029	0,014	0,020	0,023	0,032	0,032	0,035	
<i>T. dorbigni</i> (17)	0,012	0,043	0,043	0,043	0,037	0,040	0,037	0,043	0,040	0,043	0,040	0,049	0,037	0,037	0,040	0,035

DISCUSSÃO

O gênero de tartarugas *Trachemys* (Agassiz, 1857) representa um dos grupos de répteis americanos mais amplamente distribuídos. Várias espécies parapáticas podem ser encontradas em grande parte do norte da América Central e norte da América do Sul (Colômbia e Venezuela). Algumas espécies americanas ocorrem no nordeste do Brasil (estado de Maranhão) e na região do Rio da Prata (Brasil, Argentina, Uruguai). Quatro espécies adicionais vivem nas Índias Ocidentais (Seidel 1988, 2002, Fritz e Havas, 2007). Todas as espécies de *Trachemys* são aquáticas ou semiterrestres (predominantemente de água doce), de tamanho médio a grande e tendem a ser herbívoros, mas a maioria dos representantes do gênero são onívoros (Gibbons 1990; Gibbons *et al.* 1990; Ernst *et al.* 2000; Ernst e Lovich 2009). Os quelônios desse gênero podem ser caracterizados por um padrão de linhas na pele e pela cabeça rombuda (Pritchard, 1979). Possuem uma carapaça fortemente serrilhada e oval na parte posterior e plastrão amplamente entalhado (Ernst *et al.* 2000).

T. adiutrix é a espécie do gênero descrita mais recentemente, apresentando sua distribuição restrita à zona litorânea entre os estados brasileiros do Maranhão e Piauí (Vanzolini, 1995; Batistella *et al.*, 2008). No Maranhão, ela pode ser encontrada na Ilha de Curupu, no município de Raposa, e também nos Lençóis Maranhenses. Nossos dados mostraram que a classificação proposta por Vanzolini (1995) de *T. adiutrix* como espécie endêmica no Maranhão pode estar correta se se considerar que o processo de especiação tenha ocorrido há pouco tempo, o que explicaria a baixa divergência com *T. dorbigni*.

Por outro lado, a hipótese de Ernst *et al.* (2000) de que *T. adiutrix* pode ser uma subespécie de *T. dorbigni*, também não pode ser rejeitada, dado que a distância genética entre elas é compatível com as de outras subespécies de *Trachemys* (Tabela 2). Fritz *et al.* (2011) analisaram a filogenia, sistemática e biogeografia do gênero *Trachemys* baseado em dados moleculares, e redefiniram *T. adiutrix* como uma subespécie de *T. dorbigni*.

Da mesma forma, a ideia de Fritz & Havas (2007) de que *T. adiutrix* seja uma população naturalmente isolada de *T. dorbigni* também se sustentaria com base nos dados do Citocromo b. O que os dados não sustentam é que ela seja uma população de *T. dorbigni* introduzida, porque a distância genética entre elas não é compatível com um processo de introdução recente.

A sistemática e a filogenia do gênero *Trachemys* ainda são mal compreendidas. Para longo prazo, a maioria dos autores colocou a totalidade ou quase totalidade das populações do gênero em uma única espécie politípica (*T. scripta*, Moll e Legler 1971, Ernst 1990; Legler 1990; Ernst *et al.* 2000). Em contraste, atualmente, a maioria autores reconhece

até onze espécies politípicas adicionais, além de quatro espécies que já haviam sido caracterizadas como politípicas (Seidel 2002; Fritz e Havas 2007; Jackson et al. 2008; Rhodin et al. 2010; Wiens et al. 2010). Contudo, nenhuma das duas avaliações foi suficientemente testada. Jackson *et al.* (2008) utilizaram sequências de DNA mitocondrial (768 pares de base do gene ND4 , mais genes de RNAt) de 12 espécies e seis subespécies de *Trachemys* para reconstrução da filogenia do gênero, mas não incluíram espécies da América Central e do Sul (*T. ornata* e *T. adiutrix*, respectivamente) e representantes de gêneros norte-americanos evolutivamente próximos (*Graptemys*, *Malaclemys* e *Pseudemys*). Jackson et al. (2008) conseguiram apenas uma resolução fraca para a filogenia dos representantes sul-americanos de *Trachemys*. Dois outros trabalhos (Spinks et al., 2009; Wiens *et al.*, 2010) utilizaram mais genes em suas análises, mas menos taxa de *Trachemys* (quatro ou cinco, respectivamente) e obtiveram padrões de ramificação contraditórios.

Em contraste com os trabalhos citados acima (Spinks et al., 2009), Fritz *et al.*, (2011), utilizando sequências de DNAm e nuclear para a reconstrução da filogenia dos quelônios da família Emydidae (ao qual pertence o gênero *Trachemys*), sugerem um forte apoio à monofilia do gênero. A posição filogenética ocupada por tartarugas da América do Sul rejeita a hipótese de que a separação entre *T. adiutrix* e *T. dorbigni* possa ter alguma relação com a fragmentação da floresta Amazônica, embora os autores não descartem que *T. dorbigni* atravessasse pelo sul durante uma fase de fragmentação da floresta, que pode ter ocorrido antes do Pleistoceno. De acordo com a distribuição atual, parece provável que a onda de colonização que deu origem a *T. dorbigni* e *T. adiutrix* foi a primeira da América do Sul. De acordo com estimativas de tempo de divergência média a partir de cálculos do relógio molecular, *T. dorbigni* teria se ramificado entre 7,1 e 8,6 milhões de anos, enquanto a ramificação de *T. adiutrix* foi estimada em 1,92 e 2,28 milhões de anos.

Nos últimos anos, vários autores utilizaram distâncias genéticas estimadas a partir do gene Citocromo b mitocondrial para inferir ou corroborar com os estudos referentes à fronteiras entre espécies de quelônios (Vargas-Ramirez et al. 2010). Mas o que a maioria dos dados indica é que a delimitação de espécies que atualmente é aceita dentro do gênero *Trachemys* necessita de revisão. Acredita-se que uma distância de 1,5% seja suficiente para o reconhecimento de espécies (Fritz et al. 2011). Nosso trabalho, utilizando o gene mitocondrial Citocromo b, demonstrou uma distância de 1,2% entre *T. adiutrix* e *T. dorbigni*, corroborando, dessa forma, que *T. adiutrix* possa ser considerada como uma subespécie de *T. dorbigni*. Diferentemente de Fritz et al (2011), que utilizaram sequências apenas de Santo Amaro em suas análises, utilizamos além das sequências depositadas no GenBank (Santo

Amaro), sequências oriundas de indivíduos da Ilha de Curupu, que nunca havia sido analisados por marcadores genéticos antes.

T. dorbigni, popularmente conhecida como tigre d'água, é o quelônio mais abundante no Rio Grande do Sul e nos países vizinhos, incluindo o Uruguai e a Argentina. Ocupa uma grande variedade de ambientes, incluindo rios, lagos e zonas úmidas (Lema e Ferreira, 1990), podendo ser identificada por seu padrão de cor verde e amarelo listrado (mais intenso em fêmeas), seu focinho curto e pés com membranas interdigitais e unhas fortes (Ernst, 1990). Historicamente, muitas populações de *T. dorbigni* foram submetidas à intensa predação envolvendo a colheita de seus ovos e a captura de juvenis para suprir comércio de pets (Lema e Ferreira, 1990, Barco e Larriera, 1991; Bager et al., 2007). Logo, não se sabe ao certo atualmente as consequências práticas em suas populações naturais, ou seja, a área de distribuição atual dessa espécie ainda se encontra amplamente desconhecida (Molina e Gomes, 1998; Gonçalves et al. 2007).

T. adiutrix, popularmente conhecida como capininga ou pininga, é identificada por características como carapaça de coloração marrom com pouco contraste, padrão de cor normalmente mais alaranjado se comparada à *T. dorbigni*, e possuindo listras mais largas (Batistella, 2008). Para Vanzolini (1995), a espécie ocupa regiões de corpos d'água temporários e pode percorrer grandes distâncias na estação seca. Segundo Ely (2008), *T. adiutrix* se limita a regiões de dunas, principalmente, as que apresentam vegetação.

As populações de São Luís e de Santo Amaro, apesar de estarem isoladas geograficamente, são pertencentes ao mesmo taxon específico, pois a distância genética entre as localidades foi nula, descartando que essas populações possam vir a ser de taxons diferentes. Mesmo que *T. adiutrix* seja considerada uma subespécie ou população isolada de *T. dorbigni*, sua singularidade evolutiva foi demonstrada neste trabalho. Mesmo que seja demonstrado que ela não é uma espécie válida, ainda sim representaria uma fração singular da variação genética de *T. dorbigni* que está evoluindo independentemente no Maranhão, e que merece um manejo para conservação próprio. O uso de mais marcadores moleculares, estudos ecológicos e morfológicos podem ajudar a definir melhor a situação sistemática de *T. adiutrix*. Estas informações são extremamente relevantes, porque as relações de parentesco evolutivo podem guiar as regras de manejo e conservação para esta espécie/subespécie/população, que faz parte de um grupo de organismos importantes tanto economicamente quanto ecologicamente para os ecossistemas que habitam.

REFERÊNCIAS

Ab´Sáber Aziz Nacib.(1960). Contribuição á geomorfologia do estado do Maranhão. Notícia Geomorfológica. Campinas, v. 3 n. 5, p. 35-45.

Barco, D.M., Larriera, A. (1991): Sobre la validez de las subespecies de *Trachemys dorbigni* y su distribucion geográfica (Reptilia, Chelonia, Emydinae). Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral 22(2): 11-17.

Bager, A., Freitas, T.R.O., Krause, L. (2007): Nesting ecology of a population of *Trachemys dorbigni* (Emydidae) in southern Brazil. *Herpetologica* 63(1): 56-65.

Batistella, Alexandre Milaré. (2008).Biologia de *Trachemys adiutrix* (Vanzolini, 1995) (Testudines, Emydidae) No Litoral do Nordeste - Brasil. 2008. 94 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Amazonas,

Dias, Luiz Jorge Bezerra.(2006) Reflexões sobre geomorfologia, distribuição de ecossistemas costeiros e uso e ocupação do solo. Simpósio Nacional DE Geomorfologia (SINAGEO), 6, 2006. Goiânia. Anais... v. 02 (CD-ROM). Goiânia: UFG/Departamento de Geografia,. 11 p.

Ely, I. (2008). Padrão de atividade e deslocamento de *Trachemys adiutrix* Vanzolini, 1995 (Testudines: Emydidae) na região dos Pequenos Lençóis Maranhenses. Tese de Mestrado em andamento, curso de Biologia Animal. Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS.

Ernst, C. H. (1990). Systematics, taxonomy, variation and geographic distribution of the slider turtle. In: Gibbons, J. W. (ed). Life History and Ecology of the Slader Turtle. Smithsonian Institution Press, Washington, Dc. p. 57-67.

Ernst CH, Altenburg RGM, Barbour RW (2000) Turtles of the World. World Biodiversity Database, CD-ROM Series, Windows, Version 1.2. Biodiversity Center of ETI, Amsterdam, Netherlands.

Ernst CH, Lovich JE (2009) Turtles of the United States and Canada, 2nd edn. John Hopkins University Press, Baltimore, MD, xii + 827 pp.

Fritz, U. & Havas, P. (2007). Checklist of chelonians of the world. *Vertebrate Zoology* 57(2):149-368.

Fritz, Uwe et al. (2011). Molecular phylogeny of Central and South American slider turtles: implications for biogeography and systematics (Testudines). *Journal Of Zoological Systematics And Evolutionary Research*, [s.l.], v. 50, n. 2, p.125-136, 7 dez. 2011. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0469.2011.00647.x>.

Gibbons, J.W. (1990): The slider turtle, p. 3-18. In: J.W. GIBBONS (Ed.). *Life Story and Ecology of the slider turtle*. Washington, Smithsonian Institution Press, 368p.

Gonçalves, F.A., Cechin, S.Z., Bager, A. (2007): Predação de ninhos de *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron) (Testudines, Emydidae) no extremo sul do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 24(4): 1063–1070.

Hall T. A.. (1999), *Nucleic Acids Symposium Series*, Vol. 41 pp. 95-98. 2010_2 gthesis methods.

Jackson JT, Starkey DE, Guthrie RW, Forstner MRJ (2008) A mitochondrial DNA phylogeny of extant species of the genus *Trachemys* with resulting taxonomic implications. *Chelonian Conserv Biol* 7:131–135.

Lahiri DK, Nurnberger JR. II (1991) A rapid non enzymatic method for the preparation of HMW D human DNA blood for RFLP studies. *Nucleids Acids Res* 19:5444.

Legler, J. M. (1990). The genus *Pseudemys* in Mesoamerica: taxonomy, distribution and origins. In: Gibbons, J. W. (ed). *Life History and Ecology of the Slader Turtle*. Smithsonian Institution Press. Washington, Dc. p. 82-105.

Lema, T., Ferreira, M.T.S. (1990): Contribuição ao conhecimento dos testudines do Rio Grande do Sul (Brasil) – Lista Sistemática comentada (Reptilia). *Acta Biologica Leopoldensia* 12(1): 125-164.

Molina, F.B., Gomes, N. (1998): Incubação artificial dos ovos e processo de eclosão em *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) (Reptilia, Testudines, Emydidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 15: 135-143.

Moll EO, Legler JM (1971) The life history of a neotropical slider turtle, *Pseudemys scripta* (Schoepff), in Panama. *Bull Los Angeles Co Mus Nat Hist Sci* 11:1–102.

Pritchard, P. C. H., Trebbau, P. (1984). *The Turtles of Venezuela*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. *Contributions in Herpetology*. 403p.

Rhodin AGJ, van Dijk PP, Iverson JB, Shaffer HB (2010) Turtles of the world, 2010 update: annotated checklist of taxonomy, synonymy, distribution, and conservation status. *Chelonian Res Monogr* 5:000.85–000.164.

Rocha, C. A.; W. Franklin Junior; W. P. Dantas; M. F. Farias AND A. M. E de Oliveira. (1997). Fauna e flora acompanhantes da pesca da lagosta no Nordeste do Brasil. In: *Boletim Técnico-Científico CEPENE*, 5 (1): 15- 28.

Rozas, J., Sánchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X. and Rozas, R. (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.

Seidel, M. E. (1988). Revision of the West Indian emydid turtles (TESTUDINES). *American Museum Novitates*. 2918: 1-41.

Seidel, M. E.(2002). Taxonomic Observations on Extant Species and Subspecies of Slider Turtles, Genus *Trachemys*. *Journal of Herpetology*. 36:285-292.

Spinks PQ, Thomson RC, Lovely GA, Shaffer HB (2009) Assessing what is needed to resolve a molecular phylogeny: simulations and empirical data from emydid turtles. *BMC Evol Biol* 9:56.

Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M.; Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*,28: 2731-2739.

Thompson, J.D.; Higgins, D.G.; Gibron, T.J. (1994). Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Research*, 22: 4673-4680.

Vanzolini, P. E. (1995). A new species of turtle, genus *Trachemys*, from the of Maranhão, Brazil (TESTUDINES, EMYDIDAE). *Rev. Brasil. Biol.*, 55:111-125.

Vargas-Ramírez M, Maran J, Fritz U (2010a) Red- and yellow-footed tortoises (*Chelonoidis carbonaria*, *C. denticulata*) in South American savannahs and forests: do their phylogeographies reflect distinct habitats? *Org Divers Evol* 10:161–172.

Vogt, R. C. (1981). Food partitioning in three sympatric species of map turtle, genus *Graptemys* (Testudinata, Emydidae). *Am. Mid. Nat.* 105:102-111.

Wiens JJ, Kuczynski CA, Stephens PR (2010) Discordant mitochondrial and nuclear gene phylogenies in emydid turtles: implications for speciation and conservation. *Biol J Linn Soc* 99: 445–461.

