

Universidade de Lisboa

Faculdade de Ciências

Departamento de Biologia Animal



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

**Programa de *headstarting* de *Emys orbicularis* em Portugal:
avaliação da qualidade dos juvenis**

Ana Margarida Subtil de Carvalho

Dissertação

Mestrado em Biologia da Conservação

2015

Universidade de Lisboa

Faculdade de Ciências

Departamento de Biologia Animal



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

**Programa de *headstarting* de *Emys orbicularis* em Portugal:
avaliação da qualidade dos juvenis**

Ana Margarida Subtil de Carvalho

Dissertação

Mestrado em Biologia da Conservação

Orientadores:

Doutor Rui Rebelo

Dra. Fábica Azevedo

2015

“Behold the turtle. He makes progress only when he sticks his neck out.”

James Bryant Conant

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar à minha mãe por todas as oportunidades e apoio que me deu ao longo desta longa jornada, pelos sacrifícios e por nunca ter desistido de mim.

A ti, pai, que não estando a meu lado sempre tiveste presente.

À minha irmã por todo o apoio, força, paciência e horas passadas no Skype a ensinar-me maravilhas do Excel, do SPSS e até do Word.

Ao meu namorado e principalmente amigo, pelo apoio incondicional, compreensão, ajuda e pela força nos momentos de maior stress...e de menor também.

Agradeço à família Gameiro pelo apoio que sempre me deram a nível académico e pessoal.

A toda a equipa do RIAS que esteve presente durante estes anos sempre pronta a ajudar, mas também pelo ânimo, companheirismo, paciência e risadas.

Agradeço ao Bruno Herlander Martins por todo o apoio, aprendizagem e paciência.

Agradeço ao João Nascimento, a Sławomir Mitrus, a Anne-Claire Meeske, a Christina Davy e a Balázs Farkas por toda a ajuda e disponibilização de artigos científicos.

Á minha orientadora externa e amiga, Fábria Azevedo por me ter incentivado a trabalhar com este projecto e por todo o apoio durante estes anos, principalmente durante a orientação da tese.

Ao meu orientador, Rui Rebelo, pela eterna paciência, por estar sempre presente, pelo apoio incansável e principalmente por tudo o que me ensinou não só para este trabalho, mas que ficará por toda a minha carreira.

A todos os restantes amigos e família, pelo incentivo e apoio incondicional.

Participações no âmbito deste estudo

Carvalho, A. M., Rebelo R., Azevedo F., Martins B. H., Tomás A., Valkenburg T., Cotão A., Machado S. (2014) “*Emys orbicularis* captive breeding: a successful tool for population reinforcement?”. Sessão de *posters* no XIII Congresso Luso-Espanhol de Herpetologia, Universidade de Aveiro.

Carvalho, A. M., Rebelo R., Azevedo F., Martins B. H., Tomás A., Valkenburg T., Cotão A., Machado S. (2014) “*Emys orbicularis* captive breeding: a successful tool for population reinforcement?”. Sessão de *posters* no III Congresso Internacional FAUNA, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

A redacção desta dissertação não segue as regras do Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa de 1990.

As citações e referências bibliográficas efectuadas ao longo da dissertação encontram-se de acordo com as normas da revista *Conservation Biology*.

Índice

Agradecimentos	v
Participações no âmbito deste estudo	vii
Índice de Tabelas	xi
Índice de Figuras	xiii
Resumo	xv
Abstract.....	xvii
1. Introdução.....	1
1.1. Ameaças à biodiversidade	1
1.2. Conservação <i>ex situ</i>	1
1.2.1. <i>Headstarting</i> em répteis	3
1.2.2. Problemas específicos em tartarugas.....	4
1.3. Avaliação de <i>fitness</i> em animais de cativeiro	5
1.3.1. Índices de condição morfológica, anatómica e fisiológica	8
1.3.2. Índices de condição física	9
1.3.2.1. Reposicionamento	11
1.3.2.2. Velocidade e Resistência	12
1.4. Caso de estudo	12
1.4.1. A espécie <i>Emys orbicularis</i>	12
1.4.1.1. Conservação	16
1.5. Objectivos	19
2. Metodologia.....	21
2.1. Área de estudo	21
2.1.1. Lagoa de São Lourenço (LSL)	24
2.1.2. Quinta de Marim	25
2.2. Fêmeas utilizadas	26
2.3. Captura de neonatos selvagens	27
2.4. Manutenção de todos os neonatos.....	28
2.5. Parâmetros biométricos.....	29
2.5.1. Crescimento dos neonatos nascidos em cativeiro	29
2.6. Anomalias da carapaça	30
2.7. Testes de condição física	31
2.7.1. Teste de Reposicionamento.....	32

2.7.2. Teste de Corrida	33
2.8. Análise das imagens e filmes	34
2.9. Análise de dados	35
2.10. Tratamento estatístico	36
3. Resultados.....	39
3.1. Caracterização dos grupos experimentais.....	39
3.2. Anomalias	42
3.3. Testes de condição física	44
3.3.1. Repetibilidade individual	45
3.4. Comparação entre o grupo I e o grupo II.....	45
3.5. Comparação entre dias de jejum	46
3.6. Comparação entre o grupo I e o grupo III.....	50
4. Discussão	53
4.2. Índices de condição corporal	54
4.2.1. Comparação entre o grupo I e II.....	54
4.2.2. Comparação entre o grupo I e III	60
4.3. Índices de condição física	60
4.3.1. Repetibilidade individual	60
4.3.1.1. Teste de Reposicionamento	60
4.3.1.2. Teste de Corrida.....	61
4.3.2. Comparação entre o grupo I e II.....	64
4.3.3. Comparação entre dias de jejum	66
4.3.3.1. Tempo de latência.....	66
4.3.3.2. Tempo de reacção e Número de paragens	67
5. Considerações finais	69
6. Referências bibliográficas	73
Anexos.....	91

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Valores agrometeorológicos da estação de Faro para as três dezenas dos meses de Julho, Agosto, Setembro e Outubro de 2013	23
Tabela 2 – Número de identificação, data de captura, dados biométricos e data de postura das fêmeas grávidas capturadas em 2013.	39
Tabela 3 – Valores biométricos registados para os grupos de neonatos I e II.....	40
Tabela 4 – Valores biométricos registados para o grupo III.....	41
Tabela 5 – Correlação entre as três principais biometrias dos indivíduos do grupo I... ..	41
Tabela 6 – Correlação entre as três principais biometrias dos indivíduos do grupo II, neonatos selvagens.	42
Tabela 7 – Correlação entre as três principais biometrias dos indivíduos do grupo III. ..	42
Tabela 8 – Correlação das principais biometrias dos indivíduos, entre os zero e os seis meses de idade.	50
Tabela 9 – Relação entre o comprimento e a velocidade máxima dos indivíduos de cativeiro, entre os zero e os seis meses de idade.	52
Tabela 10 – Parâmetros biométricos de neonatos de diferentes populações de <i>Emys orbicularis</i>	56
Tabela 11 – Percentagem de indivíduos com anomalias e tamanho da amostra, por classe etária e/ou sexo, registados em diferentes populações europeias de <i>Emys orbicularis</i>	59

Índice de Figuras

Figura 1 – Localização geográfica do Parque Natural da Ria Formosa	21
Figura 2 – Diagrama ombrotérmico referente à estação meteorológica de Faro/Aeroporto no período de 1958/59 – 1988	22
Figura 3 – Localização da Lagoa de São Lourenço e do Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens - RIAS.....	24
Figura 4 – Aspecto da Lagoa de São Lourenço.....	24
Figura 5 – Aspecto da Quinta de Marim.	25
Figura 6 – Instalação exterior para reprodução de <i>E. orbicularis</i>	26
Figura 7 – Manilha de água onde foi capturada a grande maioria dos neonatos selvagens.....	28
Figura 8 – Condições de manutenção dos neonatos de <i>E. orbicularis</i>	29
Figura 9 – Esquema representativo das biometrias obtidas para cada indivíduo	29
Figura 10 – Esquema demonstrativo da estrutura típica do espaldar e do plastrão para <i>E. orbicularis</i> , e disposição característica das respectivas placas.....	30
Figura 11 – Estrutura construída para a realização dos testes de condição física.	32
Figura 12 – Imagem do teste de reposicionamento, fase de latência.	33
Figura 13 – Fotos sucessivas do mesmo neonato durante um ensaio de corrida.....	33
Figura 14 – Esquema explicativo da análise de vídeo feita a cada ensaio	34
Figura 15 – Esquema ilustrativo da obtenção dos ângulos de cada movimento.	35
Figura 16 – Percentagem de indivíduos com 0 a 3 anomalias cada, por grupo de neonatos.....	43
Figura 17 – Tipo de anomalias encontradas (percentagem e número) em cada grupo de neonatos.....	44
Figura 18 – Exemplos de anomalias registadas.....	44
Figura 19 – Comparação entre os valores de tempo de latência registados para os grupos I e II (médias estimadas).....	46
Figura 20 – Comparação entre os valores de tempo de latência registados ao nono e décimo dia de jejum.....	47
Figura 21 – Comparação entre os valores de tempo de reacção registados ao nono e décimo dia de jejum.....	48
Figura 22 – Comparação entre os números de paragens entre o nono e décimo dia de jejum.....	49
Figura 23 – Repetibilidade individual a médio prazo.....	51

Resumo

O Cágado-de-carapaça-estriada (*Emys orbicularis*) está classificado em Portugal com estatuto de “Em perigo”. No âmbito do projecto LIFE+Trachemys “Estratégias e técnicas demonstrativas para a erradicação de cágados invasores” (LIFE09 NAT/ES/000529), iniciou-se pela primeira vez em Portugal um programa de *headstarting* para esta espécie, sendo o Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens (RIAS) um dos responsáveis por esta acção.

Neste sentido, torna-se fundamental perceber qual a influência que os métodos adoptados para a incubação e criação em cativeiro poderão ter na condição dos indivíduos, o que terá importância para a sua sobrevivência na natureza após libertação. O objectivo deste estudo foi comparar as condições morfológicas e de *performance* dos animais nascidos em cativeiro com a de animais nascidos no estado selvagem, bem como avaliar se as condições dos primeiros se mantêm após seis meses de cativeiro.

As fêmeas grávidas foram capturadas e mantidas em instalações próprias até à postura dos ovos, que foram incubados em condições seminaturais (numa zona exposta às condições climáticas exteriores, numa área com cerca de 50% de exposição solar, 40% de sombra, 10% de água, e alguma vegetação rasteira) em que apenas a humidade do solo foi regulada. Estudaram-se três grupos diferentes de indivíduos. Os neonatos nascidos em cativeiro durante o Inverno de 2013 (N=18), os neonatos que emergiram na primavera na natureza (N=12), e ainda os indivíduos do primeiro grupo, mas mais tarde, com cerca de 6 meses de idade. Além das análises morfológicas realizaram-se dois testes de *performance* locomotora: (1) Reposicionamento (tempo que o indivíduo demora a voltar à posição normal, quando colocado de carapaça para baixo) e (2) Corrida (avaliando o tempo de reacção para fuga e as velocidades atingidas), ao nono e décimo dias de jejum, com dois ensaios a cada dia.

Não se encontraram quaisquer perturbações no desenvolvimento e crescimento dos neonatos e juvenis, sustentado pelas taxas de crescimento e dimensões corporais adequadas para a espécie. O tipo de locomoção mais frequente foi a intermitente, provavelmente para recuperação de resistência física e detecção de estímulos externos. Observou-se a existência de aprendizagem ao longo dos ensaios, para ambos os grupos

de neonatos, no entanto sem indícios de habituação/domesticação. No geral, não se encontram diferenças de qualidade entre os grupos de neonatos.

As medidas relativas de velocidade e de orientação mantiveram-se ao fim de seis meses independentemente dos factores morfológicos, sugerindo a existência de uma componente genética forte para a *performance* individual. A curto e a médio-prazo apenas essas medidas de *performance* relativas à corrida foram repetíveis, indicando que esta será um índice mais fidedigno que a reposição.

Sem diminuir a importância e necessidade da coordenação com acções de conservação *in situ*, é possível concluir que o tipo de programa de *headstarting* aplicado pode ser considerado uma ferramenta de sucesso quando o intuito é aumentar populações em decréscimo numa determinada área e cuja conservação é essencial.

Palavras-chave: Cágado, Life+Trachemys, Conservação *ex situ*, Incubação seminatural, *Performance*, *Fitness*.

Abstract

The European pond turtle (*Emys orbicularis*) is classified as Endangered (EN) in Portugal. For the first time in Portugal, during the LIFE+Trachemys project “Demonstration strategy and techniques for the eradication of invasive freshwater turtles” (LIFE09 NAT/ES/000529), there was a captive breeding program for *E. orbicularis*, being the Wildlife Rehabilitation and Investigation Centre of the Ria Formosa (RIAS) one of the responsible entities for this action.

To understand the effects that the adopted incubation and subsequent rearing techniques may have on the hatchlings conditions is important when evaluating their survival prospects once released back in nature. The aim of this study was to compare the morphological and performance conditions of the animals born under captive breeding with that of the ones born in the wild, as well as the conditions of the former after six months of captive rearing.

Pregnant females were captured and maintained in facilities until the eggs were laid. Those were incubated in semi-natural conditions (in an outdoors enclosure, in an area with about 50% of solar exposure, 40% of shadow, 10% standing water and some shrubs) in which only the soil humidity was regulated. Three different groups of individuals were studied. First, the hatchlings born in captivity during the winter of 2013 (N=18), second the hatchlings born in nature during the 2014 spring emergence of 2014 (N=12), and finally the first group individuals, evaluated later, when they were 6 months old. In addition to the morphological analysis two performance tests were conducted: (1) Righting reflex (the time a hatchling placed on its back takes to right itself) and (2) Sprinting (the time during which the hatchling reacted and escaped, as well as the velocities it reached), at the ninth and tenth days of fasting, with two trials each day.

No disturbances in the development and growth of the neonates and juveniles were found, supported by the suitable growth rates and body size for the species. The most frequent locomotion type was the intermittent one, probably for endurance recovery and detection of external stimuli. We observed the existence of learning throughout the trials, for both newborns groups, but no habituation/domestication signs. Overall, there were no quality differences between hatchling groups.

Sprinting and orientation were repeatable after six months, with no correlations with individual morphology, suggesting a strong genetic component behind individual

performance. Short and medium-term rank repeatability were only found for the measurements related to the sprint test, suggesting that sprint proxies might be more reliable than the righting ones.

In spite of the importance and the need for coordination with *in situ* conservation actions, it is possible to infer that the applied headstarting program can indeed be considered a successful tool when the aim is to reinforce populations that are decreasing in a certain area in which conservation is crucial.

Keywords: Freshwater turtle, Life+Trachemys, *Ex situ* conservation, Semi-natural incubation, Performance, Fitness.

1. Introdução

1.1. Ameaças à biodiversidade

Os répteis são um grupo diversificado de animais adaptados à maioria dos ambientes terrestres e aquáticos. São fundamentais nos sistemas naturais que integram e desempenham serviços valiosos como predadores, presas, polinizadores, herbívoros, controladores de pragas e espécies comensais, funcionando como bioindicadores para um ecossistema saudável (Cox *et al.* 2006; Vitt & Caldwell 2009).

Os répteis encontram-se em declínio à escala mundial e estima-se que cerca de 19% se encontre ameaçado. Em particular, as tartarugas estão entre os vertebrados mais ameaçados do mundo, com um risco de extinção apenas comparável ao grupo dos primatas (Turtle Conservation Coalition 2011). Das 331 espécies de tartarugas actualmente existentes, cerca de 155 (46,8%) são consideradas ameaçadas. Estima-se que 30% dos répteis de água doce estejam ameaçados de extinção, sendo que esta percentagem sobe para 50% quando se considera apenas as espécies de tartarugas de água doce (Buhlmann *et al.* 2009; Turtle Conservation Coalition 2011).

A maturação sexual tardia, a elevada fecundidade associada à mortalidade juvenil alta, e a elevada longevidade aliada à baixa mortalidade dos adultos, juntamente com a estreita especificidade de nicho e de distribuição que muitas espécies apresentam, torna este grupo de répteis mais vulnerável a ameaças, principalmente antropogénicas (Turtle Conservation Coalition 2011; Böhm *et al.* 2013). A fragmentação e degradação de habitat é o factor de ameaça com maior impacto nos répteis. A exploração de recursos naturais (captura, *logging*, entre outros), o desenvolvimento urbano, a poluição, a introdução de espécies invasoras e as doenças, são outras das ameaças mais comuns. Para as tartarugas marinhas e de água doce, a perda de habitat, a poluição, a aquacultura intensiva e a captura de forma insustentável para, por exemplo comercialização, medicina tradicional e alimentação são as ameaças mais significativas (Gibbons *et al.* 2000; Vitt & Caldwell 2009; Böhm *et al.* 2013).

1.2. Conservação *ex situ*

A melhor estratégia para a preservação da diversidade biológica é a gestão das espécies na Natureza, a conservação *in situ*. No entanto, muitas espécies necessitam actualmente da intervenção humana, mesmo que temporária, para uma gestão adequada

dos efectivos mantidos fora do ambiente natural de modo a garantir a respectiva sobrevivência, a conservação *ex situ* (Primarck 2010).

Em 1987, a IUCN (International Union for Conservation of Nature) recomendou programas de conservação *ex situ* para populações naturais com menos de 1000 indivíduos (Ebenhard 1995; Hussain 1999; Griffiths & Pavajeau 2008; Vitt & Caldwell 2009). As acções de conservação *ex situ* dividem-se em dois tipos principais: (i) Reservatório e gestão de diversidade genética; (ii) Reprodução e criação de animais em cativeiro para reintrodução ou reforço populacional (Silva *et al.* 2011).

A reprodução em cativeiro de espécies ameaçadas e a sua reintrodução no ambiente natural têm aumentado nas últimas décadas, simultaneamente com o desenvolvimento de novas tecnologias e protocolos (Ebenhard 1995; Griffiths & Pavajeau 2008; Vitt & Caldwell 2009).

Os programas de *headstarting* são uma abordagem da conservação *ex situ* que consiste na criação de indivíduos nascidos em cativeiro, através da reprodução de adultos ou através da captura de ovos e/ou crias na natureza, sendo depois libertados na natureza após ultrapassarem a idade em que a probabilidade de sobrevivência no meio natural é menor (Mitrus 2005, 2008). Estes programas aplicam-se à conservação de vários grupos de animais (Silva *et al.* 2011; UNEP-WCMC 2011). Diversos projectos de reforço populacional ou reintrodução tiveram como objecto espécies de peixes, através da reprodução de adultos e libertação de juvenis na natureza, como por exemplo a reintrodução do Savél (*Alosa alosa*) no Rio Reno (LIFE06/NAT/D/000005) ou o reforço da população do Esturção-Adriático (*Acipenser naccarii*) no Rio Ticino no norte da Itália (LIFE03 NAT/IT/000113) (Silva *et al.* 2011). O mesmo tipo de acção foi realizado em espécies de anfíbios, como o Sapo-de-barriga-de-fogo (*Bombina orientalis*), espécie alvo de vários projectos de reprodução e introdução na Letónia, onde mais de 25000 indivíduos foram criados e libertados (LIFE04 NAT/LV/000199, LIFE04 NAT/DE/000028, LIFE09 NAT/LV/000239) (Silva *et al.* 2009, 2011; Vitt & Caldwell 2009). As aves são um dos grupos com maior número de projectos que incluem a reprodução em cativeiro e reintrodução na natureza. Um caso notável é o do Caimão (*Porphyrio porphyrio*) cujo estatuto de conservação em Portugal mudou de Ameaçado para Vulnerável, como resultado final de um projecto de reprodução e reintrodução de um pouco mais de cem indivíduos (LIFE98 NAT/P/005267) (Silva *et al.* 2011). A reprodução *ex situ* tem tido um papel igualmente fundamental no caso de invertebrados ameaçados por poluição aquática ou pelo decréscimo de populações das

espécies de peixes que parasitam para completar o seu ciclo de vida, como é o caso do Mexilhão-de-rio (*Margaritifera margaritifera*) ou do Mexilhão-de-rio-pequeno (*Unio crassus*), espécies-alvo de projectos de sucesso que têm criado e libertado milhares de indivíduos em diversos rios da Europa, reforçando consideravelmente as suas populações (LIFE02 NAT/D/008458, LIFE05 NAT/L/000116) (Silva *et al.* 2011). Perante o declínio acentuado e a grande multiplicidade de ameaças que enfrentam, os répteis são um dos grupos que mais tem beneficiado de medidas de conservação *ex situ* para a sobrevivência de variadas espécies. O Lagarto-gigante-de-La-Gomera (*Gallotia bravoana*), o Gavial (*Gavialis gangeticus*), a Víbora-dos-prados-da-Hungria (*Vipera ursinii rakosiensis*), a Tartaruga-de-Kemp (*Lepidochelys kempii*), a Tartaruga-mediterrânica (*Testudo hermanni*) e o Cágado-de-carapaça-estriada (*Emys orbicularis*) são apenas alguns exemplos entre as dezenas de espécies de répteis em perigo que foram alvo de programas de *headstarting* bem-sucedidos no objectivo de reintroduzir populações, aumentar efectivos ou assegurar a manutenção das populações já existentes (Silva *et al.* 2009, 2011; Vitt & Caldwell 2009).

1.2.1. *Headstarting* em répteis

O Crocodilo-de-Orinoco (*Crocodylus intermedius*) tem sofrido um declínio acentuado desde os anos 30 principalmente devido ao aumento da indústria das peles e o seu estatuto de conservação é Criticamente em Perigo (Seijas *et al.* 2010; UNEP-WCMC 2011; Merchán *et al.* 2012). Uma das primeiras iniciativas para a sua conservação foi o primeiro programa de reprodução em cativeiro da espécie em 1977 (Merchán *et al.* 2012), justificado devido à elevada taxa de mortalidade juvenil. Os ovos recolhidos na natureza ou de cativeiro são incubados em centros próprios e as crias são mantidas até alcançarem pelo menos 80 cm de comprimento, tamanho que aumenta a probabilidade de sobrevivência destes indivíduos no meio natural (Merchán *et al.* 2012). Entre 2006 e 2007 foi confirmado que no local onde a população tinha sido considerada extinta existia agora uma população de 400 indivíduos, sendo o primeiro caso registado do estabelecimento de uma população na natureza exclusivamente originária de reprodução em cativeiro, provando o sucesso desta medida de conservação para a herpetofauna (Merchán *et al.* 2012).

Existem procedimentos comuns nos programas de reprodução em cativeiro de répteis, tais como: (1) Definir metodologias para a recolha dos indivíduos para os programas de reprodução, (2) Estabelecer uma localização para as instalações da reprodução em cativeiro, seguido da construção de estruturas que repliquem os habitats naturais, tanto quanto possível, (3) Estabelecer metodologias de reprodução, (4) Avaliar e pesquisar locais para reintrodução futura, (5) Restaurar e/ou manter os locais de reintrodução e (6) Monitorizar os indivíduos reintroduzidos (Silva *et al.* 2009).

O insucesso de um programa de conservação *ex situ* pode ter origem em problemas que decorrem durante pelo menos um dos procedimentos acima mencionados. Ao primeiro ponto estão geralmente associadas as escolhas dos indivíduos reprodutores, que devem garantir a maior variabilidade genética possível e a redução de *inbreeding*, um dos principais desafios nos casos em que a população fundadora é demasiado pequena (Ebenhard 1995; Hedrick & Kalinowski 2000; Silva *et al.* 2009). O segundo e terceiro pontos são relativos à implementação e praticabilidade da reprodução e estão intrinsecamente ligados ao conhecimento sobre o ciclo de vida da espécie, os hábitos, necessidades e comportamentos, principalmente de reprodução. A dificuldade em replicar as condições do meio natural e em compreender as necessidades das espécies, em instalações de cativeiro, pode resultar em fracassos a curto-prazo como a não reprodução dos adultos ou a inviabilidade das posturas, ou a longo-prazo, como a reintrodução de uma população que mais tarde se prova ser inviável pela falta de comportamentos naturais essenciais para o incremento populacional (Warwick 1990b; Snyder *et al.* 1996; Kraaijeveld-Smit *et al.* 2006; Alberts 2007). Os pontos 4 e 5 prendem-se principalmente com a conservação *in situ*, e as suas falhas estão fortemente relacionadas com as causas para o declínio das populações-alvo, pois muitas vezes o habitat já não existe ou encontra-se demasiado destruído, e localizar um habitat adequado para a população que possua os recursos necessários à sua manutenção, sem desequilibrar o ecossistema onde a reintrodução terá lugar, é tão difícil quanto fundamental.

1.2.2. Problemas específicos em tartarugas

Os programas de *headstarting* são uma ferramenta usada com frequência na conservação de tartarugas marinhas e de água doce. A aplicação de programas de *headstarting* ao grupo das tartarugas tem inerentes dificuldades que podem pôr em

causa a sua praticabilidade e o seu sucesso. O insucesso pode estar relacionado com diferentes fases do programa e está normalmente associado à falta de informação sobre as condições óptimas de reprodução da espécie e a dificuldade em replicar as condições naturais que respondem às necessidades da espécie (Dodd & Seigel 1991). Os problemas a curto-prazo são na sua maioria: a) O manuseamento e transporte de posturas que, quando necessários, podem aumentar o risco de mortalidade dos neonatos (Tisdell & Wilson 2003; Jaffé *et al.* 2008); b) O desequilíbrio acentuado no ratio de fêmeas e de machos eclodidos, relacionado com o substrato e condições de temperatura e humidade durante a incubação das posturas (Tisdell & Wilson 2003); c) O aparecimento de doenças relacionadas com o cativeiro que advêm da dificuldade de fornecer condições semelhantes às da natureza, principalmente no que toca a uma alimentação equilibrada e adequada (Philippart 1995; Snyder *et al.* 1996); d) Domesticação (Snyder *et al.* 1996; Bowkett 2009); e) Ferimentos, ou morte, associados a comportamentos agressivos que aumentam em indivíduos que estão em cativeiro, submetidos a espaços inadequados (Warwick 1990b); f) Perda de mecanismos de *imprinting* que ocorrem nos nascimentos na natureza. Este problema é importante principalmente em tartarugas marinhas, pois julga-se que este mecanismo é responsável pelo regresso das fêmeas adultas à mesma praia de onde eclodiram, para desovar (Pritchard 1980; Dodd & Seigel 1991); g) Inibição da expressão de comportamentos (Warwick 1990a, 1990b) e perda de comportamentos naturais por falta de adaptação dos animais antes de serem libertados, resultando na incapacidade dos mesmos de lidar com os desafios do meio selvagem (Alberts 2007; Germano & Bishop 2009);

1.3. Avaliação de *fitness* em animais de cativeiro

O crescente número de projectos de reintrodução de espécies ameaçadas estimulou igualmente o aumento de novos modelos metodológicos e de estudos experimentais para melhorar a aplicabilidade da biologia da reintrodução na conservação *ex situ* (Seddon *et al.* 2007; Lipsey & Child 2007; Armstrong & Seddon 2008; Griffiths & Pavajeau 2008). Em grande parte, o sucesso ou fracasso de programas de conservação depende do nível de compreensão da etologia da espécie e/ou população (Sutherland 1998) e como referido anteriormente, muitos dos problemas a curto e longo prazo dos programas de *headstarting* relacionam-se com o comportamento (ex.: Warwick 1990a, 1990b; Alberts 2007; Germano & Bishop 2009); no entanto, a

investigação de comportamentos em répteis de cativeiro tem sido descuidada e avaliações que descrevam os possíveis efeitos dos ambientes artificiais nos répteis são pouco frequentes, principalmente pela dificuldade em reconhecer quais os comportamentos anormais e pela adaptabilidade ao cativeiro ser, aparentemente, maior no caso dos répteis (Warwick 1990a, 1990b; Connolly & Cree 2008; Burghardt 2013).

A necessidade de melhorar estas avaliações deve-se maioritariamente ao considerável ceticismo em relação à competência, no habitat natural, dos animais criados em cativeiro. Isto apesar de a maioria dos répteis não necessitar de cuidados parentais e apresentar um leque de comportamentos aparentemente inatos (Warwick 1990b; Alberts 2007). Este ceticismo prende-se com o *headstarting* poder ser bem-sucedido no sentido demográfico, mas os animais criados em cativeiro poderão apresentar uma competência comportamental insuficiente à sua sobrevivência e reprodução em meio natural (Alberts 2007; Seddon *et al.* 2007).

Essencialmente os indivíduos devem, no mínimo, estar capacitados para encontrar abrigo, adquirir recursos alimentares adequados, evitar predação, locomoverem-se eficazmente no seu território natural e interagir adequadamente com os seus conspécíficos (Kraaijeveld-Smit *et al.* 2006; Alberts 2007; Seddon *et al.* 2007; Ralls & Ballou 2013). A ausência de desafios naturais no ambiente de cativeiro pode inibir o desenvolvimento de comportamentos adequados, ou a expressão de respostas inatas, durante o período de *headstarting*, colocando-os em perigo no habitat natural após libertação, ainda que muitos répteis juvenis apresentem os comportamentos mais típicos (ex.: antipredatórios) sem experiência anterior (Warwick 1990b; Alberts 2007). Assim, a avaliação de competência e desempenho em animais criados em cativeiro deve focar-se em características anatómicas/morfológicas, fisiológicas e comportamentais, nas quais a selecção natural opere e que estejam intimamente relacionadas com a sobrevivência e o sucesso reprodutor na natureza (Chiszar *et al.* 1993; Irschick *et al.* 2008; Paitz *et al.* 2010).

A *performance* é geralmente considerada a ligação principal entre a morfologia (fenótipo) e a *fitness* (Arnold 1983; Koehl 1996; Irschick 2003; Kingsolver & Huey 2003; Irschick *et al.* 2008; Paitz *et al.* 2010). O paradigma morfologia-*performance-fitness* reconhece que diferentes componentes de um indivíduo estão intimamente ligados a outras características bem como ao meio ambiente, existindo uma hierarquia coerente entre formas e funções (Arnold 1983; Koehl 1996; Irschick 2003; Kingsolver & Huey 2003). Este paradigma foi proposto por Arnold (1983), que defendeu que a sua

implementação deveria ser baseada num programa faseado com início em avaliações de morfologia e de *performance* em laboratório, seguido de uma componente de campo aplicada a estudar como a variação de *performance* influencia a *fitness* e, consequentemente como a variação da *fitness* se relaciona com a estrutura genética subjacente para determinar a resposta da selecção a curto-prazo (Arnold 1983; Irschick 2003; Kingsolver & Huey 2003). Em geral, para testar escolhas e factores relacionados com o método de reprodução *ex situ*, é mais produtiva uma abordagem experimental (Arnold 1983; Seddon *et al.* 2007).

As tartarugas apresentam uma curva de sobrevivência do tipo III, com uma taxa de mortalidade neonatal elevada (70% a 100% de mortalidade enquanto embriões e durante o primeiro ano de vida) seguida de uma taxa de mortalidade baixa durante a fase adulta (Kolbe & Janzen 2001; Booth *et al.* 2004; Myers *et al.* 2007; Vitt & Caldwell 2009). A sobrevivência na fase inicial é pois um período sobre fortes pressões selectivas e com maior influência na selecção dos indivíduos que se irão reproduzir (Myers *et al.* 2007; Mitrus & Najbar 2013). A longa longevidade dificulta a aplicação de medições directas de *fitness* (taxa de reprodução, viabilidade da descendência, entre outras) em tartarugas (Shine 1999; Booth *et al.* 2004), sendo a avaliação da *fitness* dos neonatos e juvenis realizada através da medição de indicadores de *performance* (Irschick *et al.* 2008; Paitz *et al.* 2010).

Fitness define-se pela capacidade que um individuo tem de sobreviver e de se reproduzir e depende maioritariamente do seu desempenho em funções correlacionadas com a sobrevivência (Koehl 1996; Demetrius & Ziehe 2007). A *performance* pode-se definir como uma medida quantitativa da capacidade de um organismo realizar determinada tarefa ecologicamente importante; indivíduos que maximizem a sua *performance* nos primeiros anos de vida terão maior probabilidade de sobreviver até à idade adulta, em que a mortalidade é menor, e de se reproduzirem (Garland Jr. & Losos 1994; Myers *et al.* 2007; Irschick & Henningsen 2009).

As características morfológicas, anatómicas e fisiológicas limitam a *performance* de um individuo, o que por sua vez pode influenciar os comportamentos (o que o indivíduo de facto faz) e é no comportamento que as pressões selectivas actuam directamente (Garland Jr. & Losos 1994; Jakob *et al.* 1996; Stevenson & Woods 2006; Irschick & Henningsen 2009).

Em geral, assume-se que níveis elevados de *fitness* física, como os que são visados por medidas de *performance*, através do estudo das respostas/comportamentos dos indivíduos, revelam níveis elevados de *fitness* geral (Irschick & Garland Jr. 2001; Wikelski & Romero 2003). Assim, para ser um indicador de *fitness* apropriado, a medida de *performance* deve ser ecologicamente relevante para a espécie em estudo e deve, se possível, ser divisível em componentes/medidas que traduzem o mesmo comportamento (ex.: o reposicionamento pode ser dividido em tempo de latência e em tempo de reposição activa) (Delmas *et al.* 2007).

1.3.1. Índices de condição morfológica, anatômica e fisiológica

As relações entre caracteres morfológicos e a probabilidade de sobrevivência têm sido investigadas nos répteis principalmente na fase neonatal, na qual a vulnerabilidade e a taxa de mortalidade são elevadas (Janzen 1993; Myers *et al.* 2007).

Em neonatos de tartarugas, a hipótese “*bigger is better*” prevalece; indivíduos maiores apresentarão uma melhor *fitness* por serem menos susceptíveis à predação e à fome, terem um crescimento mais rápido e alcançarem mais cedo a idade reprodutiva (Miller *et al.* 1987; Janzen 1993; Miller 1993; Janzen *et al.* 2000a, 2000b; Du & Ji 2003; Myers *et al.* 2007).

À excepção de alguns estudos (ex.: Congdon *et al.* 1999; Filoramo & Janzen 2002; Warner & Andrews 2002), na maioria das investigações que examinaram a relação entre o tamanho dos indivíduos e *fitness* quer através de taxas de predação e/ou de recaptura (ex.: Janzen 1993; Gyuris 2000; Janzen *et al.* 2000a, 2000b; Myers *et al.* 2007), quer por avaliação de crescimento, *performance* e comportamento (ex.: Janzen 1993; Du & Ji 2003; Myers *et al.* 2007; Calsbeek & Irschick 2007; Życzyński & Mierzejewska 2008), a selecção favoreceu indivíduos maiores de forma significativa. Nestes estudos os índices morfológicos medidos mais comumente nos neonatos são: (i) o peso, (ii) comprimento e largura do espaldar e do plastrão e (iii) taxas de crescimento (Janzen 1993; Jakob *et al.* 1996; Rhen & Lang 1999; Congdon *et al.* 1999; Stevenson & Woods 2006; Myers *et al.* 2007).

Relativamente à anatomia a carapaça pode ter um papel importante em determinar o sucesso dos neonatos pois além do espaldar e do plastrão conferirem protecção aos indivíduos, as suas características influenciam a capacidade de alcance e

posição dos membros, que influencia a capacidade/liberdade de movimentos do indivíduo durante acções locomotoras (Baudinette *et al.* 2000; Myers *et al.* 2007; Rivera & Blob 2010).

O aparecimento de anomalias e malformações em tartarugas tem sido alvo de estudos de *fitness* por serem relativamente comuns e poderem variar nas suas consequências entre a letalidade (ex.: órgãos exteriorizados) até deformações de menor impacto (ex.: placas extranumerárias) (Davy & Murphy 2009). As anomalias e malformações podem resultar de factores genéticos ou de factores extrínsecos, bióticos ou abióticos (Fernández & Rivera 2004; Rivera *et al.* 2008; Velo-Antón *et al.* 2011; Kosik *et al.* 2013; Mcknight & Ligon 2014). As deformações nas placas da carapaça (assimétricas ou extranumerárias) são as anomalias mais frequentemente observadas em tartarugas (Telemeco *et al.* 2013). Na revisão que fez sobre a carapaça das tartarugas em 1969, Zangerl verificou que cerca de 15% dos indivíduos da maioria das espécies (se não todas) apresentam placas assimétricas ou extranumerárias (Kosik *et al.* 2013; Telemeco *et al.* 2013).

A ocorrência destas anomalias no desenvolvimento dos indivíduos está negativamente correlacionada com a *fitness* em muitos casos (Jaffé *et al.* 2008; Velo-Antón *et al.* 2011; Telemeco *et al.* 2013), podendo indicar perturbações no desenvolvimento que afectam indirectamente a reprodução e sobrevivência (Velo-Antón *et al.* 2007, 2011).

As análises de processos fisiológicos, menos frequentes, avaliam maioritariamente taxas metabólicas, estados nutricionais e de hidratação, e defesas imunitárias, devido à sua influência na *performance* dos indivíduos, no seu crescimento, no sucesso reprodutor e na sobrevivência (Garland Jr. & Losos 1994; Calsbeek *et al.* 2008; Ligon *et al.* 2009; Paitz *et al.* 2010; Micheli-Campbell *et al.* 2011).

1.3.2. Índices de condição física

Os parâmetros que estão relacionados com a qualidade individual possuem atributos como a variabilidade, repetibilidade e heritabilidade, que as tornam susceptíveis à selecção natural, permitindo a sua evolução (Huey & Dunham 1987; van Berkum *et al.* 1989; Bennett 1990; Jayne & Bennett 1990a).

A repetibilidade de uma medida de *performance* depende da consistência de factores “psicológicos” (como a motivação) e das características morfológicas e fisiológicas subjacentes que controlam a capacidade do indivíduo (Oufiero & Garland Jr. 2009). A repetibilidade quantifica a estabilidade de um carácter fenotípico num indivíduo relativamente às diferenças desse carácter entre diferentes indivíduos (van Berkum *et al.* 1989). Esta é um importante conceito estatístico e representa a tendência de um indivíduo em ser consistente na sua *performance* quando esta é medida várias vezes sob condições padrão semelhantes (Irschick *et al.* 2007), ou seja, num grupo de indivíduos, a ordem pela qual são classificados a cada medição deve ser reprodutível não só em termos absolutos mas também em termos relativos (ex.: os mais rápidos numa prova deverão ser os mais rápidos nas provas seguintes) (Davy *et al.* 2014).

A repetibilidade é ainda particularmente útil na avaliação da fiabilidade e reprodutibilidade da metodologia usada para a medição, relativamente ao número de repetições e ao tipo de carácter medido (van Berkum *et al.* 1989; Oufiero & Garland Jr. 2009). Vários autores argumentam assim que um indicador de qualidade fenotípica é adequado se apresentar critérios essenciais como relevância ecológica e evolutiva, variação interindividual e correlação com *fitness* individual (Wilson & Nussey 2010; Davy *et al.* 2014). Se a qualidade individual não for repetível, torna-se difícil de garantir a sua selecção, adaptação e evolução (Bennett 1987; Garland Jr. *et al.* 1990).

A repetibilidade de uma medida tende a ser menor quanto maior a distância temporal entre as várias medições (Austin & Shaffer 1992; Irschick *et al.* 2007; Oufiero & Garland Jr. 2009). Uma descrição mais completa da repetibilidade deve abordar medições de curto (horas ou dias) e médio/longo prazo (meses ou anos), pois a *performance* individual pode sofrer alterações ao longo de diferentes fases de vida devido por exemplo, a mudanças fisiológicas ou a aprendizagem (Austin & Shaffer 1992; Irschick *et al.* 2007).

A locomoção é um importante componente da *fitness* dos répteis e a qualidade no seu desempenho é essencial para a sobrevivência na maioria dos vertebrados (Carrier 1996; Rivera *et al.* 2006), pois tem um papel fundamental na procura de alimento, fuga à predação, interacção social, movimentos migratórios e de dispersão, sucesso reprodutivo e parece estar fortemente relacionado com a morfologia e o uso do habitat entre espécies e dentro da mesma espécie (Elnitsky & Claussen 2006; Calsbeek & Irschick 2007; Clark *et al.* 2008; Connolly & Cree 2008).

Os neonatos apresentam poucos mecanismos de defesa uma vez que, ao contrário dos adultos que apresentam a carapaça rígida e ossificada, a sua carapaça é maioritariamente cartilaginosa e provavelmente oferece pouca protecção nesta fase da vida. Para além disso são menores, mais inexperientes e menos ágeis (Carrier 1996; Steyermark & Spotila 2001a; Elnitsky & Claussen 2006). Assim, a capacidade críptica e de fuga (locomoção) são possivelmente os melhores mecanismos de protecção, principalmente contra predadores (Steyermark & Spotila 2001a), e os que sofrem de maiores pressões selectivas (Carrier 1996; Elnitsky & Claussen 2006; Irschick *et al.* 2008; Paitz *et al.* 2010).

Nas tartarugas, os índices de *performance* analisados estão na grande maioria relacionados com comportamentos de sobrevivência (ex.: antipredatórios) e resistência/capacidade física, e são muitas vezes estudados em conjunto (Bennett 1990; Garland Jr. & Losos 1994; Elnitsky & Claussen 2006).

1.3.2.1. Reposicionamento

Em condições naturais, é frequente que os neonatos de tartarugas se destabilizem (devido a pouca agilidade e coordenação motoras ou até a tentativas de predação) e fiquem posicionadas com o plastrão para cima (Burger 1976; Carrier 1996; Micheli-Campbell *et al.* 2011), o que pode aumentar consideravelmente a exposição a predadores ou a susceptibilidade à desidratação (Steyermark & Spotila 2001b; Delmas *et al.* 2007; Micheli-Campbell *et al.* 2011). A resposta de reposicionamento é um comportamento ecologicamente importante e está assim, provavelmente relacionada com a sobrevivência do indivíduo, tratando-se de um componente importante da *fitness* nos juvenis/neonatos (Freedberg *et al.* 2004; Elnitsky & Claussen 2006; Janzen *et al.* 2007; Delmas *et al.* 2007; Paitz *et al.* 2010).

A resposta de reposicionamento tem duas componentes. A primeira é um período de latência durante o qual o neonato permanece imóvel, e a segunda é quando ocorre o acto de reposição propriamente dito (Steyermark & Spotila 2001a; Delmas *et al.* 2007). Trata-se de um comportamento que os neonatos estão altamente motivados para realizar. Esta motivação adicionada ao facto de se tratar da simples medição de duração (tempo) torna este índice relativamente fácil de medir experimentalmente (Freedberg *et al.* 2001, 2004; Delmas *et al.* 2007; Refsnider 2012).

1.3.2.2. Velocidade e Resistência

A velocidade de corrida e de natação são as capacidades locomotoras mais estudadas nas tartarugas pela sua influência na captura de presas, fuga à predação e defesa de território (Garland Jr. & Losos 1994; Irschick *et al.* 2005; Refsnider 2012) sendo que, indivíduos mais rápidos são à partida mais bem-sucedidos na realização/desempenho desses comportamentos (Garland Jr. & Losos 1994; Connolly & Cree 2008).

As técnicas para medir o desempenho locomotor de espécies terrestres em laboratório têm-se desenvolvido nas últimas décadas e prendem-se principalmente com o uso de pistas de corrida cronometrada ou através da análise de imagens, medindo velocidade média e/ou máxima, absoluta e/ou relativa. (Bennett 1989, 1990; Zani & Claussen 1994; Irschick & Garland Jr. 2001).

1.4. Caso de estudo

Em Portugal, a primeira acção de conservação *ex situ* através de programas de *headstarting* em espécies de répteis ameaçadas decorreu no âmbito do projecto LIFE+Trachemys (LIFE09/NAT/ES/000529) visando a reintrodução de juvenis de *Emys orbicularis* (Cágado-de-carapaça-estriada) criados em cativeiro (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009). Este projecto decorreu muito recentemente, o que aumenta a importância de avaliar o nível de sucesso a curto, médio e se possível, longo-prazo, das diferentes fases deste tipo de acção.

1.4.1. A espécie *Emys orbicularis*

O Cágado-de-carapaça-estriada, *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758), é a única espécie da família Emydidae que habita no Velho Mundo e a única pertencente à subfamília Emydinae (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado & Araújo 2008).

Emys orbicularis apresenta uma distribuição extensa, desde a Ásia Ocidental (Noroeste do Irão e Iraque ao Norte da Síria), o Noroeste de África (de Marrocos a Tunísia), e Centro e Sul da Europa (da Península Ibérica ao Mar Cáspio e ilhas mediterrânicas), apresentando uma distribuição descontínua e muito fragmentada na Península Ibérica, sendo Portugal o seu limite sudoeste (Mascort *et al.* 1999; Lenk *et al.* 1999; Keller & Andreu 2002; Sommer *et al.* 2007; Segurado & Araújo 2008).

Biogeograficamente, as populações da Península Ibérica estão designadas como duas subespécies endémicas (*E. o. hispanica* e *E. o. fritzjuergenobsti*). No entanto, estudos genéticos recentes não clarificam este cenário, considerando-as, devido às suas similaridades genéticas, uma única subespécie, *E. o. fritzjuergenobsti* (Mascort *et al.* 1999; Velo-Antón *et al.* 2007; Segurado & Araújo 2008).

Relativamente ao seu estatuto de conservação, *E. orbicularis* foi considerada pelo IUCN, em 2009, Quase Ameaçada a nível mundial, sendo actualmente considerada como Vulnerável em Espanha e, desde 2005, Em Perigo para Portugal (Keller & Andreu 2002; ICN 2006; Segurado & Araújo 2008). Encontra-se protegida ao abrigo dos anexos B-II e B-IV, da Directiva Habitats e da Convenção de Berna, Anexo II (ICN 2006; Fritz & Chiari 2013).

Os principais factores de ameaça para as populações ibéricas de *E. orbicularis* são a destruição e fragmentação de habitat devido a explorações agrícolas intensivas, as capturas intencionais para obtenção de animais domésticos e de objectos ornamentais, a mortalidade intencional em redes de pesca e a introdução de espécies exóticas como o Jacinto-de-Água (*Eichhornia crassipes*), o Lagostim-vermelho-do-Louisiana (*Procambarus clarkii*) e a Tartaruga-da-Flórida (*Trachemys scripta*) (Segurado 2000; Segurado & Araújo 2004; Cadi & Joly 2004; ICN 2006; LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Fritz & Chiari 2013).

A sua elevada longevidade, maturação sexual tardia e baixa taxa de fecundidade, diminui a capacidade de recuperação das populações quando aumenta a taxa de mortalidade dos adultos. Este facto, aliado à dificuldade de colonizar novos habitats, torna a espécie potencialmente mais vulnerável às ameaças descritas acima (Segurado 2000; Segurado & Araújo 2004; ICN 2006; LIFE+ Nature & Biodiversity 2009).

Trata-se de uma espécie de água doce, autóctone e residente em Portugal, onde se encontra fragmentada em núcleos populacionais pequenos e isolados entre si. São conhecidas apenas pequenas populações dispersas e isoladas a Norte do Tejo, sendo a presença de populações mais frequente a Sul do Tejo, onde ocorre maioritariamente na bacia hidrográfica do Guadiana (a mais importante para a espécie), nas costas do Sudoeste Vicentino e Alentejana, e no Algarve (Segurado & Araújo 2004, 2008; ICN 2006; Moreira 2011). Raramente se encontra em locais acima dos mil metros de altitude e as populações mais numerosas encontram-se associadas a charcos temporários (Segurado 2000; ICN 2006; Ayres 2009).

A tendência populacional desta espécie é de regressão, especialmente na Europa Central e do Norte. Em Portugal, sofreu um declínio acentuado no último século sendo mais dramático nas últimas décadas (Segurado & Araújo 2004, 2008; ICN 2006).

Esta espécie usa o meio aquático para grande parte dos seus comportamentos alimentares, de reprodução e para deslocação (Segurado 2000; ICN 2006; Ayres 2009). Para além da realização de posturas, o meio terrestre é usado para procurar abrigo e para termorregulação (Segurado 2000; ICN 2006; Ayres 2009). Encontra-se activa durante quase todo o ano em Portugal, a partir dos 14°C de temperatura do ar, podendo hibernar nas zonas mais frias e estivar em regiões mais quentes (Segurado 2000; ICN 2006; Ayres 2009; Ramos *et al.* 2009).

Sabe-se que a sua dieta é à base de invertebrados aquáticos e, menos comumente, de anfíbios e pequenos peixes, material vegetal e alguns insectos terrestres (Segurado 2000; ICN 2006; Ayres 2009). O javali, sacarrabos, ratazana, aves de rapina diurnas, corvídeos e garças são os seus principais predadores autóctones (Segurado 2000; ICN 2006; Ayres 2009); no entanto os juvenis podem ser predados por espécies invasoras como o Lúcio (*Esox lucius*) e a Tartaruga-da-Flórida (*Trachemys scripta*) (Segurado 2000; ICN 2006; Ayres 2009; Fritz & Chiari 2013).

O espaldar é abaulado, oval e escuro, apresentando manchas amarelas listadas ou ponteadas, com padrões radiais em cada placa dorsal, justificando o seu nome comum (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado 2000; Ferrand de Almeida *et al.* 2001; ICN 2006; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayres 2009). O plastrão é plano, ligeiramente móvel, com coloração cinzenta ou amarela e apresenta manchas escuras dispostas de forma irregular (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado 2000; Ferrand de Almeida *et al.* 2001; ICN 2006; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayres 2009). A ligação entre o espaldar e o plastrão é feita por ligamentos cartilagíneos e não possuem placas inguinais ou axilares. A pele é escura como o espaldar e a sua superfície é coberta por pintas amarelas principalmente nas zonas inguinal e axial, bem como no pescoço. As extremidades são robustas, apresentam escamas, unhas compridas e membranas interdigitais, sendo que as patas dianteiras apresentam cinco dedos e as traseiras apenas quatro (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado 2000; Ferrand de Almeida *et al.* 2001; ICN 2006; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayres 2009).

Os recém-eclodidos (neonatos) têm carapaça quase circular, coloração semelhante aos adultos mas mais escura e apresentam pequenas manchas amarelas nos

bordos da face dorsal (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado 2000; Ferrand de Almeida *et al.* 2001; ICN 2006; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayres 2009).

As fêmeas atingem maior peso e tamanho que os machos. Estes apresentam plastrão mais côncavo, facilitando o seu posicionamento em cima da fêmea durante a cópula e, principalmente, uma maior distância entre a extremidade do plastrão e a cloaca (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado 2000; Ferrand de Almeida *et al.* 2001; ICN 2006; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayres 2009). Existem outras características sexuais secundárias, menos óbvias, como uma tendência para o melanismo nos machos adultos com perda de coloração na cabeça e patas dianteiras (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado 2000; Ferrand de Almeida *et al.* 2001; ICN 2006; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayres 2009). Os machos tendem a ter cauda mais larga na base, para alojamento dos genitais, e alguns apresentam cor da íris branca ou castanho-avermelhada, enquanto as fêmeas têm íris de cor amarelada ou esverdeada (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado 2000; Ferrand de Almeida *et al.* 2001; ICN 2006; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayres 2009).

A maturação sexual é alcançada pelos machos aos 6-8 de idade (com aproximadamente 120 mm de comprimento e 400 gr de peso) e, pelas fêmeas, aos 10-12 anos (com aproximadamente 130 mm de comprimento e 500 g de peso) e apresentam uma longevidade na natureza de 40 a 60 anos (Fornelino & Silvestre 1999; Segurado 2000; Ferrand de Almeida *et al.* 2001; ICN 2006; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayres 2009).

A cópula realiza-se habitualmente em meio aquático após o Inverno; no entanto, caso haja estivação, também pode ocorrer no Outono (Zuffi *et al.* 1999; Segurado 2000; Servan & Roy 2004; Zinenko 2004; ICN 2006; Ayres 2009). Ambos os sexos mostram fidelidade a determinadas zonas durante várias estações e de uns anos para os outros.

As fêmeas podem deslocar-se vários quilómetros até ao local onde decidem fazer a postura, que pode ir de 3 a 18 ovos. A fêmea escava um buraco afastado da água com cerca de 10cm de largura e profundidade onde coloca geralmente entre 5 a 6 ovos (nas populações portuguesas) brancos, elípticos e de casca ligeiramente rugosa e dura (Araújo *et al.* 1997; Fornelino & Silvestre 1999; Zuffi *et al.* 1999; Servan & Roy 2004; Zinenko 2004; Ayres 2009). É feita apenas uma postura por ano, entre Maio e Julho, sendo o período de incubação médio conhecido de 80 a 100 dias (Fornelino & Silvestre 1999; Ayres 2009). O nascimento de indivíduos da mesma ninhada ocorre sincronizadamente, o que não só diminui a probabilidade de predação “em massa” mas

aumenta a probabilidade de sobrevivência de cada indivíduo, pois um ninho aberto atrai predadores, parasitas e aumenta o risco de desidratação, por exemplo (Costanzo *et al.* 2008). No entanto, a eclosão e a emergência do ninho são eventos separados. Após a eclosão, a emergência do ninho pode ocorrer em duas épocas distintas. Em Portugal, os neonatos desta espécie eclodem no final do Verão / início do Outono, emergindo para o exterior após eclosão (emergência de Outono), ou meses depois, no início da Primavera, fenómeno conhecido por emergência tardia ou emergência de Primavera (Ultsch 2006; Ayres 2009; Vitt & Caldwell 2009; Ayaz & Çiçek 2011; Gibbons 2013). Presume-se que os neonatos que emergem na Primavera o fazem por haver menor risco de predação e/ou mais recursos alimentares. As temperaturas mais quentes na Primavera podem funcionar como um indicador de melhores condições (Vitt & Caldwell 2009). Não existindo até hoje evidências da ocorrência de diapausa no desenvolvimento embrionário desta espécie, crê-se que os ovos que não eclodem antes do Inverno acabam por morrer (Costanzo *et al.* 2008).

Como em muitos répteis, o sexo é determinado pela temperatura de incubação dos ovos, sendo que a temperatura em que o ratio de fêmeas e machos nascidos é aproximadamente igual, é de 28,5°C. Se as temperaturas de incubação forem inferiores a 28°C todas as crias serão machos e se for superior a 29,5°C serão fêmeas (Pieau *et al.* 1994, 1998; Ciofi & Swingland 1997; Fornelino & Silvestre 1999; Zinenko 2004; Ayres 2009).

As biometrias gerais nos neonatos não parecem variar significativamente em toda a Europa, registando-se à nascença um peso médio de cerca de 4,5 gramas e um comprimento de espaldar de 26 milímetros (Mitrus & Zemanek 2000; Puky *et al.* 2004; Zinenko 2004; Mitrus 2005; Najbar & Szuszkiewicz 2006; Ayaz *et al.* 2007; Valdeón 2007; Ayaz & Çiçek 2011).

1.4.1.1. Conservação

Os programas LIFE têm sido cruciais para acções de conservação *ex situ* visando répteis de toda a União Europeia (Silva *et al.* 2009). Até à data, cerca de 10 projectos LIFE incluíram elementos de conservação *ex situ* em répteis, sendo que a maioria consiste de um programa de reprodução em cativeiro seguido de reintrodução e gestão de habitats (Silva *et al.* 2009).

O projecto espanhol EmysTer (LIFE04 NAT/ES/000059) ocorreu nas zonas húmidas Baix Ter, uma área de lagoas costeiras na Catalunha. Com apenas 10 indivíduos conhecidos na natureza, a população Baix Ter foi recuperada na década de 1990 pelo Centre de Reproducció de Tortugues de l'Albera (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Silva *et al.* 2009, 2011; Zableckis 2009). O objectivo era que estas tartarugas sobreviventes fossem mantidas em cativeiro para reprodução e reintrodução no seu habitat natural, assim que as causas de declínio foram abordadas (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Silva *et al.* 2009, 2011; Zableckis 2009).

O projecto implementou um programa de reprodução em cativeiro eficaz, criando um número satisfatório de cágados para a libertação. O habitat da espécie também foi preparado e as reintroduções foram bem-sucedidas. Em geral, a conservação *ex situ* deste caso foi bem-sucedida, servindo de experiência importante para iniciativas semelhantes em outros locais (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Silva *et al.* 2009, 2011; Zableckis 2009).

Baseado neste sucesso, um outro projecto LIFE espanhol, também na Catalunha (LIFE09 NAT/ES/000520) irá estabelecer uma nova população de *E. orbicularis* numa área restaurada de lagoas costeiras no delta do Parque Natural de Ebro através da reintrodução de pelo menos 100 indivíduos criados em cativeiro (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Silva *et al.* 2009, 2011; Zableckis 2009). Esta estratégia também está a ser implementada na Lituânia (LIFE05 NAT / LT/000094), onde mais de 50% das populações de *E. orbicularis* e mais de 90% dos indivíduos do norte da Europa beneficiarão de protecção activa (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Silva *et al.* 2009, 2011; Zableckis 2009).

Estudos feitos em populações portuguesas de *Emys orbicularis* mostraram taxas de gestação muito baixas e a quase inexistência de juvenis e recém-nascidos, acreditando-se que a probabilidade de um jovem atingir a fase adulta é de 1 para 100, indicando uma taxa de crescimento populacional muito baixa e uma reduzida capacidade de recuperação a impactos negativos (Segurado 2000; ICN 2006). Estes factores, agregados à fragmentação populacional e ao seu baixo efectivo, aumentam potencialmente a vulnerabilidade da espécie (Segurado 2000; Segurado & Araújo 2004; ICN 2006).

Em Portugal decorreu entre 2011 e 2013, o projecto LIFE+Trachemys “Estratégias e técnicas demonstrativas para a erradicação de cágados invasores”

(LIFE09/NAT/ES/000529), co-financiado pela Comissão Europeia com o objectivo de avaliar a situação actual e impactos das populações de *T. scripta* em 4 zonas húmidas da Ria Formosa, Portugal e 13 em Valência, Espanha.

A entidade coordenadora deste LIFE foi a Generalitat Valenciana em Espanha, tendo sido as entidades responsáveis pelo projecto em Portugal o CIBIO (Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos), o PBG (Parque Biológico de Gaia) e o RIAS/Associação ALDEIA (Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa / Associação - Acção, Liberdade, Desenvolvimento, Educação, Investigação e Ambiente).

O projecto LIFE+Trachemys teve como principais objectivos: 1) desenvolver estratégias e técnicas para controlar e erradicar *T. scripta* dos habitats de *E. orbicularis* na região do Algarve, 2) monitorizar as populações existentes de *E. orbicularis* nessa região, 3) reforçar as populações de *E. orbicularis* através de programas de reprodução em cativeiro e 4) aumentar a consciencialização do público.

O objectivo final da reprodução em cativeiro (3) é melhorar o estado das populações com a posterior reintrodução dos indivíduos na natureza (Rivera & Fernández 2004; Ayres *et al.* 2013; Fritz & Chiari 2013).

Esta medida é necessária devido ao baixo número de juvenis (taxa de recrutamento) nas lagoas do projecto, à ausência de locais adequados para postura e às elevadas taxas de predação de crias e de ninhos (Ficetola *et al.* 2004; Cadi & Joly 2004; ICN 2006; LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Ayres *et al.* 2013).

No âmbito desta acção foram criadas condições no RIAS e no PBG para albergar os indivíduos, tendo sido construídas células de reprodução e adaptados aquários para o crescimento dos juvenis (Centre de Reproducció de Tortugues de l'Albera 2007).

O início de vida de um indivíduo da família Emydidae apresenta três fases principais: 1) O período de desenvolvimento embrionário, 2) A migração do ninho para a água após emergência e 3) Os primeiros anos de vida maioritariamente em meio aquático (Filoramo & Janzen 2002).

Atendendo à relevância destas fases e ao conjunto de factores que as influenciam (condições de incubação, etc.) é importante tentar avaliar a metodologia usada no programa de *headstarting* e um dos modos para o fazer é através da análise de características fenotípicas (morfológicas e comportamentais) dos neonatos criados em cativeiro, como possível prognóstico da sua probabilidade de sobrevivência. Este estudo

aborda essa análise através da utilização de índices de condição de caracteres conhecidos por estarem de algum modo relacionados com a *fitness* individual.

1.5. Objectivos

O objectivo deste estudo foi comparar a *performance* de neonatos de *Emys orbicularis* nascidos em condições de cativeiro seminatural com a dos neonatos nascidos em estado selvagem. Comparámos também a *performance* dos primeiros após seis meses de cativeiro, com o intuito de inferir preliminarmente sobre a eficácia do programa de *headstarting* usado como uma ferramenta para aumentar populações em decréscimo.

Para tal, analisaram-se índices de condição corporal e índices de condição física. Relativamente à condição corporal os caracteres avaliados foram o peso, as principais dimensões da carapaça e a presença de deformações e/ou anomalias. Para a condição física mediram-se componentes da resposta de reposicionamento e de corrida.

de São Lourenço e na Quinta de Marim, locais onde este estudo decorreu. (Verheyne & de la Rosa 2005; PNRF 2007a).

O clima do PNRF é tipicamente mediterrâneo, árido a semiárido, com Invernos suaves com baixa precipitação e Verões secos que atingem cerca de 4 meses em que pode não ocorrer precipitação alguma (PNRF 2007a, 2007c) (Figura 2). No Verão registam-se temperaturas médias diárias de cerca de 23°C, no Inverno de cerca de 13°C, e anualmente uma média de cerca de 17°C. Regista-se uma média anual de 3042 horas de insolação (254 horas mensais). A precipitação total anual varia entre 400 a 600 mm, e a evapotranspiração real média entre 400 a 500 ml/ano. A humidade mantém-se elevada durante todo o ano, com valores anuais de cerca de 75%, não descendo dos 59% mesmo nos meses quentes, e sendo mais elevada nos meses de maior precipitação, entre Novembro e Janeiro (PNRF 2007a, 2007c).

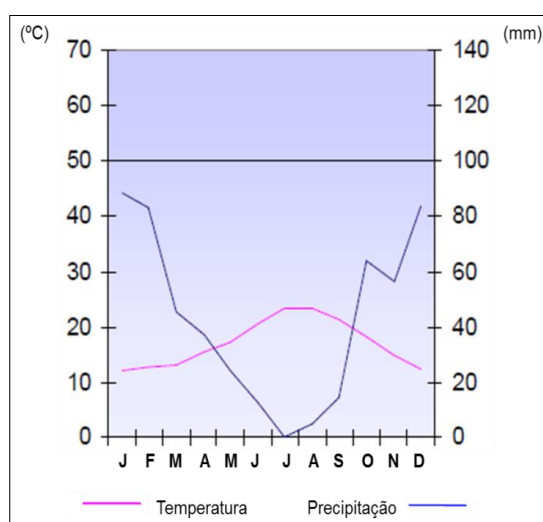


Figura 2 – Diagrama ombrotérmico referente à estação meteorológica de Faro/Aeroporto no período de 1958/59 – 1988. Considera-se período húmido quando a linha de precipitação ultrapassa os 100mm representados no gráfico pela linha horizontal (Adaptado de PNRF 2007c).

Através dos registos oficiais do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA), conhecem-se as condições mais aproximadas às que terão ocorrido durante o período de incubação das posturas utilizadas neste estudo, e que incluiu os meses de Julho, Agosto, Setembro e Outubro de 2013 (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores agrometeorológicos da estação de Faro para as três dezenas dos meses de Julho, Agosto, Setembro e Outubro de 2013. Valores de temperatura mínima (T Min), máxima (T Max), precipitação total (Prec Total), humidade relativa (HR), evapotranspiração de referência (ET0), radiação solar (Rad Solar) e índice de seca meteorológica (ISM).

		T Min (°C)	T Max (°C)	Prec Total (mm)	HR (%)	ET0 (mm)	Rad Solar (MJ/m ²)	ISM (classe)
Julho	1^ad	22,5	30,5	0,0	40,6	68,5	850 - 900 ^a	Seca fraca ^a
	2^ad	18,4	26,9	0,0	62,6	58,9		
	3^ad	19,9	27,4	0,0	51	69,1		
Agosto	1^ad	19,8	31	0,0	43,1	67,2	800 - 850 ^a	Seca fraca ^a
	2^ad	21,8	31,3	0,0	50,1	58,9		
	3^ad	21,6	28,5	0,0	59	54,7		
Setembro	1^ad	20,6	27,9	0,0	53,1	48,2	550 - 600 ^a	Seca fraca ^a
	2^ad	19,6	26,7	8,1	63,8	42,5		
	3^ad	20,4	25,7	21,0	72,3	30,7		
Outubro	1^ad	19	25,5	3,0 ^a	66,9	33,8	400-450 ^a	Seca fraca ^a
	2^ad	16,8	24,2	10,0 ^a	69,8	30,2		
	3^ad	16,35 ^a	22,2	100,0 ^a	<i>s.d.</i>	26,8		

Legenda: 1^ad - dias 1 a 10; 2^ad - dias 11 a 20; 3^ad - dias 21 a 31; *s.d.* - sem dados.

Fonte: Boletins agrometeorológicos de cada mês disponíveis em <https://www.ipma.pt/pt/publicacoes/>.

^a valores aproximados lidos a partir de mapas de distribuição espacial ou dos gráficos disponíveis para os referidos meses em <http://www.ipma.pt/pt/oclima/monitorizacao/>.

No que toca à qualidade química da água, apresenta entre 400 a 800 mg/l de resíduo seco (mineralização fraca a mediana), 100 a 300 mg/l de cloretos (água cloretada), 20 a 50 mg/l de sulfatos (fraca a medianamente sulfatada) e com níveis de dureza total de 200 a 400 mg/l, dureza permanente de 100-200 mg/l e dureza temporária de 150 a 250 mg(CaCO₃)/l (dura a muito dura) (Paradela 1988).

As linhas de água doce da Ria dão origem à maioria das lagoas inseridas no âmbito do Projecto LIFE+*Trachemys*, sendo esta das poucas zonas em Portugal onde se confirma a presença das duas espécies nativas de cágado *E. orbicularis* e *M. leprosa*, em paralelo com a espécie invasora *T. scripta* (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009).

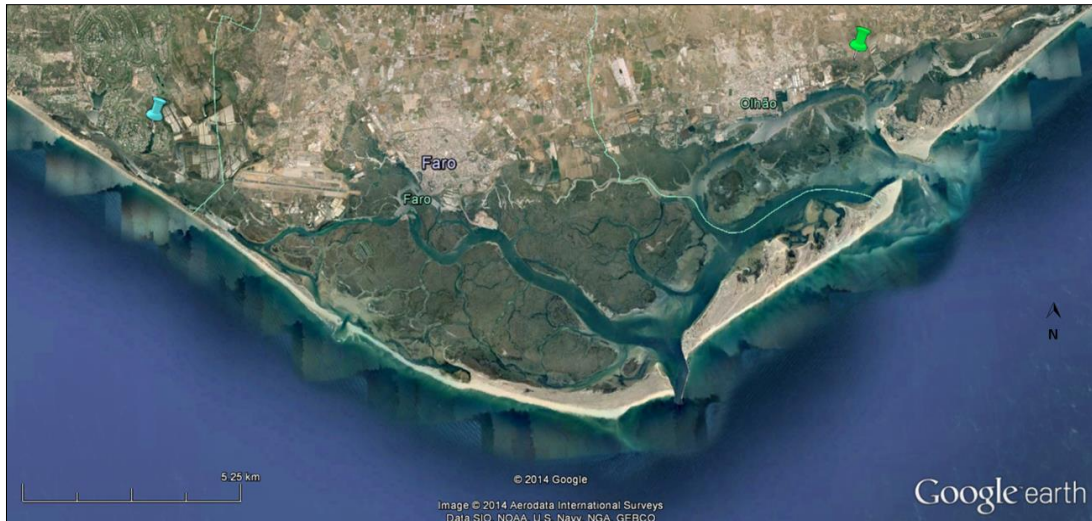


Figura 3 – Localização da Lagoa de São Lourenço (a azul) e do Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens - RIAS (a verde).

2.1.1. Lagoa de São Lourenço (LSL)

Situa-se a cerca de 10Km a sul de Loulé (Latitude: 37°1'48.13"N / Longitude: 8°0'38.44"O), inserida na propriedade privada da Quinta do Lago, e representa a maior massa de água doce da região (cerca de 7 ha). É uma lagoa artificializada e de carácter permanente, com margens de inclinação acentuada e rica em tabúia, juncos e caniçal, com abundância de locais de termorregulação para cágados (Figura 4). Está inserida num campo de golfe, no limite entre uma área urbana e uma zona arbustiva mediterrânica. Englobando habitats diversificados, trata-se duma zona com um elevado valor natural para numerosos grupos de fauna e flora (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Moreira 2011).



Figura 4 – Aspecto da Lagoa de São Lourenço.

2.1.2. Quinta de Marim

A sede do PNRF e o Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens (RIAS) ficam situados na Quinta de Marim, uma propriedade situada na orla leste de Olhão com aproximadamente 60 ha (Latitude: 37°2'4.55"N / Longitude: 7°48'46.79"O) (Figura 5). Engloba habitats variados como praia, dunas, sapal, salinas, lagoas de água doce, e zona de pinhal misto, com um diverso coberto arbustivo (PNRF 2007c; SPEA 2012).



Figura 5 – Aspecto da Quinta de Marim.

O cágado-mediterrânico, *Mauremys leprosa* reproduz-se com sucesso na Quinta de Marim (obs. pess.), indicando que o tipo de solo característico desta Quinta é adequado à incubação de ovos de cágados. Estas observações conduziram à escolha de uma incubação seminatural para as posturas.

Nas instalações do RIAS foi construída uma célula de reprodução exterior com 5,30 m (comprimento) por 2,70 m (largura), vedada em todo o seu perímetro com rede plástica de malha 1x1 cm (Figura 6-A). Esta célula foi provida de zonas com água (cerca de 10% da área) usando recipientes com 82 cm (comprimento) por 65,5cm (largura por 20cm (altura) colocados ao nível do solo, contendo algumas plantas aquáticas (Figuras 6-C e 6-D). As zonas ensombradas (cerca de 40% da área da célula) foram distribuídas de forma aproximadamente equitativa, criadas a partir da colocação de rede de sombra cerca de 1 m paralela ao solo (Figura 6-A). A restante área encontra-se com alguma vegetação e zonas de abrigo (Figura 6-B).

2.2. Fêmeas utilizadas

As fêmeas foram capturadas na Lagoa de São Lourenço (LSL), com recurso a nassas com encaminhador (sem isco), com a forma de funil apenas aberta numa das extremidades, colocadas em zonas de baixa profundidade e parcialmente submersas. As fêmeas capturadas foram pesadas com uma pesola com precisão de 10 g (gramas), e o comprimento (CE) e largura (LE) do espaldar foram medidos com uma craveira com precisão de 0,01mm (milímetros).

Verificou-se a presença de ovos nas fêmeas adultas através do diagnóstico de palpação inguinal. Esta técnica não é a mais fiel, mas adequa-se ao trabalho de campo e não se conhece qualquer risco para a fêmea ou para os ovos (Zuffi 2000; Marín & Bertolero 2005). No total, quatro fêmeas grávidas foram levadas para o RIAS (Figura 6).

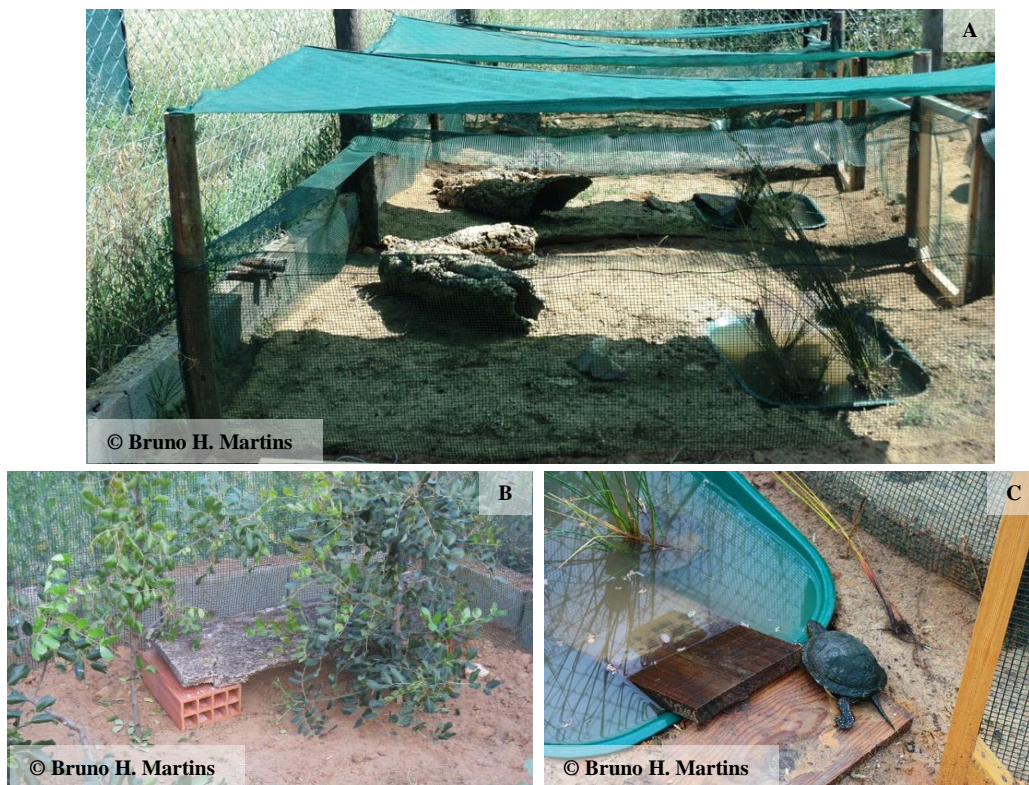


Figura 6 – Instalação exterior para reprodução de *E. orbicularis*. Legenda: A - Visão geral; B - Pormenor de zona de abrigo; C - Pormenor da zona de água; D - Pormenor com fêmea grávida.

Numa ficha de registo própria foi anotada a identificação de cada fêmea, a sua proveniência, bem como a sua data de entrada e saída. Durante o período de cativeiro o alimento foi disponibilizado diariamente e *ad libitum*. O alimento foi colocado na água

e consistiu em vegetação aquática autóctone, ração específica para cágados (Sera® Reptil Carnivore Professional), tenébrios, larvas de insectos, carne branca limpa ou pequenos peixes.

A verificação das condições da célula ocorreu a cada dois dias e na mesma ocasião em que as fêmeas foram examinadas por palpação.

Devido às datas de captura e postura (ver Tabela 2 dos resultados), a ocorrência de mais que uma fêmea na célula aconteceu apenas em três ocasiões e não se observou nenhuma alteração evidente no comportamento e/ou bem-estar das fêmeas nesses dias. Confirmada a postura (igualmente por palpação), a fêmea foi devolvida ao local onde foi capturada.

A incubação ocorreu nas células, em circunstâncias seminaturais (exposta às condições climáticas externas). As condições de humidade foram mantidas constantes na célula com recurso à rega manual, atendendo às condições climáticas presentes (Tabela 1).

Após a postura, o período de incubação dos ovos pode durar entre oitenta a cem dias (Fornelino & Silvestre 1999). Assim, sessenta dias após a postura foi verificada a emergência dos neonatos pelo menos duas vezes por dia. Esta verificação foi intensificada para no mínimo três vezes ao dia a partir do 80º dia de incubação. Após os 130 dias de incubação assumiu-se que os restantes ovos estariam inviáveis, procurou-se os ninhos e tentou-se encontrar esses ovos, ou eventualmente neonatos enterrados, ainda por emergir.

2.3. Captura de neonatos selvagens

As capturas decorreram entre os dias 11 de Março e 15 de Abril de 2014, com cerca de dois dias de intervalo entre cada visita sucessiva à Lagoa de São Lourenço. A procura fez-se em redor de toda a lagoa e zonas adjacentes, principalmente na manilha de água representada na figura 7, e noutras condutas ou estruturas entre as zonas arbustivas e as zonas alagadas, que pudessem aprisionar os indivíduos, por queda ou arrastamento.



Figura 7 – Manilha de água onde foi capturada a grande maioria dos neonatos selvagens.

As visitas ao local foram continuadas, até não ocorrer nenhuma captura no espaço de 15 dias.

2.4. Manutenção de todos os neonatos

Todos os neonatos foram marcados na carapaça com uma caneta de tinta branca Edding® 780, resistente à água. O registo foi feito em fichas individuais criadas para cada neonato com indicação do número do indivíduo, data de nascimento/captura, local de proveniência, número e tipo de anomalias.

Os neonatos foram colocados em instalações interiores do RIAS, em três aquários de 62,5 cm de comprimento por 30 cm de largura por 32 cm de altura, com cerca de 3 a 5 cm de altura de água, equipados com lâmpadas de aquecimento e de ultravioletas que simulam a radiação solar, ligados a temporizadores que simularam as horas naturais de dia (D) e noite (N) (10D:14N no Outono/Inverno e 13D:11N na Primavera/Verão). Os neonatos nascidos em cativeiro foram distribuídos equitativamente por dois aquários e todos os neonatos selvagens foram mantidos num terceiro aquário.

Nos aquários colocaram-se plataformas ou outros objectos que permitiram a existência de áreas secas, um termómetro que registou a temperatura da água, mantida entre os 28 e os 30°C por um termóstato, e um sistema de filtragem de água ligado a um temporizador (Figura 8). A renovação da água do aquário e limpeza completa de todos os elementos do mesmo foi feita semanalmente, consistindo sobretudo na desinfecção dos materiais. Até à conclusão dos testes os neonatos não foram alimentados.

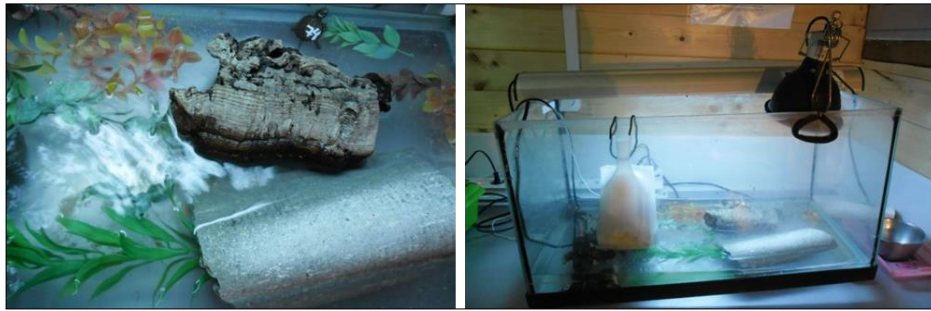


Figura 8 – Condições de manutenção dos neonatos de *E. orbicularis*.

2.5. Parâmetros biométricos

No primeiro dia após nascimento ou captura foram registradas as seguintes biometrias para cada indivíduo: Largura do Espaldar (LE), Comprimento do Espaldar (CE), Largura do Plastrão (LP), Comprimento do Plastrão (CP) e Altura da Carapaça (ACr) (Figura 9). Estas variáveis foram medidas com um paquímetro Mitutoyo® com precisão de 0,01 mm. Os animais também foram pesados (Peso) com uma balança ProScaleXC® com precisão de 0,1 g.

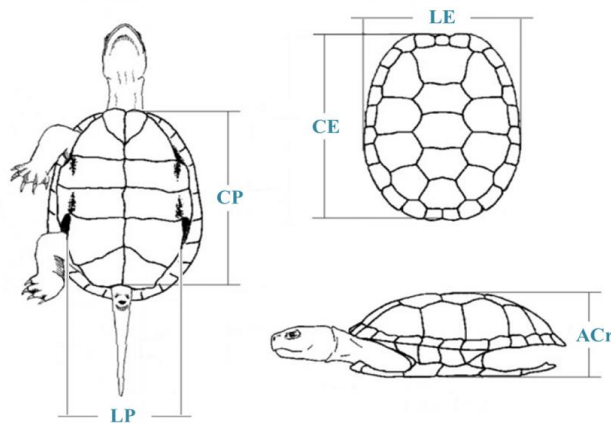


Figura 9 – Esquema representativo das biometrias obtidas para cada indivíduo. Legenda: CP - Comprimento do plastrão; LP - Largura do plastrão; CE - Comprimento do espaldar; LE - Largura do espaldar; ACr - Altura da carapaça (Adaptada de Ramos *et al.* 2009).

2.5.1. Crescimento dos neonatos nascidos em cativeiro

O crescimento diário médio dos indivíduos nascidos em cativeiro foi calculado através da diferença entre o tamanho final (seis meses) e inicial do comprimento do espaldar, dividido pelo número de dias de medições.

2.6. Anomalias da carapaça

Relativamente ao tipo de anomalia encontrada e à sua localização (Figura 10), adoptou-se o seguinte sistema identificativo (Wyneken *et al.* 2008; Kosik *et al.* 2013):

- D+1V1C1: 1 placa extra entre a placa vertebral 1 e a placa costal 1, no lado direito.
- E+1V1C1: 1 placa extra entre a placa vertebral 1 e a placa costal 1, no lado esquerdo.
- +1V2V3: 1 placa extra entre as placas vertebrais 2 e 3.
- V2-Assimétrica: placa vertebral 2 assimétrica.
- V4/2: Placa vertebral 4 dividida em dois.
- +1V4V5: 1 placa extra entre as placas vertebrais 4 e 5.
- E+1C1C2: 1 placa extra entre as placas costais 1 e 2, no lado esquerdo.
- *Zig-zag*: substituição da série normal das cinco placas vertebrais por uma série assimétrica em *zig-zag* de oito ou nove elementos individuais (Figura 18 dos resultados).

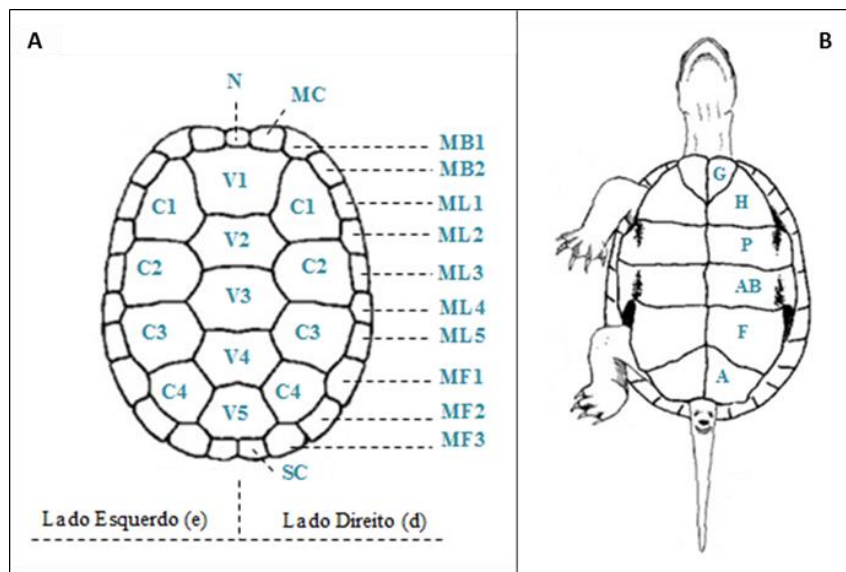


Figura 10 – Esquema demonstrativo da estrutura típica do espaldar (A) e do plastrão (B) para *E. orbicularis*, e disposição característica das respectivas placas (Adaptada de Ramos *et al.* 2009). Legenda: G - Gular; H - Humeral; P - Peitoral; AB - Abdominal; F - Femoral; A - Anal; N - Nucal; SC - Supracaudal; V1/V2/V3/V4 - Vertebral 1/2/3/4; C1/C2/C3/C4 - Costal 1/2/3/4; MC - Marginal-Cervical; MB1/MB2 - Marginal-Braquial 1/2; ML1/ML2/ML3/ML4/ML5 - Marginal-Lateral 1/2/3/4/5; MF1/MF2/MF3 - Marginal-Femoral 1/2/3.

2.7. Testes de condição física

Os testes realizaram-se na mesma zona exterior onde foi construída a célula de reprodução. Esta zona foi escolhida por ser uma zona com pouca perturbação humana e por ser próxima o suficiente de outros recintos exteriores que albergam espécies de aves, como algumas rapinas e gaivotas, que ajudaram a simular um ambiente de perigo, com as suas vocalizações e/ou voos.

A primeira fase de testes (para o grupo dos nascidos em cativeiro - grupo I) decorreu entre 30 de Outubro e 4 de Novembro de 2013, tendo a segunda fase (para os neonatos selvagens - grupo II – e os nascidos em cativeiro com seis meses - grupo III) decorrido em 2014 entre 21 de Março e 24 de Abril (Anexo I).

Para o grupo II considerou-se que o dia de captura seria o último dia em que se teriam alimentado, sendo então o dia seguinte considerado como o primeiro dia de jejum de cada indivíduo.

Foram realizados dois testes de *performance* a cada neonato, com quatro ensaios por teste, todos em condições de jejum (Garland Jr. & Losos 1994; Myers *et al.* 2007; Delmas *et al.* 2007). Os dois primeiros ensaios realizaram-se ao nono dia de jejum de cada neonato, com duas horas de diferença entre si. No dia seguinte (décimo dia de jejum) realizaram-se os dois últimos ensaios, à hora mais aproximada dos ensaios realizados no dia anterior, igualmente separados por duas horas.

Quando o indivíduo apenas realizou um dos quatro ensaios, foi considerado apenas esse para análise (Myers *et al.* 2007).

Os testes foram realizados numa estrutura construída em contraplacado com 1,10 m de comprimento e 0,2 m de largura (Figura 11). Os primeiros 0,1 m foram usados para o teste de reposicionamento e como zona de colocação dos indivíduos para o início do teste de corrida. Os 0,5 m seguintes serviram de plataforma para o teste de corrida, estando os 0,5 m finais a um nível inferior, funcionando como uma caixa com uma base em acrílico branco, ocupada com água e alguma vegetação (procedimentos semelhantes aos de Myers *et al.* 2007; Nelson *et al.* 2007; Mickelson & Downie 2010; Refsnider 2012). A zona com água e vegetação foi construída para estimular uma locomoção direccionada, resultante da procura de refúgio nesse meio (Burger 1976; Pereira *et al.* 2011).

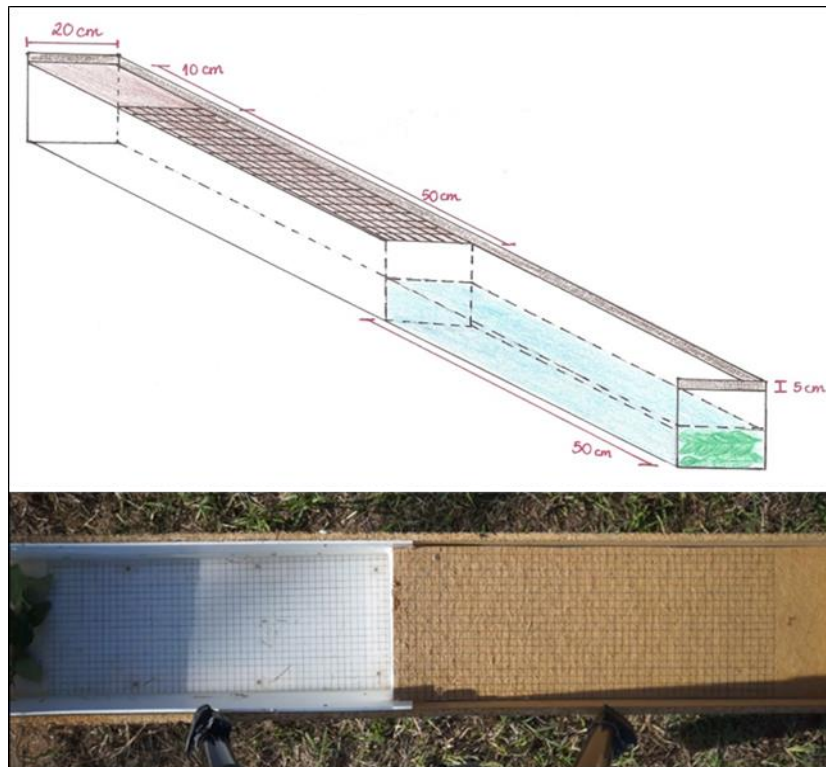


Figura 11 – Estrutura construída para a realização dos testes de condição física.

O material de contraplacado foi escolhido pela semelhança de cor com o tipo de solo a que a espécie estará habituada, e pela sua textura rugosa que garante níveis de atrito que possibilitam a fácil locomoção dos neonatos.

2.7.1. Teste de Reposicionamento

Cada neonato foi colocado na área de 0,1 m por 0,2 m, de início na sua posição normal, e de seguida virado duas vezes consecutivas (de modo a simular um ataque predatório), sendo deixado de plastrão para cima na terceira vez (Figura 12). Com um cronómetro registaram-se dois tempos (Refsnider 2012):

- **Tempo de latência** (TLat) – tempo (s) que o indivíduo permaneceu imóvel, de plastrão para cima, até ter iniciado qualquer movimento;
- **Tempo de reposição** (TRep) – tempo (s) que o indivíduo demorou a se reposicionar completamente, desde que iniciou movimento.

Para cada um dos tempos foram estipulados 180 segundos como limite máximo para completar a acção (Refsnider 2012).



Figura 12 – Imagem do teste de reposicionamento, fase de latência.

2.7.2. Teste de Corrida

Refere-se ao tempo que o indivíduo demora a percorrer 0,5 m de pista (Myers *et al.* 2007; Refsnider 2012). Cada ensaio foi filmado com uma câmara Sony® Nex 6 montada num tripé Manfrotto® e colocada de modo a captar toda a pista. A prova teve início no segundo em que o neonato foi colocado na linha de 0 m. A locomoção foi induzida pelo experimentador através de movimentos ameaçadores, como agitação dos braços, aproximação repentina, ou bater os pés (Zani & Claussen 1994). Os animais foram também sujeitos aos estímulos exteriores permanentes (sons de variadas aves de rapina, e gaivotas). Cada prova terminou assim que a cabeça do indivíduo atravessou a linha dos 0,5 m, após o que caiu para a água e permaneceu imóvel ou nadou até à vegetação (Figura 13). Usou-se cerca de 7 litros de água, o mínimo suficiente para que o indivíduo tivesse uma queda segura ao terminar a corrida.

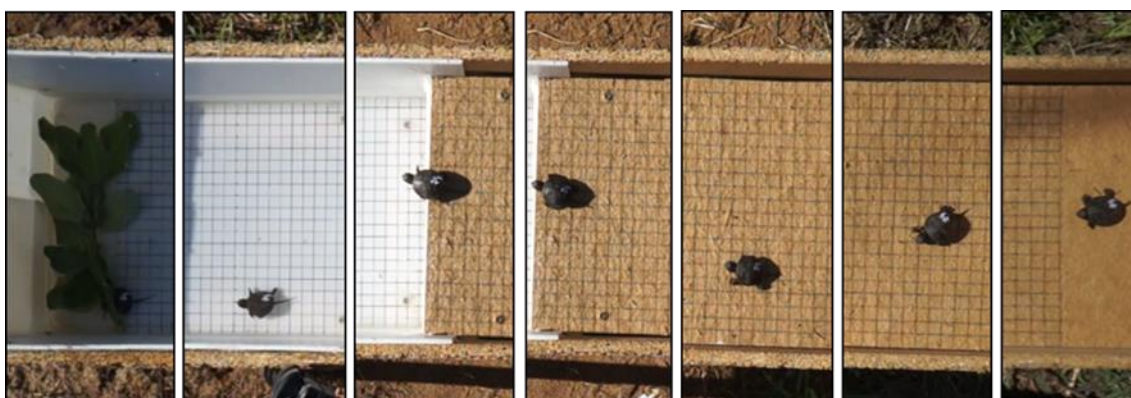


Figura 13 – Fotos sucessivas do mesmo neonato durante um ensaio de corrida.

Quando a prova não se iniciou ou terminou ao fim de 15 minutos, foi considerada nula (Muegel & Claussen 1994; Zani & Claussen 1994). Após todos os ensaios completados, todos os neonatos foram alimentados e os neonatos selvagens foram devolvidos à lagoa de proveniência.

2.8. Análise das imagens e filmes

Para análise dos testes de reposicionamento, todos os tempos foram arredondados ao segundo.

Cada vídeo foi analisado no programa AviMéca® (versão 3.02) que permite a fragmentação do mesmo em fotogramas sequenciais a uma frequência de 30 e/ou 50 imagens por segundo (Lopes dos Santos 2004).

A cada segundo a posição do neonato foi marcada com um ponto, sendo que, movimentos de diferentes categorias (ver em 2.9) foram marcados com diferentes colorações (Figura 14).

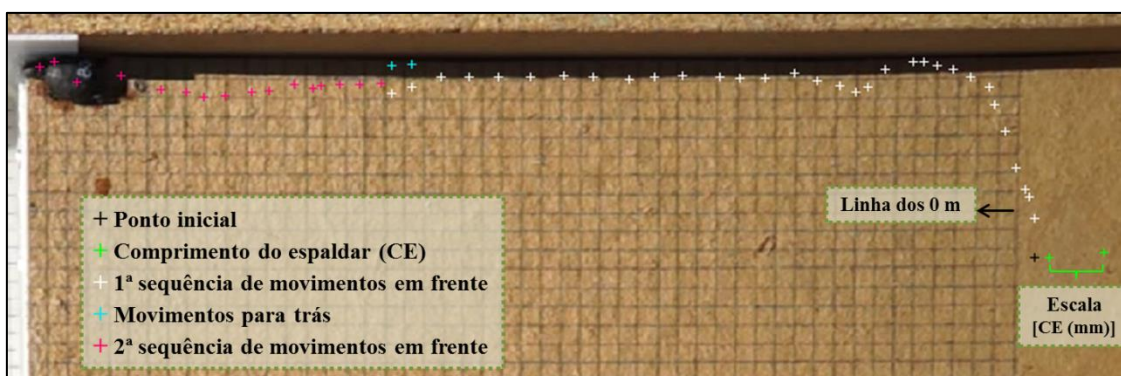


Figura 14 – Esquema explicativo da análise de vídeo através dos programas AviMéca3® e ImageJ®, feita a cada ensaio. Cada ponto corresponde à posição do animal ao segundo, excepto os pontos verdes que correspondem ao comprimento de espaldar usado como escala para medição de distâncias.

Marcado o percurso de cada ensaio, este foi guardado como imagem e importado para o programa ImageJ® (versão 1.48^r). A cada imagem foi adicionada como escala a medida do comprimento do espaldar (mm) de cada indivíduo (Figura 14). Mediu-se a distância entre cada par de pontos consecutivos, bem como o ângulo traçado por essa distância em relação à horizontal (Figura 15).

Os ângulos de deslocamento foram medidos de acordo com o esquema da figura 15. Foram definidas duas semicircunferências sendo a da esquerda (cinzenta) correspondente a movimentos “em frente” e a da direita a movimentos “para trás”, analisados de forma independente. Todos os valores angulares mencionados a partir deste ponto dizem respeito aos ilustrados na figura 15.

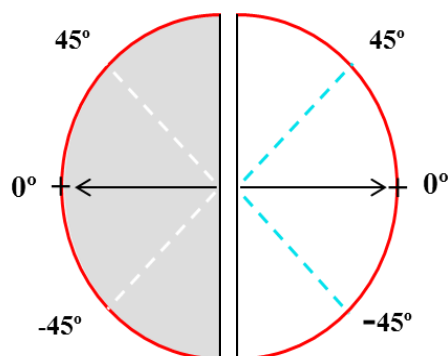


Figura 15 – Esquema ilustrativo da obtenção dos ângulos de cada movimento.

2.9. Análise de dados

Foram definidos os seguintes termos:

- Orientado – qualquer movimento que desenhe um ângulo dentro da semicircunferência a cinzento (movimento “em frente”);
- Ângulo orientado – o valor do ângulo referido em a);
- Não orientado – qualquer movimento que desenhe um ângulo dentro da semicircunferência a branco (movimento “para trás”);
- Ângulo não orientado – o ângulo referido em c).

A partir dos programas anteriores foram calculadas as seguintes variáveis:

- **Tempo de reacção** (TReac) – tempo (s) que o indivíduo levou a reagir e a fazer qualquer movimento, desde que foi colocado na linha de início (0 m).
- **Duração da prova** (DurProva) – tempo (s) que o indivíduo levou a realizar a prova de corrida, desde o primeiro movimento.
- **Movimentos orientados** (Orient) – número de segundos em que o indivíduo realizou movimentos considerados orientados.

- **Movimentos não orientados** (NOr) – número de segundos em que o indivíduo realizou movimentos considerados não orientados.
- **Velocidade média** (VelMed) – velocidade média atingida pelo indivíduo (divisão da distância total pelo tempo durante o qual realizou movimentos orientados).
- **Velocidade máxima** (VelMax) – velocidade máxima atingida pelo indivíduo no tempo durante o qual realizou movimentos orientados.
- **Número de paragens** (Paragens) – número médio de paragens feitas pelo indivíduo durante a prova.
- **Tempo médio de paragens** (MedPar) – média de tempo (s) decorrido em cada paragem pelo indivíduo.
- **Ângulo médio de movimentos orientados** (AngOrient) – média dos ângulos decorridos em movimentos orientados.
- **Ângulo médio de movimentos não orientados** (AngNOr) – média dos ângulos decorridos em movimentos não orientados.
- **Número de ângulos zero** (NAngZero) – número de movimentos com ângulo de zero graus, em que o indivíduo caminhou em linha recta em direcção à água.

2.10. Tratamento estatístico

Para estimar a redundância entre as variáveis medidas, efectuou-se um teste de correlação bivariado (correlação de Spearman) a partir de uma matriz com os valores médios de cada variável no 10º dia de jejum do grupo I (grupo foco neste estudo). Foram excluídas das análises posteriores as variáveis com pelo menos uma das seguintes duas características: (i) $N < 9$ (metade do N total); (ii) informação repetida e/ou incluída noutras variáveis com maior interesse biológico. As variáveis escolhidas foram depois avaliadas para normalidade.

Os estudos comparativos foram feitos por pares de grupos, comparando primeiro o grupo I com o grupo II e depois o grupo I com o grupo III.

Entre o grupo I e II, a existência de diferenças na morfologia foi testada através de um teste t e a diferença entre as variáveis relacionadas com a *performance* através de um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com uma distribuição normal e a *link*

function Identidade. Os quatro ensaios de cada indivíduo entraram no modelo como medidas repetidas. As variáveis grupo e dia de jejum foram incluídas no modelo como factores fixos, e a hora de cada ensaio foi incluída como factor aleatório.

A repetibilidade individual foi avaliada através do cálculo do coeficiente de correlação de Spearman (r_s) de modo a determinar se a “ordem de classificação” de cada indivíduo no grupo é significativamente correlacionada entre os vários ensaios. Este valor foi calculado entre os quatro ensaios do grupo I e entre os oito ensaios dos grupos I e III, de modo a determinar se existe repetibilidade ao fim de seis meses, ou seja, a médio-prazo. Uma vez que algumas das variáveis medidas neste estudo podem ser influenciadas consideravelmente pelo tamanho do animal, esta correlação foi também avaliada.

A análise estatística foi realizada usando o programa IBM® SPSS® Statistics (versão 22).

3. Resultados

Nas saídas à Lagoa de São Lourenço em 2013 capturaram-se quatro fêmeas grávidas que foram levadas para o RIAS (Tabela 2).

Tabela 2 – Número de identificação, data de captura, dados biométricos e data de postura das fêmeas grávidas capturadas em 2013.

Fêmea	Data de captura	Peso (g)	CE (mm)	LE (mm)	Data de postura
225	27-Jun	730	15,69	12,3	1-Jul
49	9-Jul	660	14,78	11,49	12-Jul
34	11-Jul	460	13,62	10,48	25-Jul
161	25-Jul	620	14,96	17,7	30-Jul

Legenda: CE - Comprimento do espaldar; LE - Largura do espaldar;

3.1. Caracterização dos grupos experimentais

Das posturas realizadas pelas quatro fêmeas nasceram 22 indivíduos entre os dias 21 e 25 de Outubro de 2013 (emergência de Inverno). Registaram-se 83 a 117 dias de período de incubação das posturas. Durante a primeira semana quatro deles morreram (de causas desconhecidas), sendo os restantes 18 indivíduos considerados neste estudo como o grupo I (Anexo I). Quando não foram detectados ovos por palpação da fêmea verificou-se se existia algum ovo à superfície do solo ou na água, bem como alguns sinais recentes de escavação do ninho, mas nenhum dos casos surgiu.

Durante a procura de neonatos nascidos em estado selvagem na mesma lagoa em 2014 foram capturados 12 neonatos selvagens, todos eles na emergência de Primavera, amostra considerada neste estudo como o grupo II (Anexo I).

Não houve diferenças no peso dos animais dos dois grupos ($t_{28} = -0,834$; $p = 0,412$), nem na altura da carapaça ($t_{28} = 0,724$; $p = 0,475$). Relativamente às medidas do espaldar não houve diferenças entre o comprimento ($t_{28} = -1,784$; $p = 0,085$) nem entre a largura ($t_{28} = -0,379$; $p = 0,708$). De igual modo, o comprimento do plastrão não diferiu ($t_{15,37} = -0,756$; $p = 0,461$), tal como a largura ($t_{28} = -0,3$; $p = 0,766$) (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores biométricos registados para os grupos de neonatos I e II.

		Grupo I	Grupo II
		N=18	N=12
Peso (g)	M ± DP	4,36 ± 0,45	4,57 ± 0,93
	Mínimo	3,5	2,9
	Máximo	5,3	6,3
CE (mm)	M ± DP	24,95 ± 1,42	26,08 ± 2,06
	Mínimo	22,07	22,90
	Máximo	26,85	30,35
LE (mm)	M ± DP	24,66 ± 1,67	24,92 ± 2,11
	Mínimo	21,68	20,85
	Máximo	26,90	29,00
CP (mm)	M ± DP	21,98 ± 1,06	22,44 ± 1,95
	Mínimo	19,90	19,40
	Máximo	23,80	26,15
LP (mm)	M ± DP	14,23 ± 1,66	14,43 ± 2,14
	Mínimo	12,11	11,00
	Máximo	19,30	19,60
ACr (mm)	M ± DP	13,22 ± 1,35	12,91 ± 0,72
	Mínimo	12,08	11,60
	Máximo	18,30	14,20

Legenda: N - número de indivíduos; M ± DP - Média ± Desvio Padrão; CE - Comprimento do espaldar; LE - Largura do espaldar; CP - Comprimento do plastrão; LP - Largura do plastrão; ACr - Altura da carapaça.

Durante os seis meses de permanência do grupo I em condições de cativeiro não se registou nenhuma morte mantendo-se, assim o mesmo grupo de 18 indivíduos para o grupo III. As biometrias dos exemplares encontram-se registadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores biométricos registados para o grupo III.

Grupo III		
N=18		
Peso (g)	M ± DP	14,51 ± 3,50
	Mínimo	9,70
	Máximo	20,90
CE (mm)	M ± DP	40,6 ± 3,61
	Mínimo	35,60
	Máximo	47,35
LE (mm)	M ± DP	37,39 ± 3,44
	Mínimo	32,00
	Máximo	43,80

Legenda: N - número de indivíduos; M ± DP - Média ± Desvio Padrão; CE - Comprimento do espaldar; LE - Largura do espaldar.

Em qualquer dos grupos, o peso e as dimensões do espaldar são fortemente correlacionados (Tabelas 5, 6 e 7).

Tabela 5 – Correlação entre as três principais biometrias dos indivíduos do grupo I.

Grupo I			
		Peso (g)	CE (mm)
CE (mm)	Correlação de Pearson	,869**	
	Sig. (2-extremidades)	,000	
	N	18	
LE (mm)	Correlação de Pearson	,804**	,941**
	Sig. (2-extremidades)	,000	,000
	N	18	18

Legenda: CE - Comprimento do espaldar; LE -Largura do espaldar;

**A correlação é significativa ao nível de 0,01 (2 extremidades).

Tabela 6 – Correlação entre as três principais biometrias dos indivíduos do grupo II, neonatos selvagens.

		Grupo II	
		Peso (g)	CE (mm)
CE (mm)	Correlação de Pearson	,956**	
	Sig. (2-extremidades)	,000	
	N	12	
LE (mm)	Correlação de Pearson	,979**	,970**
	Sig. (2-extremidades)	,000	,000
	N	12	12

Legenda: CE - Comprimento do espaldar; LE - Largura do espaldar.

**A correlação é significativa ao nível de 0,01 (2 extremidades).

Tabela 7 – Correlação entre as três principais biometrias dos indivíduos do grupo III.

		Grupo III	
		Peso (g)	CE (mm)
CE (mm)	Correlação de Pearson	,976**	
	Sig. (2-extremidades)	,000	
	N	18	
LE (mm)	Correlação de Pearson	,967**	,972**
	Sig. (2-extremidades)	,000	,000
	N	18	18

Legenda: CE - Comprimento do espaldar; LE - Largura do espaldar.

**A correlação é significativa ao nível de 0,01 (2 extremidades).

A taxa de crescimento diária dos 18 indivíduos até aos seis meses de idade foi de $0,088 \pm 0,017 \text{ mm.dia}^{-1}$.

3.2. Anomalias

Todas as anomalias apresentadas dizem respeito apenas à anatomia do espaldar, pois não foram encontradas anomalias ao nível do plastrão, nem malformações de outro tipo em nenhum dos indivíduos.

O número médio de anomalias por indivíduo foi de 0,64 para o grupo I e de 0,67 para o grupo II (Figura 16).

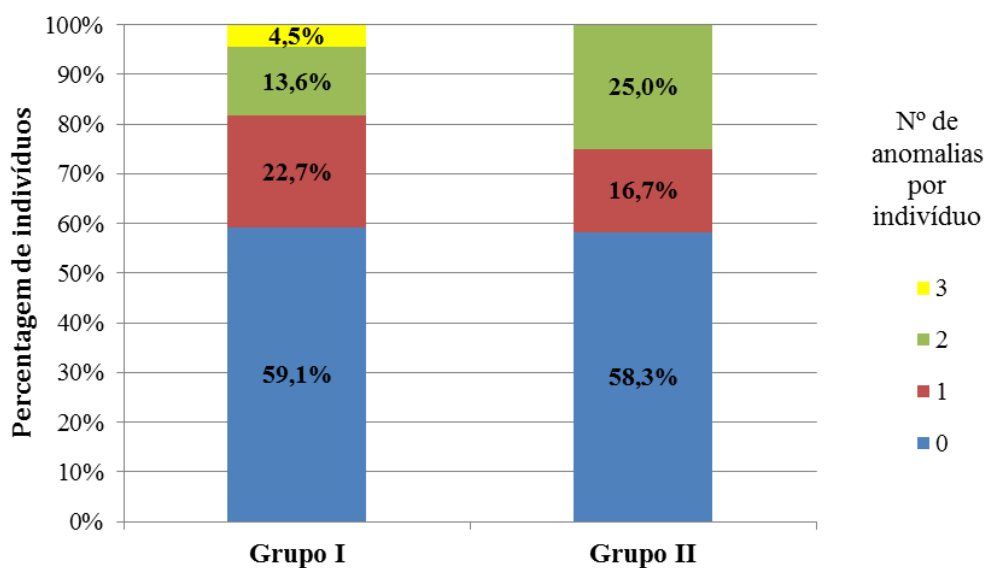


Figura 16 – Percentagem de indivíduos com 0 a 3 anomalias cada, por grupo de neonatos.

Foram registados oito tipos diferentes de anomalia no conjunto dos dois grupos de neonatos. Como demonstrado na figura 17, dentro do grupo I apenas se verificaram três tipos diferentes de anomalias sendo a mais comum a existência de uma placa extra entre a placa vertebral 1 e a placa costal 1, no lado direito (D+1V1C1: 57,1%) (Figura 18-A), seguida da mesma anomalia mas para o lado esquerdo do espaldar (E+1V1C1: 35,7%). Este último tipo foi o mais comum no grupo II (E+1V1C1: 25,0%). Neste grupo registaram-se mais seis anomalias diferentes, todas com a mesma frequência dentro do grupo (12,5%), incluindo uma das anomalias consideradas mais extremas chamada *Zig-zag* (Figura 18-B) (Wyneken *et al.* 2008).

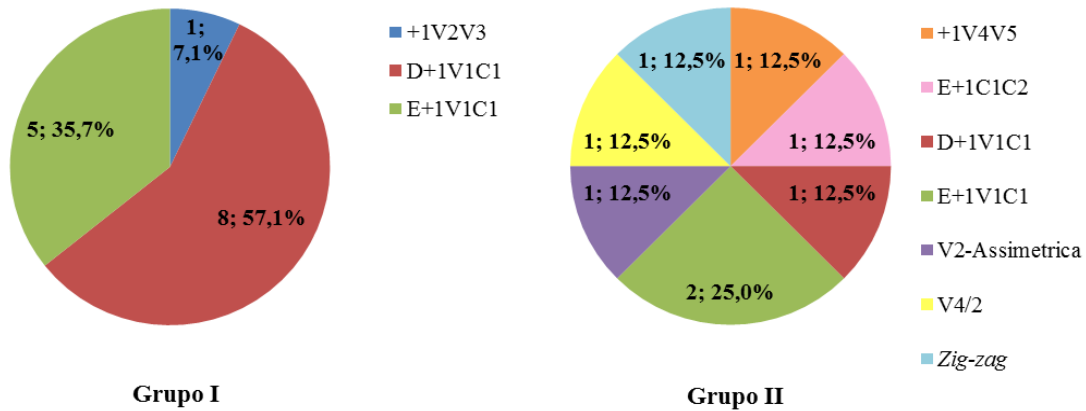


Figura 17 – Tipo de anomalias encontradas (percentagem e número) em cada grupo de neonatos. Indivíduos com mais do que uma anomalia estão contabilizados mais do que uma vez. Legenda: D+1V1C1 - 1 placa extra entre a placa vertebral 1 e a placa costal 1, no lado direito; E+1V1C1 - 1 placa extra entre a placa vertebral 1 e a placa costal 1, no lado esquerdo; +1V2V3 - 1 placa extra entre as placas vertebrais 2 e 3; V2-Assimétrica - placa vertebral 2 assimétrica; V4/2 - Placa vertebral 4 dividida em dois; +1V4V5 - 1 placa extra entre as placas vertebrais 4 e 5; E+1C1C2 - 1 placa extra entre as placas costais 1 e 2, no lado esquerdo; *Zig-zag* - substituição da série normal das cinco placas vertebrais por uma série assimétrica em *zig-zag* de oito ou nove elementos individuais.

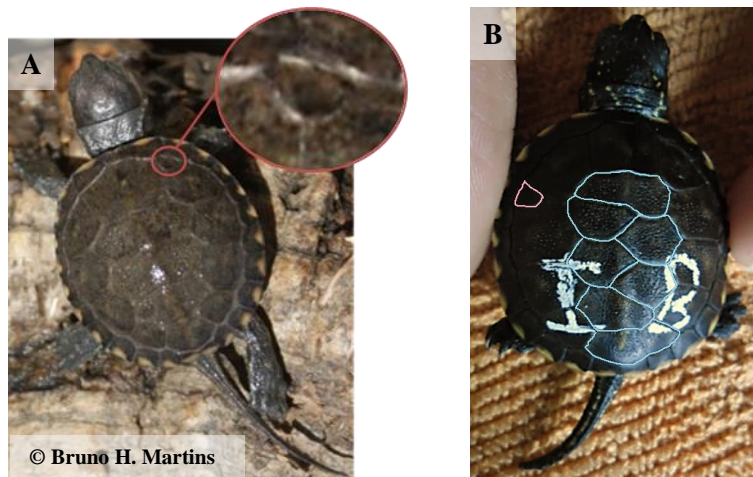


Figura 18 – Exemplos de anomalias registadas. A - tipo de anomalia mais comum registada para o total dos grupos (D+1V1C1); B - anomalia *zig-zag* num neonato pertencente ao grupo II.

3.3. Testes de condição física

Num total de 192 ensaios do teste de reposicionamento, 189 foram completados pelos neonatos antes do tempo estipulado. Igualmente para o teste de corrida, dos 192 filmes obtidos, foram analisados 189, uma vez que três ensaios não foram completados.

O teste de correlação entre as treze variáveis inicialmente medidas identificou cinco variáveis redundantes para o grupo I, que foram excluídas nas análises posteriores (Anexo II). O ângulo médio de movimentos não orientados (AngNOr) foi excluído por se ter registado este movimento em poucos indivíduos (N=5), e o número de ângulos zero (NAngZero) bem como o número de movimentos não orientados (NOr), foram excluídos por existir um número elevado de casos em que estas variáveis registaram valores de zero. Verificou-se que o tempo médio de paragens (MedPar) está fortemente relacionado com o número de paragens (Paragens) ($r=0,699$, $p=0,001$) tendo-se assumido que reflectem informação biológica semelhante. Entre ambas, o número de paragens foi considerada a variável com maior interesse biológico por apresentar um maior número de correlações significativas com as restantes variáveis e porque independentemente do tempo que demora cada paragem, o facto de o animal parar repetidamente pode ser entendido como um sinal de dificuldade em associar um estímulo ameaçador à urgência na fuga. Igualmente, verificou-se uma forte correlação entre a duração da prova (DurProva) e o número de movimentos orientados (Orient) ($r=0,919$, $p<0,001$), tendo sido esta última considerada de maior interesse.

3.3.1. Repetibilidade individual

Pelo cálculo das correlações entre os quatro ensaios das restantes variáveis foram encontradas correlações positivas e significativas entre os ensaios 1 e 3 ($r_s=0,486$, $p=0,048$, N=17), 2 e 3 ($r_s=0,516$, $p=0,028$, N=18) e 3 e 4 ($r_s=0,755$, $p<0,001$, N=18) para os movimentos orientados (Orient), entre os ensaios 1 e 3 ($r_s=0,498$, $p=0,042$, N=17) e 3 e 4 ($r_s=0,822$, $p<0,001$, N=18) para a velocidade média (VelMed) e entre os ensaios 3 e 4 ($r_s=0,593$, $p=0,009$, N=18) para a velocidade máxima (VelMax). Os valores de repetibilidade e os respectivos valores de significância são menos fortes quanto maior a distância temporal entre ensaios.

3.4. Comparação entre o grupo I e o grupo II

Houve diferenças altamente significativas entre os tempos de latência do grupo I e do grupo II (GLMM, $F_{1,114}=28,81$, $p<0,001$). O grupo II levou consideravelmente mais tempo até iniciar a tentativa de reposição do que o grupo I (Figura 19).

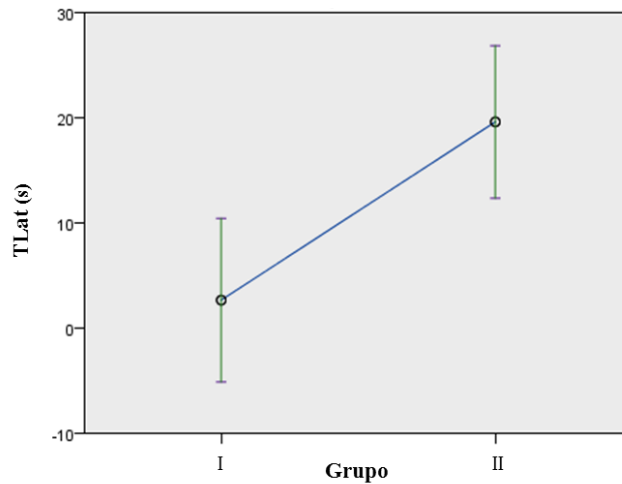


Figura 19 – Comparação entre os valores de tempo de latência registados para os grupos I e II (médias estimadas). Legenda: As barras de erro representam o desvio padrão; TLat - Tempo de latência.

3.5. Comparação entre dias de jejum

Independentemente do grupo houve diferenças significativas entre o nono e décimo dia de jejum para três variáveis de *performance*: o tempo de latência, o tempo de reacção e o número de paragens.

O tempo de latência foi maior no nono dia de jejum do que no décimo dia de jejum (GLMM, $F_{1,114}=5,58$, $p=0,02$) (Figura 20-A). O ensaio 1 registou valores de tempos de latência maiores do que os ensaios seguintes em ambos os grupos, sendo esta diferença mais notória para o grupo I (Figura 20-B e C).

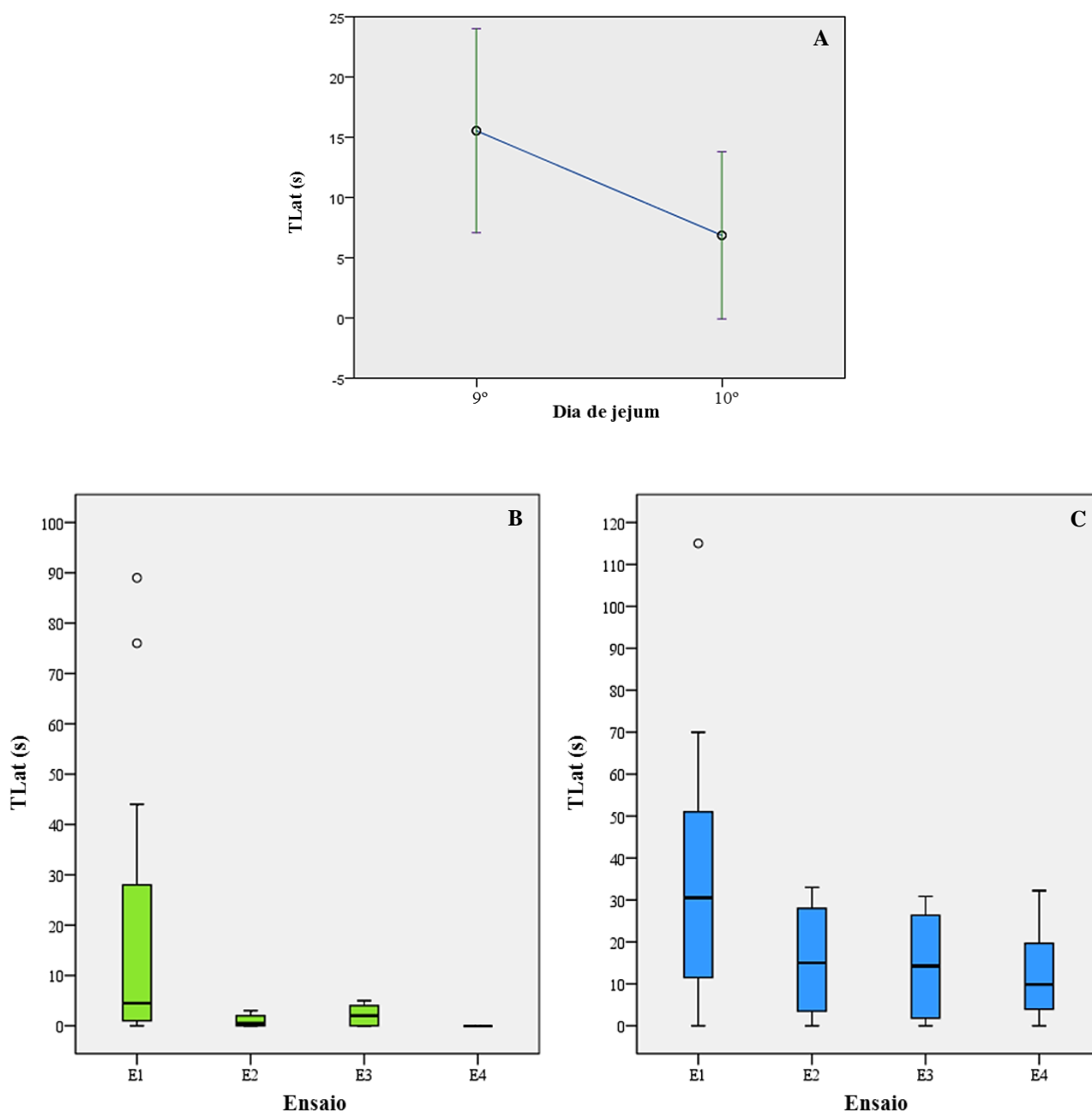


Figura 20 – Comparação entre os valores de tempo de latência registados ao nono e décimo dia de jejum (A). Tempo de latência dos indivíduos do grupo I (B) e do grupo II (C) para os quatro ensaios. Legenda: As barras de erro representam o desvio padrão; TLat - Tempo de latência; E1 - Ensaio 1; E2 - Ensaio 2; E3 - Ensaio 3; E4 - Ensaio 4; ° Valores *outliers*.

Relativamente ao tempo de reacção este foi também consideravelmente maior para o nono dia de jejum do que para o décimo dia de jejum (GLMM, $F_{1,116}=8,41$, $p=0,004$) (Figura 21-A). Para o grupo I os valores do tempo de reacção registados não variaram consideravelmente entre ensaios, principalmente entre os três primeiros (Figura 21-B). No grupo II registou-se valores de tempo de reacção consideravelmente mais

elevados para os ensaios 1 e 2 em comparação com os ensaios do dia seguinte, 3 e 4 (Figura 21-C).

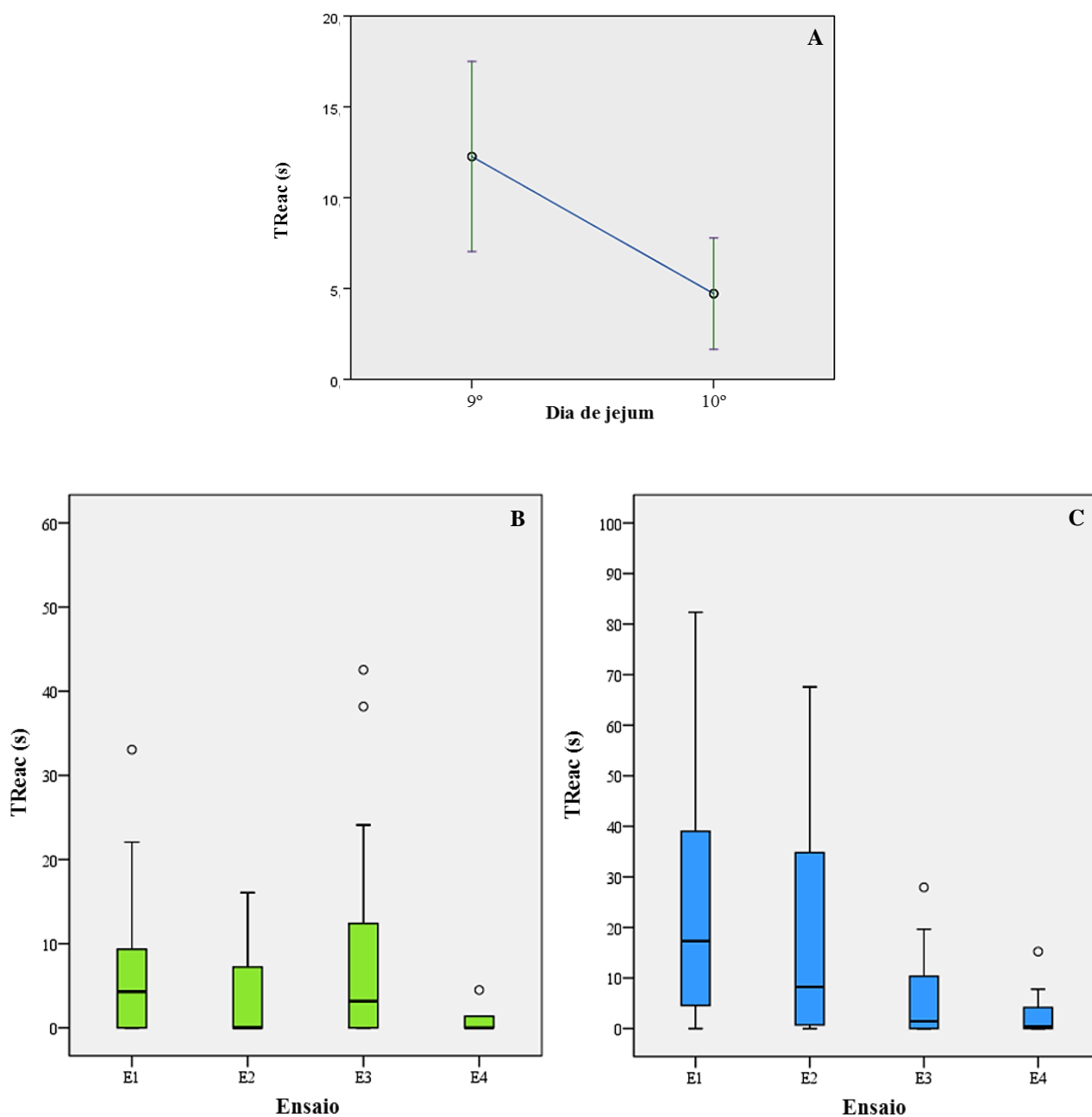


Figura 21 – Comparação entre os valores de tempo de reacção registados ao nono e décimo dia de jejum (A). Tempo de reacção dos indivíduos do grupo I (B) e do grupo II (C) para os quatro ensaios. Legenda: As barras de erro representam o desvio padrão; TReac - Tempo de reacção; E1 - Ensaio 1; E2 - Ensaio 2; E3 - Ensaio 3; E4 - Ensaio 4; ° Valores *outliers*.

O número médio de paragens durante as provas de corrida foi, como no caso das variáveis anteriores, maior no nono dia de jejum e menor no décimo dia de jejum (GLMM, $F_{1,116}=6,01$, $p=0,016$) (Figura 22-A). Tal como se verifica para o tempo de

reacção, o número médio de paragens não variou consideravelmente entre os ensaios do grupo I (Figura 22-B) no entanto, o grupo II registou um número médio de paragens consideravelmente mais elevado para os ensaios 1 e 2 em comparação com os ensaios 3 e 4 (Figura 22-C).

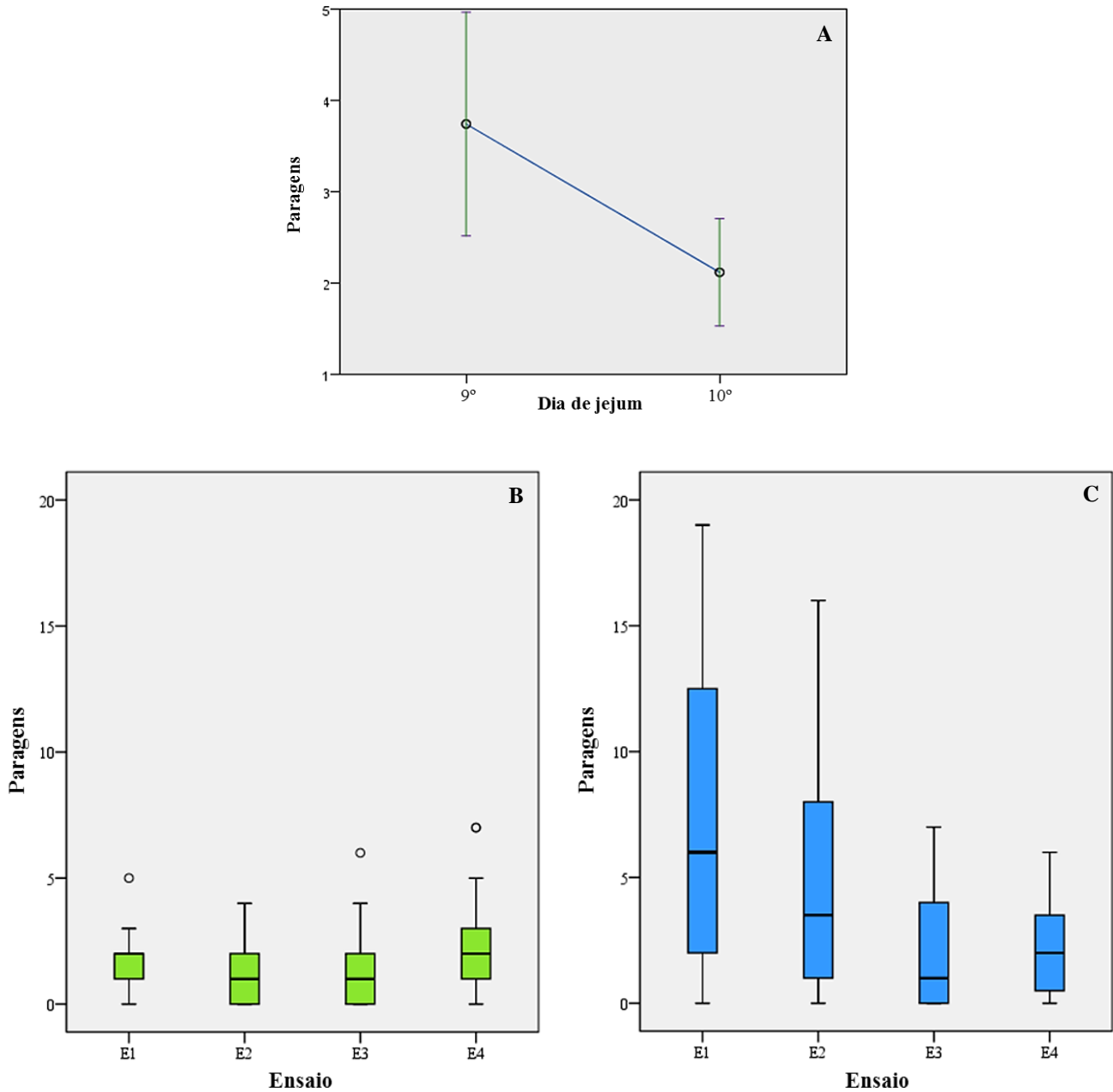


Figura 22 – Comparação entre os números de paragens entre o nono e décimo dia de jejum (A). Número de paragens dos indivíduos do grupo I (B) e do grupo II (C) para os quatro ensaios. Legenda: As barras de erro representam o desvio padrão; Paragens - Número de paragens; E1 - Ensaio 1; E2 - Ensaio 2; E3 - Ensaio 3; E4 - Ensaio 4; °Valores *outliers*.

3.6. Comparação entre o grupo I e o grupo III

As diferenças entre as biometrias dos vários indivíduos ao nascimento não se mantiveram ao fim de seis meses de cativeiro. No entanto, encontra-se uma relação quase significativa entre as larguras e os pesos mas o mesmo não se verificou entre os comprimentos dos dois grupos (Tabela 8).

Tabela 8 – Correlação das principais biometrias dos indivíduos, entre os zero e os seis meses de idade.

Grupo I	Grupo III	Peso (g)	CE (mm)	LE (mm)
Peso (g)	Correlação de Pearson	0,416		
	Sig. (2-extremidades)	0,086		
	N	18		
CE (mm)	Correlação de Pearson		0,320	
	Sig. (2-extremidades)		0,195	
	N		18	
LE (mm)	Correlação de Pearson			0,416
	Sig. (2-extremidades)			0,086
	N			18

Legenda: CE - Comprimento do espaldar; LE - Largura do espaldar.

Encontrou-se entre as oito variáveis seleccionadas uma relação positiva significativa entre a velocidade máxima (VelMax) dos neonatos e o mesmo parâmetro ao fim de 6 meses de cativeiro ($r_s=0,534$, $p=0,027$, $N=17$), mais precisamente entre o ensaio 4 (grupo I) e o ensaio 7 (Grupo III) (Figura 23-A). O mesmo se verificou para a variável que descreve o ângulo médio de movimentos orientados (AngOrient) ($r_s=0,578$, $p=0,015$, $N=17$) (Figura 23-B).

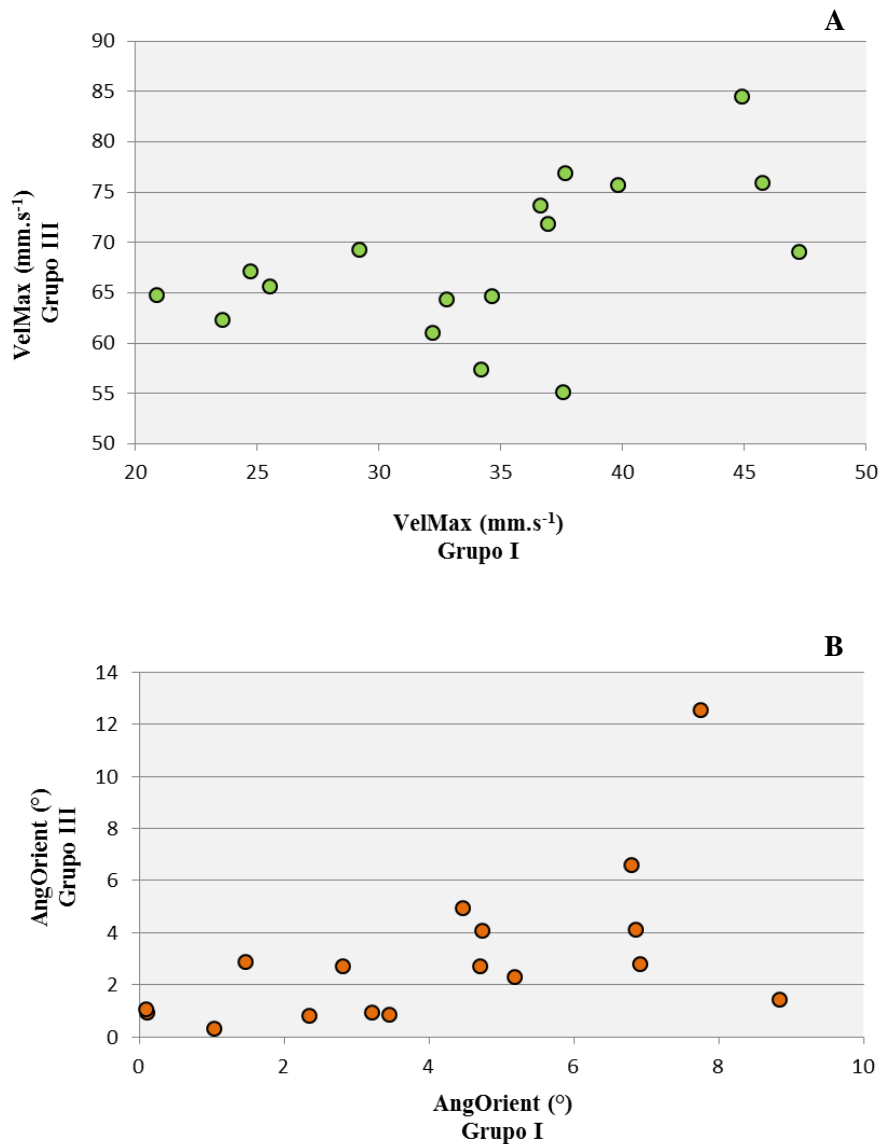


Figura 23 – Repetibilidade individual a médio prazo. A - Relação entre a velocidade máxima de cada neonato (Grupo I) e a velocidade máxima do mesmo indivíduo medida ao fim de seis meses (Grupo III). B - Relação entre o ângulo médio de movimentos orientados de cada neonato (Grupo I) e do mesmo indivíduo medida ao fim de seis meses (Grupo III). Legenda: VelMax - Velocidade máxima; AngOrient - Ângulo médio de movimentos orientados.

Encontrou-se uma correlação fortemente significativa entre a velocidade máxima e o comprimento do espaldar para o grupo I mas o mesmo não se verifica para o grupo III, ou seja essa correlação não se manteve para mesmos indivíduos após seis meses (Tabela 9).

Tabela 9 – Relação entre o comprimento e a velocidade máxima dos indivíduos de cativoiro, entre os zero e os seis meses de idade.

		CE (mm) Grupo I	CE (mm) Grupo III
VelMax (mm.s⁻¹) Grupo I	Correlação de Pearson	,736**	
	Sig. (2-extremidades)	0,000	
	N	18	
VelMax (mm.s⁻¹) Grupo III	Correlação de Pearson		0,243
	Sig. (2-extremidades)		0,33
	N		18

Legenda: CE - Comprimento do espaldar; LE - Largura do espaldar; VelMax - Velocidade máxima;

*A correlação é significativa ao nível de 0,05 (2 extremidades).

**A correlação é significativa ao nível de 0,01 (2 extremidades).

4. Discussão

O presente estudo avalia positivamente a incubação seminatural e o tipo de criação em cativeiro aplicadas no programa de *headstarting* em questão, relativamente à estimativa da qualidade dos indivíduos a nível morfológico, anatómico e de *performance* de comportamentos de locomoção comuns. Neonatos e juvenis não apresentaram perturbações ao nível do desenvolvimento e crescimento, sustentado pelas taxas de crescimento e pelas dimensões corporais adequadas para a espécie. No geral, não se encontram diferenças de qualidade entre os grupos de neonatos; apenas o tempo de latência foi significativamente menor para o grupo I podendo-se justificar por estar sujeito à presença do experimentador há mais tempo ou pelas condições de incubação aplicadas. A existência de aprendizagem verificou-se ao longo dos ensaios para os dois grupos. As medidas de velocidade e de orientação mantiveram-se ao fim de seis meses independentemente de factores morfológicos, sugerindo a existência de uma componente genética forte para a *performance* individual. A curto e a médio-prazo apenas essas medidas de *performance* relativas à corrida foram repetíveis indicando que esta será um índice mais fidedigno que a reposição.

Atendendo a que para as fêmeas de populações portuguesas de *E. orbicularis* estão registadas posturas de 5 a 6 ovos (Araújo *et al.* 1997), o número de neonatos nascidos em cativeiro (22) provenientes das quatro fêmeas capturadas é bastante satisfatório, indicando que nasceram em média cerca de 5,5 neonatos por fêmea. Nos dois anos anteriores do projecto estes valores foram de 3,13 para o ano de 2011 e de 2,17 para o ano de 2012 (Azevedo, dados não publicados).

Também à semelhança dos anos anteriores do projecto a emergência dos neonatos incubados em cativeiro ocorreu no Inverno, com um período de incubação entre os 83 e 117 dias, valores próximos do período de incubação médio conhecido de 80 a 100 dias (Fornelino & Silvestre 1999; Ayres 2009).

Actualmente, a emergência de Primavera está descrita para cerca de 43 espécies e nunca foi descrita como emergência exclusiva para uma espécie, indicando que a emergência tardia é mais generalizada do que se crê e que está dependente de factores ainda indeterminados, sejam genéticos, ambientais, ou outros (Díaz-Paniagua *et al.* 1997; Costanzo *et al.* 2008; Gibbons 2013). O *timing* de emergência parece variar consideravelmente consoante a temperatura média registada durante o verão de cada

ano, o que pode explicar a ocorrência das duas emergências em determinadas regiões (Costanzo *et al.* 2008).

Emys orbicularis é uma das espécies que apresenta maior variabilidade tanto no padrão de emergência como no comportamento de hibernação após eclosão, ao longo da sua distribuição geográfica. Na Polónia observou-se que os neonatos podem emergir no Outono e hibernar noutra local, hibernar no próprio ninho ou em buracos que os próprios escavam (Mitrus & Zemanek 2000, 2004; Costanzo *et al.* 2008). Na Ucrânia, indivíduos da mesma população podem hibernar dentro ou fora do ninho (Kotenko 2000; Zinenko 2004). Os dois tipos de emergência verificam-se também na Rússia, Áustria, França, Lituânia, Alemanha e Eslováquia, sendo que para os últimos cinco países a hibernação dentro do ninho é a mais comum (Servan & Roy 2004; Costanzo *et al.* 2008). Nas populações ibéricas ocorrem igualmente os dois tipos de emergência. Em Espanha constataram-se diferentes adaptações em função das condições do clima, sendo que as populações galegas (Norte) hibernam no ninho, emergindo apenas na primavera, enquanto as populações de Doñana (Sul) emergem nos meses de Agosto e Setembro (Ayres 2009).

As datas de emergência encontradas no decurso deste projecto, incluindo o presente trabalho, sugerem que, tal como nas lagoas do Algarve, o tipo de emergência predominante no sul da área de distribuição de *E. orbicularis* em Portugal continental será a de Primavera, uma vez que apenas se encontraram neonatos no estado selvagem nos meses correspondentes a esta estação. A razão para a diferença observada entre os períodos de emergência na natureza e em cativeiro não é conhecida; no entanto, a regularidade/constância das condições ambientais externas em cativeiro criadas pela simulação de chuva durante todo o Verão poderá ser para os neonatos um sinal de boa qualidade do meio exterior, conduzindo à sua emergência, ao contrário do que acontece na natureza onde as condições extremas de temperatura e humidade serão indicadoras de uma qualidade desfavorável do meio.

4.2. Índices de condição corporal

4.2.1. Comparação entre o grupo I e II

Os valores de peso e de dimensões obtidos para os indivíduos neonatos (ambos os grupos) estão em concordância com os valores referidos para a espécie por outros

autores (Tabela 10), incluindo em estudos com populações da península ibérica. São também semelhantes aos obtidos por Azevedo (dados não publicados) para os primeiros dois anos do projecto.

No presente estudo a incubação seminatural diferiu da incubação na natureza maioritariamente devido à rega manual que foi aplicada, semelhante a períodos de chuva natural. A chuva, natural ou simulada através de rega, aumenta a quantidade de água no substrato e diminui a amplitude térmica, diminuindo as flutuações de temperatura durante a incubação (Matsuzawa *et al.* 2002; Houghton *et al.* 2007). A maioria dos estudos sobre a influência das condições a que os ovos/embriões estão sujeitos durante o período de incubação verifica que o tamanho dos neonatos é influenciado positivamente pelo potencial hídrico do substrato (Miller *et al.* 1987; Janzen *et al.* 1990; Janzen 1993; Miller 1993; Tucker & Paukstis 1999; Filoramo & Janzen 2002; Finkler 2006). Este seria o resultado esperado para o presente estudo; no entanto, as biometrias dos neonatos não foram diferentes entre o grupo I e o grupo II. Este resultado pode ser justificado pelo facto de *E. orbicularis* apresentar ovos de casca dura (Mitrus 2003; Kusuda *et al.* 2013). O fluxo hídrico entre o exterior e o interior do ovo durante a incubação é, regra geral, menor em espécies com ovos de casca dura do que para as espécies com ovos de casca mais flexível, diminuindo a influência que a absorção de água do substrato tem no sucesso do desenvolvimento embrionário (Booth 2002; Booth & Yu 2009; Zhao *et al.* 2013). Deve-se ainda ter em conta que neste estudo o substrato de incubação em cativeiro foi solo natural e não vermiculite. A vermiculite é usada na maioria dos estudos com incubação artificial de cativeiro e apresenta uma condutividade térmica menor que o solo natural, o que altera o potencial hídrico e osmótico, levando a que ovos incubados em solo natural tendam a ganhar mais água (Finkler 2006; Bower *et al.* 2013); no entanto, os dados retirados neste estudo são insuficientes para aprofundar com maior precisão como as características do ovo, as características do solo, e a combinação de ambas, influenciaram os resultados obtidos.

Há ainda a considerar que, ao contrário do que aconteceu com os indivíduos do grupo I, não há a certeza de que os indivíduos do grupo II não se tenham alimentado na natureza antes da sua captura, podendo assim influenciar os valores biométricos medidos.

Tabela 10 – Parâmetros biométricos de neonatos de diferentes populações de *Emys orbicularis*.

País - Região (Ano de postura)	Incub & Ep.Em.	N	Peso (g)	CE (mm)	LE (mm)	CP (mm)	LP (mm)	ACr (mm)	Referências
Polónia – Reserva Natural de Borowiec (1999)	Selv & EI	105	5,04 ± 0,50	26,59 ± 0,97	--	--	--	--	Mitrus & Zemanek (2000)
Polónia – Lubuskie (2008 a 2010)	Selv & EP	32	5,63 (5,0 ^{mín.} ; 6,0 ^{máx.})	25,95 (23 ^{mín.} ; 27,5 ^{máx.})	--	--	--	--	Mitrus & Najbar (2013)
Bielorrússia (1979 a 1998)	Selv & IND	36	6,1 ± 0,21	28,0 ± 0,94	24,4 ± 0,76	25,8 ± 0,63	15,8 ± 0,84	15,6 ± 0,4	Drobenkov (2000)
Ucrânia - Delta do Danúbio (1979 a 1999)	Selv & EI	--	4,68 ⁵ ± 0,50	25,62 ⁶ ± 0,11	--	--	--	--	Kotenko (2000)
Turquia - Lago Sülüklü (2009)	Selv & EP	4	4,18 (4,0 ^{mín.} ; 4,6 ^{máx.})	26,48 ± 0,80	18,4 ± 6,60	23,74 ± 0,46	--	18,24 ± 6,38	Ayaz & Çiçek (2011)
Espanha - Arnoia (2007)	Cat & EI	--	4,0 ¹ ± 0,14	24,8 ² ± 0,31	--	--	--	--	Velo-Antón <i>et al.</i> (2011)
Espanha - Ribadavia (2006 2007)	Cat & EI	--	4,6 ³ ± 0,10	25,6 ⁴ ± 0,29	--	--	--	--	Velo-Antón <i>et al.</i> (2011)
Espanha - Porriño (2006)	Cat & EI	4	5,3 ± 0,08	27,4 ± 0,41	--	--	--	--	Velo-Antón <i>et al.</i> (2011)
Portugal - Boticas (2006)	Cat & EI	29	5,3 ± 0,07	27,5 ± 0,22	--	--	--	--	Velo-Antón <i>et al.</i> (2011)
Portugal - LSL (2011 2012)	Selv & EP	37 14	4,20 ± 0,69 5,60 ± 3,20	25,56 ± 1,42 27,11 ± 5,67	24,17 ± 1,16 26,80 ± 5,02	--	--	--	Azevedo, dados não publicados
Portugal - LSL (2011 2012)	Cat SN & EI	47 26	4,70 ± 0,70 4,25 ± 0,58	26,24 ± 1,56 25,43 ± 1,40	24,90 ± 1,77 23,79 ± 1,31	--	--	--	Azevedo, dados não publicados

Legenda: Incub & Ep.Em.- Tipo de incubação e Época de emergência; N - Número de neonatos; M ± DP - Média ± Desvio Padrão; EP - Emergência de Primavera; EI - Emergência de Inverno; IND - Emergência Indiferenciada; Selv - Incubação no estado selvagem; Cat - Incubação em cativeiro em condições artificiais; Cat SN - Incubação em cativeiro em condições seminaturais; ¹: N=4; ²: N=29; ³: N=14; ⁴: N=11; ⁵: N=105 EI; ⁶: N=114 EI+EP; mín.: valor mínimo; máx.: valor máximo.

Ambos os grupos de neonatos apresentaram uma taxa elevada e muito semelhante de anomalias na carapaça resultantes de placas extranumerárias ou assimétricas ao nível do espaldar: 40,9% dos indivíduos do grupo I e 41,7% dos indivíduos do grupo II. Estes valores são semelhantes aos de populações ibéricas pequenas, que apresentam um número de anomalias nas placas consideravelmente maior que as restantes populações europeias estudadas (Tabela 11) (Fernandéz & Rivera 2004; Rivera *et al.* 2008; Ayres 2009). De igual modo, em todos os estudos referidos na Tabela 11, as anomalias foram encontradas maioritariamente no espaldar, tendo sido mais raras ao nível do plastrão.

A existência de anomalias pode ter três causas possíveis, não-exclusivas: (i) Efeitos da poluição, quando a área onde as populações vivem são industrializados; (ii) Consanguinidade, devido ao pequeno tamanho das populações ou à passagem por *bottlenecks*; (iii) Condições subóptimas de temperatura e/ou humidade durante a incubação (Fernandéz & Rivera 2004; Rivera *et al.* 2008; Velo-Antón *et al.* 2011; Kosik *et al.* 2013; Mcknight & Ligon 2014).

Ao estudarem a relação entre os factores ambientais e a presença de anomalias em *E. orbicularis*, Cordero-Rivera *et al.* (2008) e Velo-Antón *et al.* (2011) encontraram elevadas taxas de anomalias tanto nas populações que habitavam em locais afectados pela poluição, como em locais considerados prístinos, indicando que a elevada concentração de metais pesados e/ou pesticidas não seria a principal fonte da ocorrência de anomalias. Os mesmos e outros autores, estudando populações ibéricas de *E. orbicularis* apontam para que os factores genéticos sejam uma causa predominante para as anomalias na carapaça, não excluindo no entanto a possibilidade dos outros factores estarem igualmente relacionados, ou de se tratar até de uma conjugação de diferentes causas (Fernandéz & Rivera 2004; Velo-Antón *et al.* 2007, 2011; Rivera *et al.* 2008).

A sugestão de que o Sul da península ibérica terá funcionado como refúgio glacial (Lenk *et al.* 1999), e a recente fragmentação extrema e o isolamento das populações ibéricas (Keller & Andreu 2002; Segurado & Araújo 2008) podem ser considerados dois eventos fulcrais de *bottleneck*, o que explica a baixa diversidade genética e alélica das populações ibéricas, sugerindo uma correlação entre a baixa diversidade genética e a elevada presença de anomalias (Velo-Antón *et al.* 2007, 2011; Rivera *et al.* 2008).

O facto de não haver registo de a Lagoa de São Lourenço se encontrar afectada pela poluição (LIFE+ Nature & Biodiversity 2009) juntamente com a ausência de diferenças entre os neonatos sujeitos aos dois tipos de incubação, sugere que as causas genéticas serão também no presente estudo as mais prováveis para justificar a elevada taxa de anomalias encontradas, uma vez que a população existente nesta lagoa é de pequenas dimensões (Moreira 2011), o que aumenta a probabilidade de *inbreeding*.

Também aqui o tipo de casca dura dos ovos desta espécie pode justificar a semelhança na percentagem de anomalias entre os dois grupos de neonatos. A maioria dos estudos em que posturas de espécies de ovos de casca dura são sujeitas a condições diferentes de humidade durante a incubação não reporta efeitos significativos da humidade no que toca à ocorrência de anomalias (Zhu *et al.* 2006; Velo-Antón *et al.* 2011), o que não se verifica em espécies com ovos de casca flexível, nas quais a frequência de neonatos com anomalias aumenta em incubações em substratos mais secos e com temperaturas maiores (Lynn & Ullrich 1950; Velo-Antón *et al.* 2011; Telemeco *et al.* 2013).

Relativamente ao tipo de anomalia, ocorreu maior variedade no grupo II, onde se registaram 7 anomalias diferentes, comparativamente às 3 registadas para o grupo I. Para ambos os grupos a anomalia mais comum foi a existência de uma placa extranumerária entre as placas vertebrais e as placas costais da zona anterior da carapaça. Este tipo de anomalia foi também a mais comum numa população no sul da Hungria (Balázs & Györffy 2006), assim como entre os juvenis que nasceram nos dois anos anteriores do projecto LIFE (Azevedo, dados não publicados), com uma frequência superior a 90% nos indivíduos com anomalias, tanto no grupo de cativeiro como no selvagem. Nos estudos de Ayres Fernández & Cordero-Rivera (2004) e Cordero-Rivera *et al.* (2008), ambos com populações ibéricas, e de Kosik *et al.* (2013) (população da Polónia) a anomalia mais comum foi uma placa extranumerária entre as placas vertebrais 4 e 5, sendo que apenas em Cordero-Rivera *et al.* (2008) o segundo tipo de anomalia mais frequente corresponde à resultante neste estudo.

Tabela 11 – Percentagem de indivíduos com anomalias e tamanho da amostra, por classe etária e/ou sexo, registados em diferentes populações europeias de *Emys orbicularis*.

País - Região	% Indivíduos com anomalias (N total)	Classe etária e/ou Sexo	Referências
Suíça - Genf	23,8% (260)	Adultos	<i>In Cordero et al. (2008)</i>
Polónia - Rio Ilanka	54,0% (27)	Adultos	<i>In Cordero et al. (2008)</i>
Polónia - Reserva Natural de Borowiec	8,42% (202)	Neonatos	Mitrus & Zemanek (2000)
Polónia - Lubuskie	33,7% (279)	Todos	Najbar & Szuszkiewicz (2006)
Polónia - Parque Nacional de Polesie	15,6% (441)	Neonatos e Juvenis	Kosik et al. (2013)
Hungria - Rio Tisza	14,2% (458)	Todos	Balázs & Györffy (2006)
Bielorrússia - Rio Pripyat e Rio Bug	30,8% (65)	Machos	<i>In Rivera et al. (2008)</i>
	9,2% (174)	Fêmeas	<i>In Rivera et al. (2008)</i>
	12,5% (24)	Juvenis	<i>In Rivera et al. (2008)</i>
Alemanha - Brandenburg	7,7% (52)	Adultos	<i>In Rivera et al. (2008)</i>
Espanha - Bacia do Rio Louro	75% (110)	Adultos e Juvenis	Fernandéz & Rivera (2004)
	100% (21)	Neonatos	Fernandéz & Rivera (2004)
Espanha - Arnoia	40% (55)	Todos	Fernandéz & Rivera (2004)
Espanha - Arnoia	38% (74)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Espanha - Porriño	69% (166)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Espanha - Ribadavia	63% (43)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Espanha - Madrid	9% (32)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Espanha - Ciudad Real	30% (23)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Espanha - Valencia	29% (55)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Espanha - Doñana	3% (34)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Espanha - Salamanca	29% (14)	Todos	Rivera et al. (2008)
Espanha - Zamora	39% (28)	Todos	Rivera et al. (2008)
Espanha - Zamora	19% (78)	Todos	<i>In Rivera et al. (2008)</i>
Espanha - Minorca	3,3% (30)	Adultos	<i>In Rivera et al. (2008)</i>
Portugal - Boticas	36% (42)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Portugal - Almogrove	54% (26)	Todos	Velo-Antón et al. (2011)
Portugal - Castro Verde	27% (11)	Todos	Rivera et al. (2008)
Portugal - LSL	21,6% (51)	Neonatos	Azevedo (dados não publicados)
Portugal - LSL ^a	13,9% (72)	Neonatos	Azevedo (dados não publicados)

Legenda: ^a Incubação em cativeiro em condições seminaturais.

4.2.2. Comparação entre o grupo I e III

A inexistência de uma correlação significativa entre as dimensões corporais dos indivíduos ao nascimento e depois de seis meses de cativeiro parece dever-se à variabilidade na taxa de crescimento durante o cativeiro. Analisando a relação entre o comprimento dos indivíduos de ambos os grupos e as respectivas taxas de crescimento, esta é significativa apenas para o grupo III, indicando que os indivíduos que são maiores ao fim de seis meses são-no por terem tido maiores taxas de crescimento e não por terem sido os maiores ao nascimento.

Relativamente ao grupo III, os valores de peso e dimensões registados ao fim de seis meses de criação em cativeiro (Anexo III) são semelhantes aos reportados por Mitrus & Zemanek (1999), que ao fim do mesmo período de criação em cativeiro registaram valores de peso médios de 14,98 g e de comprimento do espaldar de 39,32 mm. Os dados apresentados no mesmo estudo apontam para uma taxa de crescimento diária de $0,072 \text{ mm.dia}^{-1}$, consideravelmente próxima da taxa de $0,088 \text{ mm.dia}^{-1}$ obtida no presente estudo.

4.3. Índices de condição física

4.3.1. Repetibilidade individual

Dos dois testes de locomoção realizados para avaliar a condição física dos indivíduos, o teste de reposicionamento e o teste de corrida, apenas no último se verificou a existência de repetibilidade na *performance* dos indivíduos nascidos e criados em cativeiro.

4.3.1.1. Teste de Reposicionamento

A acção de reposicionamento apresenta uma componente mecânica que corresponde ao acto de reposição e uma componente de latência. Iniciada a tentativa de reposicionamento os neonatos demoraram no máximo 11 segundos a voltar à posição normal, em relação aos 58 segundos totais (Anexo IV), sendo assim o tempo de latência o componente com mais influência neste teste, tal como foi observado em estudos anteriores (Steyermark & Spotila 2001a; Paitz *et al.* 2010). No entanto, o mesmo não se

verificou ao grupo III uma vez que, com uma única exceção, o tempo de latência foi igual a zero em todos os ensaios.

Não foi encontrada qualquer repetibilidade de curto ou de médio prazo entre ensaios, e para ambas as variáveis de reposicionamento, o que é uma indicação que este teste não deverá ser apresentado como um índice fidedigno para avaliar qualidade em neonatos de tartarugas. Isto era de algum modo esperado; Num estudo recente sobre este comportamento em neonatos de *Emydoidea blandingii* e de *Apalone spinifera*, Davy *et al.* (2014) concluíram que este não será válido para estimar *fitness* individual relativa, *performance* ou qualidade fenotípica, uma vez que não satisfaz um critério essencial, a repetibilidade da ordem de classificação dos indivíduos.

Tal como nos estudos de Elnitsky & Claussen (2006) e de Ashmore & Janzen (2003), nenhuma das variáveis medidas no teste de reposicionamento se relacionou com outras medidas de *performance* locomotora avaliadas neste estudo.

4.3.1.2. Teste de Corrida

Para as variáveis medidas no teste de corrida os neonatos mantiveram a sua ordem de classificação entre ensaios relativamente ao número de movimentos orientados realizados e às velocidades médias e máximas atingidas durante o percurso. A correlação positiva significativa entre ensaios distanciados por pares de horas e/ou dias consecutivos indica que a *performance* dos neonatos é repetível ou seja, que de um modo geral a sua qualidade intrínseca se mantém ao longo dos ensaios. Este resultado era de algum modo esperado; ao longo das últimas décadas vários estudos de *performance* locomotora realizados com diferentes espécies de lagartos obtiveram resultados semelhantes relativamente à consistência no desempenho dos indivíduos. Bennett (1980) verificou em seis espécies de lagartos que os indivíduos mais rápidos e os mais lentos mantinham a sua posição relativa entre diferentes dias dentro do mesmo grupo de indivíduos, entre diferentes grupos da mesma espécie e entre indivíduos do mesmo grupo em ensaios ocorridos à mesma temperatura corporal ou a temperaturas corporais diferentes. Huey & Dunham (1987) e van Berkum *et al.* (1989) obtiveram igualmente uma concordância entre as medições de velocidade máxima entre testes realizados a diferentes temperaturas em indivíduos adultos de *Sceloporus merriami* e em neonatos de *Sceloporus occidentalis*, respectivamente. Mais recentemente, ao testarem a *performance* locomotora em tartarugas juvenis da espécie *Podocnemis*

expansa, Jaffé *et al.* (2008) não encontraram variações entre os resultados de velocidade média obtidos por cada animal em diferentes ensaios de corrida.

Obteve-se uma correlação altamente significativa e positiva entre o comprimento dos neonatos e a sua velocidade máxima; este resultado é consistente com a hipótese “*bigger is better*” que descreve que neonatos maiores apresentam uma melhor *performance* e *fitness* em relação aos seus conspecíficos mais pequenos, já relatada em vários estudos (Miller *et al.* 1987; Janzen 1993; Miller 1993; Janzen *et al.* 2000a, 2000b; Du & Ji 2003; Myers *et al.* 2007).

A consistência na *performance* dos indivíduos manteve-se pelo menos durante os primeiros meses de criação em cativeiro. No entanto, essa consistência não aconteceu no comprimento dos indivíduos, ou seja os neonatos maiores não continuaram a sê-lo seis meses depois. Assim, a forte correlação que existia entre velocidade máxima e comprimento do espaldar aquando da fase de neonatos não se manteve. Isto indica que a *performance* individual, nomeadamente a medida pela velocidade mostra então ser, a médio prazo, uma característica estável ao nível do indivíduo e independente da taxa de crescimento ou tamanho do mesmo. Este resultado era expectável e pode indicar a existência de uma componente genética ou resultante da qualidade de incubação para a *performance* individual. Estudos anteriores reportam a existência de repetibilidade de *performance* individual na natureza para medidas de locomoção como a velocidade e a resistência até 1 ano em adultos de *Sceloporus merriami* (Huey & Dunham 1987) e em juvenis de *Thamnophis sirtalis fitchi* (Jayne & Bennett 1990b), e até aos 8 meses em juvenis de *Sceloporus occidentalis* (van Berkum *et al.* 1989).

A *performance* locomotora é um traço fenotípico da descendência e como tal é afectado, principalmente nas primeiras fases de vida, por diversos factores, entre eles os efeitos genéticos e os efeitos maternos (van Berkum & Tsuji 1987; Bernardo 1996; Jakob *et al.* 1996; Paitz *et al.* 2010). Os efeitos maternos ocorrem quando o fenótipo da descendência é directamente afectado pelo fenótipo da progenitora, como por exemplo o resultado de uma correlação positiva entre o tamanho da fêmea e o do ovo, do investimento na qualidade nutricional do ovo ou na escolha das condições de incubação (ex.: local, profundidade, condições internas do ninho) (Parichy & Kaplan 1995; Rowe 1995; Kolbe & Janzen 2001; Steyermark & Spotila 2001a, 2001b; Warner *et al.* 2010; Dallara 2011). Os factores genéticos que podem influenciar a *performance* locomotora são alvo de selecção natural; os indivíduos são simplesmente diferentes geneticamente e

essa diferença é mais ou menos acentuada consoante a composição genética dos progenitores (Cheverud *et al.* 1983; van Berkum & Tsuji 1987; Garland Jr. 1988; Steyermark & Spotila 2001a; Delmas *et al.* 2007).

O desenho experimental deste estudo não nos permite aferir sobre os efeitos maternos ou componentes genéticas que possam explicar os resultados de *performance* obtidos, uma vez que não foi identificada a progenitora de cada ninhada, a relação entre os neonatos ou outras características, como a quantidade de vitelo por exemplo, que implicariam o uso de metodologias letais, contraproducentes no programa de *headstarting*; no entanto, as diferenças genéticas podem justificar que a médio-prazo a qualidade de *performance* locomotora dos indivíduos se tenha mantido independente das características morfológicas dos mesmos, como relatado em outros estudos.

Garland Jr. (1985) verificou para indivíduos da espécie *Amphibolurus nuchalis* não só que a velocidade máxima se repetia ao fim de 8 semanas de cativeiro, mas que a variabilidade individual não se relacionava com nenhum dos vários caracteres morfológicos medidos. van Berkum & Tsuji (1987) publicaram o primeiro estudo que aborda uma base genética quantitativa sobre diferentes características da locomoção numa população de répteis, nomeadamente em neonatos de *Sceloporus occidentalis* nascidos em cativeiro. Este estudo apresentou evidências que a variabilidade na velocidade de corrida tem uma componente genética forte, com uma heritabilidade estimada entre os 0,4 e os 0,6, diferenciando-se significativamente entre ninhadas mas não entre indivíduos com diferentes tamanhos.

Neste trabalho foi encontrada repetibilidade de médio-prazo não só para a velocidade máxima mas também para a variável que descreve o ângulo médio de movimentos orientados. Este resultado não era antecipado; no entanto foi semelhante ao que se verificou para a velocidade máxima, sugerindo que a qualidade de *performance* locomotora individual é conservada não só ao nível da capacidade física mas também ao nível da coordenação motora e de orientação espacial durante a corrida.

Embora os indivíduos tenham sido mantidos nas mesmas condições durante o cativeiro, deve-se atender ao facto de existirem factores/condições ambientais, externas à experimentação ou que não foram medidas que, tal como a componente genética, afectam os indivíduos ao nível morfológico, fisiológico e comportamental.

4.3.2. Comparação entre o grupo I e II

Dos testes de locomoção realizados para avaliar a condição física dos indivíduos, o teste de reposicionamento foi o único em que se observaram diferenças significativas entre os dois grupos de neonatos, o grupo I incubado em condições seminaturais de cativeiro e o grupo II incubado na natureza.

Para estudar as consequências da variação de *performance* de um indivíduo, os índices a usar devem ser seleccionados com base na importância que demonstram ter na *fitness* dos indivíduos em condições naturais (Pough 1989; Garland Jr. & Losos 1994; Wilson & Nussey 2010; Davy *et al.* 2014).

Como referido anteriormente, na natureza é frequente que os neonatos de tartarugas se desestabilizem e fiquem posicionados com o plastrão para cima, principalmente na primeira fase de vida (Delmas *et al.* 2007; Refsnider 2012). Para os neonatos a duração desta exposição a predadores tem um forte efeito na sobrevivência, principalmente durante as primeiras migrações após a emergência do ninho (Delmas *et al.* 2007; Paitz *et al.* 2010). Mitrus & Najbar (2013) verificaram que as fêmeas de uma população de *E. orbicularis* na Polónia faziam ninhos até cerca de 290m de distância da massa de água mais próxima e que a taxa de sobrevivência foi maior nos neonatos provenientes dos ninhos mais próximos à água. A rapidez da resposta de reposicionamento é também um provável indicador da capacidade de realizar outras acções físicas na natureza, bem como de coordenação muscular, força física e capacidade de fuga à predação (Burger 1976; Freedberg *et al.* 2004; Delmas *et al.* 2007; Refsnider 2012).

Os estudos prévios indicam que as condições durante o desenvolvimento podem afectar a capacidade de reposicionamento dos juvenis até um ano após o nascimento, o que demonstra o potencial para efeitos de longo prazo do ambiente de incubação no fenótipo (Freedberg *et al.* 2004; Paitz *et al.* 2010).

O acto de reposição demorou poucos segundos nos neonatos de *E orbicularis*, (Anexo IV) tal como observado em estudos anteriores (Steyermark & Spotila 2001a; Paitz *et al.* 2010), o que faz com que o tempo de latência tenha sido a componente deste teste com maior variação entre ambos os grupos de neonatos. O grupo I foi significativamente mais rápido ($8,87 \pm 12,35$ s) a iniciar a reposição em comparação

com o grupo II ($26,87 \pm 29,92$ s). Uma vez que o reposicionamento varia consideravelmente consoante factores como o tamanho dos indivíduos, o sexo, a ninhada, estado nutricional e efeitos maternos (Steyermark & Spotila 2001a; Mullins & Janzen 2006; Delmas *et al.* 2007; Refsnider 2012; Davy *et al.* 2014) e dado que no presente estudo não foi possível conhecer as relações genéticas entre os indivíduos (a que postura/fêmea pertencem) e os dados precisos sobre a incubação (ex.: temperatura dentro dos ninhos), na análise deste resultado podemos apenas comentar sobre possíveis razões relacionadas com as provas de locomoção e com a influência do substrato/solo.

Uma das razões para esta diferença poderá estar relacionada com o facto de o grupo I ter estado sujeito a estímulos relacionados com a presença do experimentador desde a sua emergência, ao contrário do que aconteceu para o grupo II, tendo uma resposta mais rápida aquando da presença do “perigo”, simulado neste estudo pelo experimentador.

No que respeita às diferenças nas características do substrato durante a incubação de cada um dos grupos, a maior humidade e a menor amplitude térmica no solo de incubação em cativeiro resultantes da rega manual (Matsuzawa *et al.* 2002; Houghton *et al.* 2007), podem ter influenciado o desenvolvimento dos embriões e consequentemente a *fitness* dos indivíduos. Vários estudos deste âmbito realizados com espécies de tartarugas de água-doce referem resultados semelhantes: Freedberg *et al.* (2001) verificaram que neonatos de *Graptemys ouachitensis* incubados a temperaturas mais quentes tinham maior tempo de latência do que os incubados a temperaturas menores (as temperaturas usadas variaram entre os 22°C e os 33°C). Embora medindo apenas o tempo de reposição, Micheli-Campbell *et al.* (2011) obtiveram igualmente diferenças significativas entre grupos de neonatos de *Elusor macrurus* incubados a diferentes temperaturas, tendo sido o grupo incubado a menor temperatura (26,1°C) mais rápido a reposicionar-se que os grupos incubados a temperaturas mais elevadas (29,1°C e 32,1°C). Igualmente para o tempo de reposição e relativamente ao ambiente hídrico durante a incubação, um estudo mais recente de Zhao *et al.* (2013) descreveu, para a espécie *Pelodiscus sinensis*, que neonatos incubados em condições mais húmidas demoraram menos a reposicionar-se que os incubados em condições mais secas. Relativamente a outras medições de *performance*, Miller (1993), Miller *et al.* (1987) e Finkler (1999) verificaram que os indivíduos de *Chelydra serpentina* incubados num substrato mais húmido apresentaram taxas metabólicas mais elevadas, maior tolerância à dissecação e melhor *performance* locomotora em comparação com indivíduos

incubados em substratos secos. Deve-se ainda ter em conta que neste estudo o substrato de incubação em cativeiro se trata de solo natural e não de substrato de vermiculite usado na maioria dos estudos com incubação artificial de cativeiro. Este ponto é importante na medida em que o solo natural apresenta condutividade térmica maior do que a vermiculite, alterando o potencial hídrico e osmótico desse meio e levando a que os ovos incubados no primeiro tipo de substrato tendam a ganhar mais água do que os incubados em vermiculite (Finkler 2006; Bower *et al.* 2013).

Para as variáveis medidas dentro do teste de corrida não foram encontradas, tal como no caso das biometrias e anomalias, quaisquer diferenças entre os dois grupos de neonatos.

4.3.3. Comparação entre dias de jejum

Foram encontradas diferenças significativas entre o nono e o décimo dia de jejum para uma medida referente ao teste de reposicionamento, o tempo de latência, e para duas medidas pertencentes ao teste de corrida, o tempo de reacção e o número de paragens (Anexo V). Era esperado encontrar diferenças entre os dois dias de ensaios, independentemente do tipo de teste ou medida de *performance*.

4.3.3.1. Tempo de latência

Para ambos os grupos, os valores de tempo de latência foram consideravelmente maiores no primeiro ensaio, relativamente aos restantes três, sugerindo a existência de aprendizagem.

Embora durante as provas não tenha ocorrido algum tipo de condicionamento que pudesse estimular a habituação ou aprendizagem, os indivíduos aparentam ter melhorado a sua *performance* após o primeiro ensaio. Assim, assumindo que os neonatos são *naive*, e sendo improvável que tenham experiência prévia de reposicionamento até serem sujeitos ao primeiro ensaio deste teste, os valores do primeiro ensaio podem dever-se a um fenómeno de “falta de experiência” ou seja, os valores de tempo frequentes do primeiro ensaio, podem ser uma reacção primária dos indivíduos à nova situação a que estão expostos.

Apesar de haver igualmente uma diminuição dos tempos de latência registados para o grupo II ao longo dos três ensaios seguintes, esta é menos evidente e não é

significativa como no caso do grupo I. O facto de a aprendizagem se apresentar mais forte e significativa apenas para o grupo I pode dever-se a uma reacção inicial mais rápida aos estímulos de perigo simulados pela presença do experimentador ao qual o grupo esteve sujeito desde a emergência do ninho, conduzindo conseqüentemente a uma aprendizagem também mais rápida.

Ryan (1990) e mais tarde Steyermark & Spotila (2001a) observaram em neonatos de *Chelydra serpentina* um melhoramento da *performance* logo após o primeiro ensaio e sem distinção entre grupos incubados em diferentes condições de temperatura, ou entre grupos testados a temperaturas corporais diferentes, respectivamente. Bem mais recentemente, Davy *et al.* (2014) relatam resultados que suportam também a teoria da aprendizagem, uma vez que o tempo total de reposição diminuiu ao longo dos ensaios em neonatos de *Emydoidea blandingii*, apesar do mesmo não se ter verificado para a outra espécie em estudo, *Apalone spinifera*.

4.3.3.2. Tempo de reacção e Número de paragens

A diferença de tempo de reacção e número de paragens entre os dois dias de jejum deveu-se à disparidade de valores registados, dentro do grupo II, entre os ensaios 1 e 2 (nono dia) e os ensaios 3 e 4 (décimo dia), sendo que o grupo I registou valores semelhantes entre ensaios.

Para ambas as variáveis, os valores registados para o grupo I a partir do primeiro ensaio não diferiram significativamente dos registados nos três ensaios seguintes, principalmente no número de paragens efectuadas ao longo do percurso. No caso do grupo II, igualmente para ambas as variáveis, registaram-se valores significativamente mais elevados nos dois primeiros ensaios do que nos dois últimos, havendo no entanto um decréscimo de valores logo a partir do segundo ensaio. Deve ainda destacar-se o facto de, no último ensaio, os valores que se registaram para ambos os grupos serem bastante próximos. Estes resultados indicam que os indivíduos do grupo II terão “piores” resultados iniciais mas que eventualmente acabam por atingir valores semelhantes aos registados ao longo dos ensaios para o grupo I. Indicam também que, tal como para o tempo de latência, parece existir uma habituação ou aprendizagem ao longo dos ensaios.

O tempo de reacção é por definição bastante semelhante ao tempo de latência uma vez que se trata do tempo que os indivíduos demoram a reagir mecanicamente a

um estímulo de ameaça; os valores registados para o quarto ensaio de cada grupo, principalmente do grupo II são semelhantes à habituação/aprendizagem observada para o tempo de latência e reforça a ideia de que o grupo I pode reagir primeiro ao estímulo do experimentador por estar sujeito à sua presença quase desde a emergência do ninho, demorando menos tempo nas suas reacções, comparativamente com o grupo II.

O tempo de reacção, persistência em permanecer imóvel perante uma provável ameaça, poderá ser interpretado como um possível comportamento antipredatório dos indivíduos pois estes podem preferir permanecer imóveis em condições naturais, apresentando um comportamento crítico. Este comportamento pode ser no entanto mais comum em umas espécies do que em outras (Janzen 1995; Morafka *et al.* 2000) e não era algo expectável para os neonatos de *E. orbicularis*, pelo menos do que diz respeito ao desenho experimental em causa, uma vez que a corrida ocorreu em meio terrestre aberto incitando ao máximo para reacções de fuga e o único refúgio estava no meio aquático.

A locomoção intermitente, locomoção em que existe alternância entre movimentos e paragens (ambos geralmente breves) encontra-se em contextos vários como a procura de alimento ou a fuga a predadores. Os estudos que quantificam a locomoção intermitente são escassos principalmente em répteis; no entanto sabe-se que uma locomoção intermitente permite que durante as paragens os indivíduos recuperem da actividade anterior, aumentem a sua resistência física durante a prova e aumentem a capacidade de detectar estímulos exteriores relevantes (Weinstein & Full 2000; Kramer & McLaughlin 2001; Weinstein 2001). Os resultados deste estudo não permitem aferir sobre causas fisiológicas no entanto, a ideia de que as reacções aos estímulos de ameaça e à presença do experimentador justificam em parte o número de paragens registado ao longo dos quatro ensaios assemelha-se à noção de que a locomoção intermitente tem benefícios para a percepção de estímulos. Tal como para o tempo de reacção, não se pode descartar a ideia de que o acto de parar pode estar relacionado com um comportamento crítico, uma vez que o movimento pode levar a uma detecção indesejada.

5. Considerações finais

A conservação *ex situ*, particularmente os programas de *headstarting*, é uma ferramenta usada com frequência na conservação de tartarugas marinhas e de água doce. A existência de algum cepticismo em relação à competência que os indivíduos criados nestes programas terão para sobreviver e reproduzir-se em meio natural, aumenta a necessidade de investigar e avaliar estes programas, nomeadamente no que toca aos efeitos dos ambientes artificiais e da adaptação ao cativeiro (Alberts 2007; Burghardt 2013). Desde há várias décadas que inúmeros estudos relatam a influência que o tipo de incubação e as condições de criação antes da libertação na natureza têm nos indivíduos a nível morfológico, fisiológico e comportamental (ex.: Packard *et al.* 1987; Finkler 2006; Micheli-Campbell *et al.* 2011; Bower *et al.* 2013). Esses indivíduos podem, entre alguns exemplos, apresentar anomalias anatómicas, exibir comportamentos agressivos para com os conspecíficos que podem resultar em ferimentos graves, ou morte, ou apresentar problemas físicos devido às condições de cativeiro, tais como falta de tonificação muscular ou de velocidade de *sprint* adequada (Snyder *et al.* 1996; Alberts 2007).

A *performance* locomotora influencia a sobrevivência pelo seu papel em comportamentos de fuga, procura de alimento, etc., e torna-se essencial que esta seja testada principalmente nas suas relações com a condição corporal e com a sobrevivência. No entanto, existe um conjunto de limitações que surgem aquando dessa avaliação, em particular conhecer (1) o que constitui, com precisão uma “boa *performance*” para cada espécie, (2) como estas medidas se relacionam entre si, ou seja, como a morfologia e *performance* se traduzem em *fitness* (sobrevivência e sucesso reprodutor), (3) qual a importância evolutiva de cada carácter, isto é, como a selecção opera, e com que intensidade e (4) como estas correlações variam ao longo da ontogenia e como se comportam em conjunto com os efeitos ecológicos/ambientais a que estão sujeitos (Irschick *et al.* 2008; Refsnider & Janzen 2012).

Não se espera que a intensidade da acção da selecção natural em qualquer carácter (morfológico ou de *performance*) seja constante, e de igual modo não se pode esperar uma relação estrita e constante entre morfologia, *performance* e *fitness* ao longo da ontogenia dos indivíduos. Os resultados obtidos neste estudo reforçam a ideia de que determinadas medidas de *performance* determinados são mais constantes ao longo das primeiras fases de vida do que os caracteres morfológicos. Este estudo indicia assim, a

par de anteriores, que a velocidade tem uma forte componente genética e que é variável e repetível entre os indivíduos.

Na reprodução e criação em cativeiro deve-se ao máximo retratar as condições existentes no meio natural, não obstante à utilização de metodologias que aumentem a probabilidade do sucesso do programa.

No caso de incubações em cativeiro, as escolhas dos métodos usados têm implicações sérias no seu sucesso, principalmente devido à sensibilidade das ninhadas às condições ambientais (humidade, temperatura, salinidade do solo, etc.) a que estão sujeitas. Quando o objectivo não é controlar a produção de sexos diferentes, uma incubação a temperaturas flutuantes, representativa do que acontece na natureza, deverá ser a opção a considerar, contrariamente à incubação artificial que tem lugar a temperaturas constantes e em substrato de vermiculite.

No Algarve, onde este programa teve lugar, as temperaturas elevadas e a falta de humidade podem ser factores de risco para o desenvolvimento dos embriões de *E. orbicularis*. O êxito na taxa de nascimentos após a incubação seminatural aplicada neste programa de reprodução, com o uso de solo natural e com regulação da humidade e temperatura veio reforçar a utilidade destes métodos em locais onde restam pequenos núcleos populacionais. Estes podem ser beneficiados através de planos de reprodução que incluam metodologias básicas, como a manutenção diária das células de reprodução. Algo comum mas que não se realizou neste programa devido à falta de recursos humanos e financeiros é a monitorização de factores como o local do ninho, a progenitora e o seu comportamento durante o período de desova, a temperatura dos ninhos, as propriedades do solo e do ninho (temperatura, nível do oxigénio, etc.). No entanto, o presente estudo não indica que essa falta tenha alterado o sucesso do programa ou prejudicado os objectivos a cumprir.

Particularmente preocupante num programa em que a criação dura até dois anos em cativeiro e que abrange a primeira e crucial fase de vida, é a repercussão que o tipo de criação pode ter ao nível das condições comportamentais e físicas, principalmente ao nível da domesticação. Os dados deste estudo mostram que relativamente ao tipo de criação adoptado, pelo menos até aos seis meses, não terá consequências negativas nos comportamentos naturais perante estímulos, nem nas condições físicas e de crescimento, pois os animais mantiveram a sua qualidade de *performance* desde neonatos e apresentaram valores de crescimento semelhantes aos conhecidos para a espécie. Ainda

assim, há que ter em conta que, ao contrário dos neonatos, este grupo não foi comparado com conspécíficos de populações naturais próximas na mesma fase de vida. A comparação entre grupos de neonatos nascidos em ambientes diferentes foi uma mais-valia neste estudo e deverá ser utilizada sempre que possível em qualquer estudo de avaliação de indivíduos em cativeiro.

Fundamentalmente, os programas de *headstarting* devem beneficiar as crias nascidas no mesmo e diminuir a mortalidade neonatal, que é geralmente alta na natureza durante a incubação e durante a hibernação.

No entanto, uma vez que estes programas abordam apenas uma das causas do declínio (mortalidade nas primeiras fases de vida), a sua eficácia permanece muitas vezes por avaliar, pois estas técnicas são muitas vezes incorporadas em planos de gestão sem estudos prévios de suporte, por exemplo ao nível da fase de reintrodução (Vitt & Caldwell 2009; Ralls & Ballou 2013).

Para a conservação do cágado-de-carapaça-estriada é elementar conservar o seu habitat, sobretudo as zonas onde ocorre sobreexploração de recursos hídricos, recuperando o habitat de reprodução, abrigo e alimentação, e aumentando as populações, bem como as áreas ocupadas pela espécie (ICN 2006; LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Fritz & Chiari 2013). É igualmente essencial controlar as introduções furtivas de espécies não autóctones que, para além de serem predadores não naturais de juvenis de *E. orbicularis*, alteram a dinâmica dos ecossistemas em que esta está inserida, bem como uma fiscalização correta por parte das autoridades competentes. Para que esta problemática seja gerida de modo adequado, é igualmente necessário informar e sensibilizar a comunidade, bem como promover estudos científicos (ICN 2006; LIFE+ Nature & Biodiversity 2009; Fritz & Chiari 2013). É essencial, apesar das dificuldades na obtenção de fundos a longo prazo, que haja uma avaliação da fase que diria ser a mais importante nestes programas, e que é a monitorização e acompanhamento das populações libertadas. Esta monitorização é mais importante quando ocorrem estudos que avaliam a qualidade dos indivíduos, de modo a entender a relação morfologia-*performance-fitness*, principalmente quando se trata de espécies em que os primeiros efeitos desta relação podem ser visíveis apenas ao fim de 10-20 anos.

Os resultados do programa de *headstarting* no RIAS, o primeiro do género para répteis em Portugal, revelaram-se um êxito para este projecto e possivelmente para a

conservação de *Emys orbicularis*, com a libertação de 61 juvenis saudáveis, nascidos e criados em cativeiro, que representam um importante incremento na população que é estimada existir em cada uma das lagoas de que são provenientes.

6. Referências bibliográficas

- Alberts, A. C. 2007. Behavioral considerations of headstarting as a conservation strategy for endangered Caribbean rock iguanas. *Applied Animal Behaviour Science* **102**:380–391.
- Araújo, P. R., P. Segurado, and N. Santos. 1997. Bases para a conservação das tartarugas de água doce, *Emys orbicularis* e *Mauremys leprosa*. Estudos de biologia e conservação da natureza; 24. Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.
- Armstrong, D. P., and P. J. Seddon. 2008. Directions in reintroduction biology. *Trends in Ecology & Evolution* **23**:20–25.
- Arnold, S. J. 1983. Morphology, performance and fitness. *Integrative and Comparative Biology* **23**:347–361.
- Ashmore, G. M., and F. J. Janzen. 2003. Phenotypic variation in smooth softshell turtles (*Apalone mutica*) from eggs incubated in constant versus fluctuating temperatures. *Oecologia* **134**:182–188.
- Austin, C. C., and H. B. Shaffer. 1992. Short-, medium-, and long-term repeatability of locomotor performance in the Tiger Salamander *Ambystoma californiense*. *Functional Ecology* **6**:145.
- Ayaz, D., and K. Çiçek. 2011. Overwintered Hatchlings of *Emys orbicularis* from Lake Sülüklü (Western Anatolia, Turkey). *Ecologia Balkanica* **3**:111–115.
- Ayaz, D., K. Çiçek, and C. V. Tok. 2007. Overwintered hatchling of *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) observed in Turkey. *Herpetozoa* **19**:189–192.
- Ayres, C. 2009. Galápagos europeo – *Emys orbicularis*. Pages 1–21 in A. Salvador and A. Marco, editors. *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
- Ayres, C. *et al.* 2013. Conservation projects for *Emys orbicularis* in Spain. *Herpetology Notes* **6**:157–164.
- Balázs, E., and G. Györffy. 2006. Investigation of the European pond turtle (*Emys orbicularis*) Linnaeus, 1758) population living in a backwater near the river Tisza, southern Hungary. *Tiscia* **35**:55–64.
- Baudinette, R. V., A. M. Miller, and M. P. Sarre. 2000. Aquatic and terrestrial locomotory energetics in a toad and a turtle: a search for generalisations among ectotherms. *Physiological and Biochemical Zoology* **73**:672–682.

- Bennett, A. F. 1980. The thermal dependence of lizard behaviour. *Animal Behaviour* **28**:752–762.
- Bennett, A. F. 1987. Interindividual variability: an underutilized resource. Pages 147–169 in M. E. Feder, A. F. Bennett, R. B. Huey, and W. Burggren, editors. *New directions in ecological physiology*. Cambridge University Press, New York.
- Bennett, A. F. 1989. Integrated studies of locomotor performance. Pages 191–202 in D. B. Wake and G. Roth, editors. *Complex organismal functions: integration and evolution in vertebrates.*, 1st edition. Wiley, Chichester, United Kingdom.
- Bennett, A. F. 1990. Thermal dependence of locomotor capacity. *American Journal of Physiology* **259**:253–258.
- Bernardo, J. 1996. Maternal effects in animal ecology. *American Zoologist* **36**:83–105.
- Böhm, M. *et al.* 2013. The conservation status of the world's reptiles. *Biological Conservation* **157**:372–385.
- Booth, D. T. 2002. Incubation of rigid-shelled turtle eggs: do hydric conditions matter? *Journal of Comparative Physiology, Part B*. **172**:627–633.
- Booth, D. T., E. Burgess, J. McCosker, and J. M. Lanyon. 2004. The influence of incubation temperature on post-hatching fitness characteristics of turtles. *International Congress Series* **1275**:226–233.
- Booth, D. T., and C. Y. Yu. 2009. Influence of the hydric environment on water exchange and hatchlings of rigid-shelled turtle eggs. *Physiological and Biochemical Zoology* **82**:382–387.
- Bower, D. S., K. M. Hodges, and A. Georges. 2013. Salinity of incubation media influences embryonic development of a freshwater turtle. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* **183**:235–241.
- Bowkett, A. E. 2009. Recent captive-breeding proposals and the return of the ark concept to global species conservation. *Conservation Biology* **23**:773–776.
- Buhlmann, K. A., T. S. B. Akre, J. B. Iverson, D. Karapatakis, R. A. Mittermeier, A. G. J. Rhodin, P. P. van Dijk, and J. W. Gibbons. 2009. A global analysis of tortoise and freshwater turtle distributions with identification of priority conservation areas. *Chelonian Conservation and Biology* **8**:116–149.
- Burger, J. 1976. Behavior of hatchling diamondback terrapins (*Malaclemys terrapin*) in the field. *American Society of Ichthyologist and Herpetologists* **1976**:742–748.

- Burghardt, G. M. 2013. Environmental enrichment and cognitive complexity in reptiles and amphibians: Concepts, review, and implications for captive populations. *Applied Animal Behaviour Science* **147**:286–298. Elsevier B.V.
- Cadi, A., and P. Joly. 2004. Impact of the introduction of the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) on survival rates of the European pond turtle (*Emys orbicularis*). *Biodiversity and Conservation* **13**:2511–2518.
- Calsbeek, R., C. Bonneaud, and T. B. Smith. 2008. Differential fitness effects of immunocompetence and neighbourhood density in alternative female lizard morphs. *The Journal of Animal Ecology* **77**:103–109.
- Calsbeek, R., and D. J. Irschick. 2007. The quick and the dead: correlational selection on morphology, performance, and habitat use in island lizards. *Evolution* **61**:2493–2503.
- Carrier, D. R. 1996. Ontogenetic limits on locomotor performance. *Physiological Zoology* **69**:467–488.
- Centre de Reproducció de Tortugues de l'Albera. 2007. Protocolo de cria de galápago europeo - *Emys orbicularis*.
- Cheverud, J. M., J. J. Rutledge, and W. R. Atchley. 1983. Quantitative genetics of development: Genetic correlations among age-specific trait values and the evolution of ontogeny. *Evolution* **37**:895–905.
- Chiszar, D., H. M. Smith, and C. W. Radcliffe. 1993. Zoo and laboratory experiments on the behavior of snakes: assessments of competence in captive-raised animals. *Integrative and Comparative Biology* **33**:109–116.
- Ciofi, C., and I. R. Swingland. 1997. Environmental sex determination in reptiles. *Applied Animal Behaviour Science* **51**:251–265.
- Clark, N. J., M. A. Gordos, and C. E. Franklin. 2008. Thermal plasticity of diving behavior, aquatic respiration, and locomotor performance in the Mary River turtle *Elusor macrurus*. *Physiological and Biochemical Zoology* **81**:301–309.
- Congdon, J. D., R. D. Nagle, C. W. Beck, O. M. Kinney, S. R. Yeomans, and A. E. Dunham. 1999. The relationship of body size to survivorship of hatchling snapping turtles (*Chelydra serpentina*): an evaluation of the “bigger is better” hypothesis. *Oecologia* **121**:224–235.
- Connolly, J. D., and A. Cree. 2008. Risks of a late start to captive management for conservation: Phenotypic differences between wild and captive individuals of a

- viviparous endangered skink (*Oligosoma otagense*). *Biological Conservation* **141**:1283–1292.
- Costa, J. C., M. Lousã, and M. D. Espírito-Santo. 1996. A Vegetação do Parque Natural da Ria Formosa (Algarve, Portugal). *Studia Botanica*:69–157.
- Costanzo, J. P., R. E. Lee Jr., and G. R. Ultsch. 2008. Physiological ecology of overwintering in hatchling turtles. *Journal of Experimental Zoology* **309**:297–379.
- Cox, N., J. Chanson, and S. Stuart. 2006. The status and distribution of reptiles and amphibians of the Mediterranean Basin. The World Conservation Union (IUCN), Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Dallara, A. Z. 2011. The role of maternal effect, incubation temperature, and gender on juvenile growth of captive-raised Western Pond Turtle hatchlings (*Emys marmorata*). Sonoma State University.
- Davy, C. M., and R. W. Murphy. 2009. Explaining patterns of deformity in freshwater turtles using MacCulloch's hypothesis. *Canadian Journal of Zoology* **87**:433–439.
- Davy, C. M., J. E. Paterson, and A. E. Leifso. 2014. When righting is wrong: Performance measures require rank repeatability for estimates of individual fitness. *Animal Behaviour* **93**:15–23.
- Delmas, V., E. Baudry, M. Girondot, and A.-C. Prevot-Julliard. 2007. The righting response as a *fitness index* in freshwater turtles. *Biological Journal of the Linnean Society* **91**:99–109.
- Demetrius, L., and M. Ziehe. 2007. Darwinian fitness. *Theoretical Population Biology* **72**:323–45.
- Díaz-Paniagua, C., C. Keller, and A. C. Andreu. 1997. Hatching success, delay of emergence and hatchling biometry of the spur-thighed tortoise, *Testudo graeca*, in South-Western Spain. *Journal of Zoology* **243**:543–553.
- Dodd, C. K., and R. A. Seigel. 1991. Relocation, repatriation and translocation of amphibians and reptiles: Are they conservation strategies that work? *Herpetologica* **47**:336–350.
- Drobenkov, S. M. 2000. Reproductive ecology of the pond turtle (*Emys orbicularis* L.) in the Northeastern part of the species range. *Russian Journal of Ecology* **31**:49–54.

- Du, W.-G., and X. Ji. 2003. The effects of incubation thermal environments on size, locomotor performance and early growth of hatchling soft-shelled turtles, *Pelodiscus sinensis*. *Journal of Thermal Biology* **28**:279–286.
- Ebenhard, T. 1995. Conservation breeding as a tool for saving animal species from extinction. *Trends in Ecology & Evolution* **10**:438–443.
- Elnitsky, M. A., and D. L. Claussen. 2006. The effects of temperature and inter-individual variation on the locomotor performance of juvenile turtles. *Journal of Comparative Physiology* **176**:497–504.
- Fernandéz, C. A., and A. C. Rivera. 2004. Asymmetries and accessory scutes in *Emys orbicularis* from Northwest Spain. *Biologia, Bratislava* **59**:85–88.
- Ferrand de Almeida, N., P. Ferrand de Almeida, H. Gonçalves, F. Sequeira, J. Teixeira, and F. Ferrand de Almeida. 2001. Guia FAPAS Anfíbios e Répteis de Portugal. (FAPAS, editor), 1st edition. INOVA, Porto.
- Ficetola, G. F., E. Padoa-Schioppa, A. Monti, R. Massa, F. De Bernardi, and L. Bottoni. 2004. The importance of aquatic and terrestrial habitat for the European pond turtle (*Emys orbicularis*): implications for conservation planning and management. *Canadian Journal of Zoology* **82**:1704–1712.
- Filoramo, N. I., and F. J. Janzen. 2002. An experimental study of the influence of embryonic water availability, body size, and clutch on survivorship of neonatal Red-eared sliders, *Trachemys scripta elegans*. *Herpetologica* **58**:67–74.
- Finkler, M. S. 1999. Influence of water availability during incubation on hatchling size, body composition, desiccation tolerance, and terrestrial locomotor performance in the snapping turtle *Chelydra serpentina*. *Physiological and Biochemical Zoology* **72**:714–722.
- Finkler, M. S. 2006. Does variation in soil water content induce variation in the size of hatchling snapping turtles (*Chelydra serpentina*)? *Copeia* **2006**:769–777.
- Fornelino, M. M., and A. M. Silvestre. 1999. Tortugas De España: Biología, patología y conservación de las especies ibéricas, baleares y canarias. Ediciones ANTIQVARIA, Madrid.
- Freedberg, S., M. A. Ewert, and C. E. Nelson. 2001. Environmental effects on fitness and consequences for sex allocation in a reptile with environmental sex determination. *Evolutionary Ecology Research* **3**:953–967.

- Freedberg, S., A. L. Stumpf, M. A. Ewert, and C. E. Nelson. 2004. Developmental environment has long-lasting effects on behavioural performance in two turtles with environmental sex determination. *Evolutionary Ecology Research* **6**:739–747.
- Fritz, U., and Y. Chiari. 2013. Conservation actions for European pond turtles – a summary of current efforts in distinct European countries. *Herpetology Notes* **6**:107–110.
- Garland Jr., T. 1985. Ontogenetic and individual variation in size, shape and speed in the Australian agamid lizard *Amphibolurus nuchalis*. *Journal of Zoology, London* **207**:425–439.
- Garland Jr., T. 1988. Genetic basis of activity metabolism. I. Inheritance of speed, stamina, and antipredator displays in the garter snake *Thamnophis sirtalis*. *Evolution* **42**:335–350.
- Garland Jr., T., A. F. Bennett, and C. B. Daniels. 1990. Heritability of locomotor performance and its correlates in a natural population. *Experientia* **46**:530–533.
- Garland Jr., T., and J. B. Losos. 1994. Ecological morphology of locomotor performance in squamate reptiles. Pages 240–302 in P. C. Wainwright and S. M. Reilly, editors. *Ecological morphology: integrative organismal biology*. University of Chicago Press, Chicago.
- Germano, J. M., and P. J. Bishop. 2009. Suitability of amphibians and reptiles for translocation. *Conservation Biology* **23**:7–15.
- Gibbons, J. W. *et al.* 2000. The global decline of reptiles, déjà vu amphibians. *BioScience* **50**:653–666.
- Gibbons, J. W. 2013. A long-term perspective of delayed emergence (aka Overwintering) in hatchling turtles: some they do and some they don't, and some you just can't tell. *Journal of Herpetology* **47**:203–214.
- Griffiths, R. A., and L. Pavajeau. 2008. Captive breeding, reintroduction, and the conservation of amphibians. *Conservation Biology* **22**:852–861.
- Gyuris, E. 2000. The relationship between body size and predation rates on hatchlings of the green turtle (*Chelonia mydas*): is bigger better? Pages 143–147 in N. Pilcher and G. Ismail, editors. *Sea turtles of the Indo-Pacific: research, management and conservation*. Academic Press, New York.
- Hedrick, P. W., and S. T. Kalinowski. 2000. Inbreeding depression in conservation biology. *Annual Review of Ecology and Systematics* **31**:139–162.

- Houghton, J. D. R., A. E. Myers, C. Lloyd, R. S. King, C. Isaacs, and G. C. Hays. 2007. Protracted rainfall decreases temperature within leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) clutches in Grenada, West Indies: Ecological implications for a species displaying temperature dependent sex determination. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **345**:71–77.
- Huey, R. B., and A. E. Dunham. 1987. Repeatability of locomotor performance in natural populations of the lizard *Sceloporus merriami*. *Evolution* **41**:1116–1120.
- Hussain, S. A. 1999. Reproductive success, hatchling survival and rate of increase of gharial *Gavialis gangeticus* in National Chambal Sanctuary, India. *Biological Conservation* **87**:261–268.
- ICN. 2006. Caracterização de *Emys orbicularis*. Instituto da Conservação da Natureza.
- Irschick, D. J. 2003. Measuring performance in nature: implications for studies of fitness within populations. *Integrative and Comparative Biology* **43**:396–407.
- Irschick, D. J., J. K. Bailey, J. A. Schweitzer, J. F. Husak, and J. J. Meyers. 2007. New directions for studying selection in nature: studies of performance and communities. *Physiological and Biochemical Zoology* **80**:557–567.
- Irschick, D. J., and T. Garland Jr. 2001. Integrating function and ecology in studies of adaptation: investigations of locomotor capacity as a model system. *Annual Review of Ecology and Systematics* **32**:367–396.
- Irschick, D. J., and J. P. Henningsen. 2009. Functional morphology: muscles, elastic mechanisms, and animal performance. Pages 27–37 in S. Levin, editor. *The Princeton Guide to Ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Irschick, D. J., A. Herrel, B. Vanhooydonck, K. Huyghe, and R. Van Damme. 2005. Locomotor compensation creates a mismatch between laboratory and field estimates of escape speed in lizards: a cautionary tale for performance-to-fitness studies. *Evolution* **59**:1579–1587.
- Irschick, D. J., J. J. Meyers, J. F. Husak, and J.-F. Le Galliard. 2008. How does selection operate on whole-organism functional performance capacities? A review and synthesis. *Evolutionary Ecology Research* **10**:177–196.
- Jaffé, R., C. Peñaloza, and G. R. Barreto. 2008. Monitoring an endangered freshwater turtle management program: Effects of nest relocation on growth and locomotive performance of the Giant South American turtle (*Podocnemis expansa*, Podocnemididae). *Chelonian Conservation and Biology* **7**:213–222.

- Jakob, E. M., S. D. Marshall, and G. W. Uetz. 1996. Estimating fitness: A comparison of body condition indices. *Oikos* **77**:61–67.
- Janzen, F. J. 1993. An experimental analysis of natural selection on body size of hatchling turtles. *Ecology* **74**:332–341.
- Janzen, F. J. 1995. Experimental evidence for the evolutionary significance of temperature dependent sex determination. *Evolution* **49**:864–873.
- Janzen, F. J., G. C. Packard, M. J. . Packard, T. J. Boardman, and J. R. Zumbrennen. 1990. mobilization of lipid and protein by embryonic snapping turtles in wet and dry environments. *The Journal of Experimental Zoology* **255**:155–162.
- Janzen, F. J., J. K. Tucker, and G. L. Paukstis. 2000a. Experimental analysis of an early life-history stage: selection on size of hatchling turtles. *Ecology* **81**:2290–2304.
- Janzen, F. J., J. K. Tucker, and G. L. Paukstis. 2000b. Experimental analysis of an early life-history stage: avian predation selects for larger body size of hatchling turtles. *Journal of Evolutionary Biology* **13**:947–954.
- Janzen, F. J., J. K. Tucker, and G. L. Paukstis. 2007. Experimental analysis of an early life-history stage: direct or indirect selection on body size of hatchling turtles? *Functional Ecology* **21**:162–170.
- Jayne, B. C., and A. F. Bennett. 1990a. Selection on locomotor performance capacity in a natural population of Garter snakes. *Evolution* **44**:1204–1229.
- Jayne, B. C., and A. F. Bennett. 1990b. Scaling of speed and endurance in Garter snakes: a comparison of cross-sectional and longitudinal allometries. *Journal of Zoology* **220**:257–277.
- Keller, C., and A. C. Andreu. 2002. *Emys orbicularis*. Pages 137–140 in J. M. Pleguezuelos, R. Marquez, and M. Lizana, editors. *Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España*. Dirección General de la Conservación de la Naturaleza, Madrid.
- Kingsolver, J. G., and R. B. Huey. 2003. Introduction: The evolution of morphology, performance, and fitness. *Integrative and Comparative Biology* **43**:361–366.
- Koehl, M. A. R. 1996. When does morphology matter? *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**:501–542.
- Kolbe, J. J., and F. J. Janzen. 2001. The influence of propagule size and maternal nest-site selection on survival and behaviour of neonate turtles. *Functional Ecology* **15**:772–781.

- Kosik, E. L., M. Wójcik, S. Beeger, and I. Rozempolska-Rucińska. 2013. Carapace anomalies of pond turtles (*Emys orbicularis*) from the Poleski National Park , from the hatch of 2008. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska* **LXVIII**:1–9.
- Kotenko, T. I. 2000. The European pond turtle (*Emys orbicularis*) in the Steppe zone of the Ukraine. *Stapfia* 69 **149**:87–106.
- Kraaijeveld-Smit, F. J. L., R. A. Griffiths, R. D. Moore, and T. J. C. Beebee. 2006. Captive breeding and the fitness of reintroduced species : A test of the responses to predators in a threatened amphibian. *Journal of Animal Ecology* **43**:360–365.
- Kramer, D. L., and R. L. McLaughlin. 2001. The behavioral ecology of intermittent locomotion. *American Zoologist* **41**:137–153.
- Kusuda, S., Y. Yasukawa, H. Shibata, T. Saito, O. Doi, Y. Ohya, and N. Yoshizaki. 2013. Diversity in the matrix structure of eggshells in the Testudines (Reptilia). *Zoological Science* **30**:366–74.
- Lenk, P., U. Fritz, U. Joger, and M. Wink. 1999. Mitochondrial phylogeography of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (Linnaeus 1758). *Molecular Ecology* **8**:1911–1922.
- LIFE+ Nature & Biodiversity. 2009. LIFE+Trachemys - Technical Application Forms.
- Ligon, D. B., J. R. Bidwell, and M. B. Lovern. 2009. Incubation temperature effects on hatchling growth and metabolic rate in the African spurred tortoise, *Geochelone sulcata*. *Canadian Journal of Zoology* **87**:64–72.
- Lipsey, M. K., and M. F. Child. 2007. Combining the fields of reintroduction biology and restoration ecology. *Conservation Biology* **21**:1387–1390.
- Lopes dos Santos, J. M. B. 2004. Avimeca: aplicação de análise de vídeo. Porto.
- Lynn, W. G., and M. C. Ullrich. 1950. Experimental production of shell abnormalities in turtles. *Copeia* **1950**:253–262.
- Marín, A., and A. Bertolero. 2005. Efficacy of inguinal palpation for detecting oviductal eggs in Hermann’s tortoise, *Testudo hermanni*. *Amphibia-Reptilia* **26**:523–526.
- Mascort, R., A. Bertolero, and O. Arribas. 1999. Morphology , geographic variation and taxonomy of *Emys orbicularis* L . 1758 , in the northeast of the Iberian Peninsula . *Revista Espanhola de Herpetologia* **13**:7–16.
- Matsuzawa, Y., K. Sato, W. Sakamoto, and K. A. Bjorndal. 2002. Seasonal fluctuations in sand temperature: effects on the incubation period and mortality of loggerhead

- sea turtle (*Caretta caretta*) pre-emergent hatchlings in Minabe, Japan. *Marine Biology* **140**:639–646.
- Mcknight, D. T., and D. B. Ligon. 2014. Shell and pattern abnormalities in a population of western chicken turtles (*Deirochelys reticularia miaria*). *Herpetology Notes* **7**:89–91.
- Merchán, M., A. Castro, M. Cárdenas, R. Antelo, and F. Gómez. 2012. Natural history and conservation of the Orinoco Crocodile (*Crocodylus intermedius*) in Colombia. (M. Merchán, editor), 1st edition. Asociación Chelonia.
- Micheli-Campbell, M. A., H. A. Campbell, R. L. Cramp, D. T. Booth, and C. E. Franklin. 2011. Staying cool, keeping strong: incubation temperature affects performance in a freshwater turtle. *Journal of Zoology* **285**:266–273.
- Mickelson, L. E., and J. R. Downie. 2010. Influence of incubation temperature on morphology and locomotion performance of Leatherback (*Dermochelys coriacea*) hatchlings. *Canadian Journal of Zoology* **88**:359–368.
- Miller, K. 1993. The improved performance of snapping turtles (*Chelydra serpentina*) hatched from eggs incubated on a wet substrate persists through the neonatal period. *Journal of Herpetology* **27**:228–233.
- Miller, K., G. C. Packard, and M. J. Packard. 1987. Hydric conditions during incubation influence locomotor performance of hatchling snapping turtles. *The Journal of Experimental Biology* **127**:401–412.
- Mitrus, S. 2003. The calcareous layer eggshell of the turtle *Emys orbicularis*: ultrastructure and composition. *Italian Journal of Zoology* **70**:13–16.
- Mitrus, S. 2005. Headstarting in European pond turtles (*Emys orbicularis*): does it work? *Amphibia-Reptilia* **26**:333–341.
- Mitrus, S. 2008. Reintroduction of the European pond turtle using headstarted animals: is it possible? *Revista Española de Herpetología* **22**:87–92.
- Mitrus, S., and B. Najbar. 2013. Migrations of hatchling European pond turtles (*Emys orbicularis*) after nest emergence. *Amphibia-Reptilia* **34**:25–30.
- Mitrus, S., and M. Zemanek. 1999. The growth rate of the turtle *Emys orbicularis* (L.) juvenile in breeding. *Chelonii, Proceedings of the IInd Symposium on Emys orbicularis*.
- Mitrus, S., and M. Zemanek. 2000. Distribution and biology of *Emys orbicularis* (L.) in Poland. *Stapfia* **69** **149**:107–118.

- Mitrus, S., and M. Zemanek. 2004. Body size and survivorship of the European pond turtle *Emys orbicularis* in Central Poland. *Biologia, Bratislava* **59**:103–107.
- Morafka, D. J., E. K. Spangenberg, and V. A. Lance. 2000. Neonatology of reptiles. *Herpetological Monographs* **14**:353–370.
- Moreira, J. M. T. 2011. Tamanho e estrutura das populações de *Emys orbicularis*, *Mauremys leprosa* e *Trachemys scripta* no Parque Natural da Ria Formosa e região envolvente. Dissertação de Mestrado em Ecologia, Ambiente e Território. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Muegel, L. A., and D. L. Claussen. 1994. Effects of slope on voluntary locomotor performance in the turtle, *Terrapene carolina carolina*. *Journal of Herpetology* **28**:6–11.
- Mullins, M. A., and F. J. Janzen. 2006. Phenotypic effects of thermal means and variances on Smooth softshell turtle (*Apalone mutica*) embryos and hatchlings. *Herpetologica* **62**:27–36.
- Myers, E. M., J. K. Tucker, and C. H. Chandler. 2007. Experimental analysis of body size and shape during critical life-history events of hatchling slider turtles, *Trachemys scripta elegans*. *Functional Ecology* **21**:1106–1114.
- Najbar, B., and E. Szuszkiewicz. 2006. The morphometrics and colouration of the European pond turtle *Emys orbicularis* in Lubuskie province (West Poland). *Biologia* **61**:585–592.
- Nelson, J. A., P. S. Gotwalt, C. A. Simonetti, and J. W. Snodgrass. 2007. Environmental correlates, plasticity, and repeatability of differences in performance among blacknose dace (*Rhinichthys atratulus*) populations across a gradient of urbanization. *Physiological and Biochemical Zoology* **81**:25–42.
- Oufiero, C. E., and T. Garland Jr. 2009. Repeatability and correlation of swimming performances and size over varying time-scales in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Functional Ecology* **23**:969–978.
- Packard, G. C., M. J. Packard, K. Miller, and T. J. Boardman. 1987. Influence of moisture, temperature, and substrate on snapping turtle eggs and embryos. *Ecology* **68**:983–993.
- Paitz, R. T., A. C. Gould, M. C. N. Holgersson, and R. M. Bowden. 2010. Temperature, phenotype, and the evolution of temperature-dependent sex determination: how do natural incubations compare to laboratory incubations? *Journal of Experimental Zoology Part B Molecular and Developmental Evolution* **314**:86–93.

- Paradela, P. L. 1988. Portugal - Atlas do Ambiente, Notícia Explicativa I.16.1 e I.16.4 : Qualidade Química das Águas Subterrâneas. Direcção Geral dos Recursos Naturais, Lisboa.
- Parichy, D. M., and R. H. Kaplan. 1995. Maternal investment and developmental plasticity: Functional consequences for locomotor performance of hatchling frog larvae. *Functional Ecology* **9**:606–617.
- Pereira, C. M., D. T. Booth, and C. J. Limpus. 2011. Locomotor activity during the frenzy swim: analysing early swimming behaviour in hatchling sea turtles. *The Journal of Experimental Biology* **214**:3972–3976.
- Philippart, J. C. 1995. Is captive breeding an effective solution for the preservation of endemic species? *Biological Conservation* **72**:281–295.
- Pieau, C., M. Dorizzi, N. Richard-Mercier, and G. Desvages. 1998. Sexual differentiation of gonads as a function of temperature in the turtle *Emys orbicularis*: endocrine function, intersexuality and growth. *The Journal of Experimental Zoology* **281**:400–408.
- Pieau, C., M. Girondot, N. Richard-Mercier, G. Desvages, M. Dorizzi, and P. Zaborski. 1994. Temperature sensitivity of sexual differentiation of gonads in the European pond turtle: Hormonal involvement. *Journal of Experimental Zoology* **270**:86–94.
- PNRF. 2007a. Revisão do Plano de Ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa, Volume 1-Characterização Geral.
- PNRF. 2007b. Revisão do Plano de Ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa, Volume 3 - Fauna.
- PNRF. 2007c. Revisão do Plano de Ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa, Volume 2 - Flora e Vegetação.
- Pough, F. H. 1989. Organismal performance and Darwinian fitness: Approaches and Interpretations. *Physiological Zoology* **62**:199–236.
- Primarck, R. B. 2010. *ex situ* conservation strategies. Pages 313–336 in A. D. Sinauer, editor. *Essentials of Conservation Biology*, 5th edition. Sinauer Associates, Inc.
- Pritchard, P. C. H. 1980. The conservation of Sea Turtles : Practices and Problems. *American Zoologist* **20**:609–617.
- Puky, M., D. Gémesi, and P. Schád. 2004. Distribution of *Emys orbicularis* in Hungary with notes on related conservational and environmental education activities. *Biologia* **59**:55–60.

- Ralls, K., and J. D. Ballou. 2013. Captive breeding and reintroduction. Elsevier **1**:662–667.
- Ramos, S., M. Franch, G. A. Llorente, and A. Montori. 2009. Morphometry and biological cycle of a European pond turtle (*Emys orbicularis*) population from north-eastern Spain. *Revista Espanhola de Herpetologia* **23**:117–128.
- Refsnider, J. M. 2012. High thermal variance in naturally incubated turtle nests produces faster offspring. *Journal of Ethology* **31**:85–93.
- Refsnider, J. M., and F. J. Janzen. 2012. Behavioural plasticity may compensate for climate change in a long-lived reptile with temperature-dependent sex determination. *Biological Conservation* **152**:90–95. Elsevier Ltd.
- Rhen, T., and J. W. Lang. 1999. Temperature during embryonic and juvenile development influences growth in hatchling snapping turtles, *Chelydra serpentina*. *Journal of Thermal Biology* **24**:33–41.
- Rivera, A. C., C. Ayres, and G. Velo-Antón. 2008. High prevalence of accessory scutes and anomalies in Iberian populations of *Emys orbicularis*. *Revista Española de Herpetología* **22**:5–14.
- Rivera, A. C., and C. A. Fernández. 2004. A management plan for the European pond turtle (*Emys orbicularis*) populations of the Louro river basin (Northwest Spain). *Biologia, Bratislava* **59**:161–171.
- Rivera, G., A. R. V. Rivera, E. E. Dougherty, and R. W. Blob. 2006. Aquatic turning performance of painted turtles (*Chrysemys picta*) and functional consequences of a rigid body design. *The Journal of Experimental Biology* **209**:4203–4213.
- Rivera, A. R. V., and R. W. Blob. 2010. Forelimb kinematics and motor patterns of the slider turtle (*Trachemys scripta*) during swimming and walking: shared and novel strategies for meeting locomotor demands of water and land. *The Journal of Experimental Biology* **213**:3515–3526.
- Rowe, J. W. 1995. Hatchling size in the turtle *Chrysemys picta bellii* from Western Nebraska: relationships to egg and maternal body size. *Journal of Herpetology* **29**:73–79.
- Ryan, K. M. 1990. Effects of egg incubation condition on the post-hatching growth and performance of the snapping turtle, *Chelydra serpentina*. Master Dissertation. State University of New York, College at Buffalo.
- Seddon, P. J., D. P. Armstrong, and R. F. Maloney. 2007. Developing the science of reintroduction biology. *Conservation Biology* **21**:303–312.

- Segurado, P. 2000. Modelação da distribuição e da abundância local do Cágado-mediterrânico (*Mauremys leprosa*) e do Cágado-de-carapaça-estriada (*Emys orbicularis*) em Portugal. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.
- Segurado, P., and A. P. R. Araújo. 2004. Coexistence of *Emys orbicularis* and *Mauremys leprosa* in Portugal at two spatial scales: is there evidence of spatial segregation? *Biologia, Bratislava* **59**:61–72.
- Segurado, P., and P. R. Araújo. 2008. *Emys orbicularis*. Pages 130–131 in A. Loureiro, N. Ferrand de Almeida, M. Carretero, and O. Paulo, editors. Atlas dos Anfíbios e Répteis de Portugal. Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade.
- Seijas, A. E., R. Antelo, J. B. Thorbjarnarson, and M. C. A. Robayo. 2010. Orinoco Crocodile *Crocodylus intermedius*. Pages 59–65 in S. C. Manolis and C. Stevenson, editors. Crocodiles: An action plan for their conservation., 3th edition. Crocodile Specialist Group, Darwin.
- Servan, J., and J. J. Roy. 2004. Notes on the reproduction of *Emys orbicularis* in Brenne (Central France). *Biologia, Bratislava* **59**:139–142.
- Shine, R. 1999. Why is sex determined by nest temperature in many reptiles? *Trends in Ecology & Evolution* **14**:186–189.
- Silva, J. P., J. Toland, W. Jones, J. Eldridge, T. Hudson, and E. O’Hara. 2009. LIFE and Europe’s reptiles and amphibians. (J. Capitão, editor) LIFE Focus. European Commission, Luxembourg.
- Silva, J. P., J. Toland, W. Jones, J. Eldridge, E. Thorpe, E. O’Hara, and C. Thevignot. 2011. LIFE preventing species extinction: Safeguarding endangered flora and fauna through *ex situ* conservation. (A. Salsi, editor) LIFE Focus. European Commission, Luxembourg.
- Snyder, N. F. R., S. R. Derrickson, S. R. Beissinger, J. W. Wiley, T. B. Smith, W. D. Toone, and B. Miller. 1996. Limitations of captive breeding in endangered species recovery. *Conservation Biology* **10**:338–348.
- Sommer, R. S., A. Persson, N. Wieseke, and U. Fritz. 2007. Holocene recolonization and extinction of the pond turtle, *Emys orbicularis* (L., 1758), in Europe. *Quaternary Science Reviews* **26**:3099–3107.
- SPEA. 2012. Guia de Observação de Aves no Algarve. Turismo do Algarve.
- Stevenson, R. D., and W. A. Woods. 2006. Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. *Integrative and Comparative Biology* **46**:1169–1190.

- Steyermark, A. C., and J. R. Spotila. 2001a. Body temperature and maternal identity affect snapping turtle (*Chelydra serpentina*) righting response. *Copeia* **2001**:1050–1057.
- Steyermark, A. C., and J. R. Spotila. 2001b. Effects of maternal identity and incubation temperature on hatching and hatchling morphology in snapping turtles, *Chelydra serpentina*. *Copeia* **2001**:129–135.
- Sutherland, W. J. 1998. The importance of behavioural studies in conservation biology. *Animal Behaviour* **56**:801–809.
- Telemeco, R. S., D. A. Warner, M. K. Reida, and F. J. Janzen. 2013. Extreme developmental temperatures result in morphological abnormalities in painted turtles (*Chrysemys picta*): a climate change perspective. *Integrative Zoology* **8**:197–208.
- Tisdell, C., and C. Wilson. 2003. Open-cycle hatcheries, tourism and conservation of Sea Turtles: Economic and Ecological Analysis. 78, Economics, Ecology and the Environment. Queensland.
- Tucker, J. K., and G. L. Paukstis. 1999. Post-hatching substrate moisture and overwintering hatchling turtles. *Journal of Herpetology* **33**:608–615.
- Turtle Conservation Coalition. 2011. Turtles in Trouble: The World's 25+ Most Endangered Tortoise and Freshwater Turtles - 2011. (A. G. J. Rhodin, A. D. Walde, B. D. Horne, P. P. van Dijk, T. Blanck, and R. Hudson, editors). IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group, Turtle Conservation Fund, Turtle Survival Alliance, Turtle Conservancy, Chelonian Research Foundation, Conservation International, Wildlife Conservation Society, and San Diego Zoo Global, Leominster, MA.
- Ultsch, G. R. 2006. The ecology of overwintering among turtles: where turtles overwinter and its consequences. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **81**:339–367.
- UNEP-WCMC. 2011. Overview of current trends in captive-bred and ranched specimens in trade. A report to the European Commission. Cambridge.
- Valdeón, A. 2007. Datos biométricos preliminares de dos poblaciones de galápago europeo (*Emys orbicularis*) en el sur de Navarra.:158–163.
- Van Berkum, F. H., R. B. Huey, J. S. Tsuji, and T. Garland Jr. 1989. Repeatability of individual differences in locomotor performance and body size during early ontogeny of the lizard *Sceloporus occidentalis* (Baird & Girard). *Functional Ecology* **3**:97–105.

- Van Berkum, F. H., and J. S. Tsuji. 1987. Inter-familiar differences in sprint speed of hatchling *Sceloporus occidentalis* (Reptilia: Iguanidae). *Journal of Zoology* (London) **212**:511–519.
- Velo-Antón, G., C. G. Becker, and A. Cordero-Rivera. 2011. Turtle carapace anomalies: the roles of genetic diversity and environment. *PLoS ONE* **6**:e18714.
- Velo-Antón, G., M. García-París, and A. C. Rivera. 2007. Patterns of nuclear and mitochondrial DNA variation in Iberian populations of *Emys orbicularis* (Emydidae): conservation implications. *Conservation Genetics* **9**:1263–1274.
- Verheye, W., and D. de la Rosa. 2005. Mediterranean soils. Pages 1–26 in EOLSS, editor. *Encyclopedia of Life Support Systems*. Oxford, UK.
- Vitt, L., and J. Caldwell. 2009. *Herpetology. An introductory biology of Amphibians and Reptiles*. (Academic Press, editor), 3th edition. Elsevier Ltd.
- Warner, D. A., and R. M. Andrews. 2002. Laboratory and field experiments identify sources of variation in phenotypes and survival of hatchling lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* **76**:105–124.
- Warner, D. A., C. F. Jorgensen, and F. J. Janzen. 2010. Maternal and abiotic effects on egg mortality and hatchling size of turtles: temporal variation in selection over seven years. *Functional Ecology* **24**:857–866.
- Warwick, C. 1990a. Important ethological and other considerations of the study and maintenance of reptiles in captivity. *Applied Animal Behaviour Science* **27**:363–366.
- Warwick, C. 1990b. Reptilian ethology in captivity: observations of some problems and an evaluation of their aetiology. *Applied Animal Behaviour Science* **26**:1–13.
- Weinstein, R. B. 2001. Terrestrial intermittent exercise: Common issues for human athletics and comparative animal locomotion. *American Zoologist* **41**:219–228.
- Weinstein, R. B., and R. J. Full. 2000. Intermittent locomotion increases endurance in a gecko. *Physiological and Biochemical Zoology: PBZ* **72**:732–739.
- Wikelski, M., and L. M. Romero. 2003. Body size, performance and fitness in Galapagos marine iguanas. *Integrative and Comparative Biology* **43**:376–386.
- Wilson, A. J., and D. H. Nussey. 2010. What is individual quality? An evolutionary perspective. *Trends in Ecology & Evolution* **25**:207–214. Elsevier Ltd.

- Wyneken, J., M. H. Godfrey, and V. Bels. 2008. *Biology of Turtles*. (J. Wyneken, M. H. Godfrey, and V. Bels, editors), 1st edition. CRC Press, Boca Raton.
- Zableckis, N. 2009. Protection of European pond turtle and amphibians in the North European lowlands. LIFE05NAT/LT/000094. European Commission.
- Zani, P. A., and D. L. Claussen. 1994. Voluntary and forced terrestrial locomotion in juvenile and adult painted turtles, *Chrysemys picta*. *Copeia* **1994**:466–471.
- Zhao, B., Y. Chen, Y. Wang, P. Ding, and W.-G. Du. 2013. Does the hydric environment affect the incubation of small rigid-shelled turtle eggs? *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. **164**:66–70. Elsevier Inc.
- Zhu, X.-P., C.-Q. Wei, W.-H. Zhao, H.-J. Du, Y.-L. Chen, and J.-F. Gui. 2006. Effects of incubation temperatures on embryonic development in the Asian yellow pond turtle. *Aquaculture* **259**:243–248.
- Zinenko, O. 2004. Notes on egg-laying, clutch size and hatchling feeding of *Emys orbicularis* in the Kharkiv region, Ukraine. *Biologia* **59**:149–151.
- Zuffi, M. A. L. 2000. Conservation biology of the European pond turtle *Emys orbicularis* (L.) in Italy. *Stapfia* 69 **149**:219–228.
- Zuffi, M. A. L., F. Odetti, and P. Meozzi. 1999. Body size and clutch size in the European pond turtle (*Emys orbicularis*) from central Italy. *The Zoological Society of London*:139–143.
- Życzyński, A., and M. Mierzejewska. 2008. Morphological and behavioral analyses of the indoors hatched pond turtle *Emys orbicularis* in aspect of prognosis of its future survivorship. *Annals of Warsaw University of Life Sciences - SGGW, Animal Science* **84**:79–84.

Anexos

Anexo I – Calendário de nascimento, capturas e testes de cada neonato de *Emys orbicularis*.

Grupo	Neonato	Nasc/Capt	Data R1 e R2	Hora R1 / R2	Data R3 e R4	Hora R3 / R4	Data C1 e C2	Hora C1/C2	Data C3 e C4	Hora C3/C4
I	74	21-Out-13	30-Out-13	9 / 11	31-Out-13	9 / 11	30-Out-13	13 / 15	31-Out-13	13 / 15
I	75	21-Out-13	30-Out-13	9 / 11	31-Out-13	9 / 11	30-Out-13	13 / 15	31-Out-13	13 / 15
I	77	23-Out-13	1-Nov-13	9 / 11	2-Nov-13	9 / 11	1-Nov-13	13 / 15	2-Nov-13	13 / 15
I	78	23-Out-13	1-Nov-13	9 / 11	2-Nov-13	9 / 11	1-Nov-13	13 / 15	2-Nov-13	13 / 15
I	79	23-Out-13	1-Nov-13	9 / 11	2-Nov-13	9 / 11	1-Nov-13	13 / 15	2-Nov-13	13 / 15
I	80	23-Out-13	1-Nov-13	9 / 11	2-Nov-13	9 / 11	1-Nov-13	13 / 15	2-Nov-13	13 / 15
I	81	23-Out-13	1-Nov-13	9 / 11	2-Nov-13	9 / 11	1-Nov-13	13 / 15	2-Nov-13	13 / 15
I	82	23-Out-13	1-Nov-13	9 / 11	2-Nov-13	9 / 11	1-Nov-13	13 / 15	2-Nov-13	13 / 15
I	84	24-Out-13	2-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	9 / 12	2-Nov-13	13 / 15	3-Nov-13	14 / 16
I	85	24-Out-13	2-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	9 / 12	2-Nov-13	13 / 15	3-Nov-13	14 / 16
I	86	24-Out-13	2-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	9 / 12	2-Nov-13	13 / 15	3-Nov-13	14 / 16
I	87	24-Out-13	2-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	9 / 12	2-Nov-13	13 / 15	3-Nov-13	14 / 16
I	89	24-Out-13	2-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	9 / 12	2-Nov-13	13 / 15	3-Nov-13	14 / 16
I	90	24-Out-13	2-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	9 / 12	2-Nov-13	13 / 15	3-Nov-13	14 / 16
I	91	24-Out-13	2-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	9 / 12	2-Nov-13	13 / 15	3-Nov-13	14 / 16
I	92	24-Out-13	2-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	9 / 12	2-Nov-13	13 / 15	3-Nov-13	14 / 16
I	93	25-Out-13	3-Nov-13	9 / 12	4-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	14 / 16	4-Nov-13	13 / 15
I	94	25-Out-13	3-Nov-13	9 / 12	4-Nov-13	9 / 11	3-Nov-13	14 / 16	4-Nov-13	13 / 15
II	1	11-Mar-14	21-Mar-14	12 / 14	22-Mar-14	9 / 11	21-Mar-14	16 / 18	22-Mar-14	13 / 15
II	2	11-Mar-14	21-Mar-14	12 / 14	22-Mar-14	9 / 11	21-Mar-14	16 / 18	22-Mar-14	13 / 15
II	3	11-Mar-14	21-Mar-14	12 / 14	22-Mar-14	9 / 11	21-Mar-14	16 / 18	22-Mar-14	13 / 15
II	4	11-Mar-14	21-Mar-14	12 / 14	22-Mar-14	9 / 11	21-Mar-14	16 / 18	22-Mar-14	13 / 15
II	5	11-Mar-14	21-Mar-14	12 / 14	22-Mar-14	9 / 11	21-Mar-14	16 / 18	22-Mar-14	13 / 15
II	6	15-Mar-14	1-Abr-14	10 / 14	2-Abr-14	18 / 20	1-Abr-14	12 / 16	2-Abr-14	14 / 16
II	7	15-Mar-14	1-Abr-14	10 / 14	2-Abr-14	18 / 20	1-Abr-14	12 / 16	2-Abr-14	14 / 16
II	8	23-Mar-14	1-Abr-14	10 / 14	2-Abr-14	18 / 20	1-Abr-14	12 / 16	2-Abr-14	14 / 16
II	9	25-Mar-14	3-Abr-14	17 / 19	4-Abr-14	18 / 20	3-Abr-14	11 / 14	4-Abr-14	14 / 16
II	10	25-Mar-14	3-Abr-14	17 / s.d.	4-Abr-14	s.d.	3-Abr-14	11 / 14	4-Abr-14	14 / 16
II	11	28-Mar-14	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	15 / 17	15-Abr-14	14 / 16
II	12	15-Abr-14	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	100	21-Out-13	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	17 / s.d.	15-Abr-14	14 / 16
III	101	21-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	102	23-Out-13	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	15 / 17	15-Abr-14	14 / 16
III	103	23-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	104	23-Out-13	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	15 / 17	15-Abr-14	14 / 16
III	105	23-Out-13	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	15 / 17	15-Abr-14	14 / 16
III	106	23-Out-13	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	15 / 17	15-Abr-14	14 / 16
III	107	23-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	108	24-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	s.d. / 17
III	109	24-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	110	24-Out-13	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	15 / 17	15-Abr-14	14 / 16
III	111	24-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	112	24-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	113	24-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	114	24-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	115	24-Out-13	23-Abr-14	11 / 13	24-Abr-14	10 / 12	23-Abr-14	15 / 17	24-Abr-14	15 / 17
III	116	25-Out-13	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	15 / 17	15-Abr-14	14 / 16
III	117	25-Out-13	14-Abr-14	12 / 18	15-Abr-14	11 / 18	14-Abr-14	15 / 17	15-Abr-14	14 / 16

Legenda: Nasc/Capt - Data de nascimento/captura; R1/2/3/4 - Ensaio de reposicionamento 1/2/3/4; C1/2/3/4 - Ensaio de corrida 1/2/3/4; s.d. - sem dados.

Anexo II – Correlação de Spearman entre as treze variáveis medidas na fase inicial do estudo, a partir de uma matriz com os valores médios de cada variável no 10º dia de jejum do grupo I. A negrito estão assinalados os valores de correlação usados para exclusão de variáveis redundantes.

		TLat	TRep	TReac	DurProva	Orient	NOr	VelMed	VelMax	Paragens	MedPar	Ang Orient	Ang NOR
TRep (s)	Coefficiente de correlação	,342											
	Sig. (2-ext)	,165											
	N	18											
TReac (s)	Coefficiente de correlação	,277	-,180										
	Sig. (2-ext)	,267	,475										
	N	18	18										
DurProva (s)	Coefficiente de correlação	,038	-,229	,406									
	Sig. (2-ext)	,880	,360	,094									
	N	18	18	18									
Orient	Coefficiente de correlação	,026	-,191	,300	,919**								
	Sig. (2-ext)	,918	,448	,227	,000								
	N	18	18	18	18								
NOr	Coefficiente de correlação	,068	,043	,362	,688**	,438							
	Sig. (2-ext)	,789	,865	,140	,002	,069							
	N	18	18	18	18	18							
VelMed (mm.s ⁻¹)	Coefficiente de correlação	-,069	,191	-,371	-,915**	-,975**	-,487*						
	Sig. (2-ext)	,784	,448	,129	,000	,000	,040						
	N	18	18	18	18	18	18						
VelMax (mm.s ⁻¹)	Coefficiente de correlação	,156	,261	-,314	-,791**	-,831**	-,490*	,876**					
	Sig. (2-ext)	,537	,295	,204	,000	,000	,039	,000					
	N	18	18	18	18	18	18	18					
Paragens	Coefficiente de correlação	,026	-,118	,218	,561*	,436	,606**	-,399	-,402				
	Sig. (2-ext)	,918	,641	,386	,016	,070	,008	,101	,098				
	N	18	18	18	18	18	18	18	18				
MedPar (s)	Coefficiente de correlação	,299	-,012	,320	,143	-,061	,507*	,036	,066	,699**			
	Sig. (2-ext)	,229	,961	,195	,573	,810	,032	,886	,794	,001			
	N	18	18	18	18	18	18	18	18	18			
AngOrient (°)	Coefficiente de correlação	,373	,290	-,042	,132	,304	-,027	-,331	-,038	-,275	-,286		
	Sig. (2-ext)	,127	,243	,868	,601	,219	,914	,179	,880	,270	,250		
	N	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18		
AngNOR (°)	Coefficiente de correlação	-,051	-,200	-,300	,300	,600	-,400	-,600	-,600	,600	,564	,100	
	Sig. (2-ext)	,935	,747	,624	,624	,285	,505	,285	,285	,285	,322	,873	
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
NAngZero	Coefficiente de correlação	,254	,270	,245	,594**	,638**	,351	-,574*	-,400	,228	-,254	,320	-,359
	Sig. (2-ext)	,310	,279	,327	,009	,004	,153	,013	,100	,363	,309	,196	,553
	N	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	5

Legenda: N - Número de indivíduos; TLat - Tempo de latência; TRep - Tempo de reposição; TReac - Tempo de reacção; DurProva - Duração da prova; Orient - Movimentos orientados; NOr - Movimentos não orientados; VelMed - Velocidade média; VelMax - Velocidade máxima; Paragens - Número de paragens; MedPar - Tempo médio de paragens; AngOrient - Ângulo médio de movimentos orientados; AngNOR - Ângulo médio de movimentos não orientados; NAngZero - Número de ângulos zero.

*A correlação é significativa ao nível de 0,05 (2 extremidades).

**A correlação é significativa ao nível de 0,01 (2 extremidades).

Anexo III – Medida de comprimento do espaldar (CE (mm)) do grupo de neonatos de *Emys orbicularis* nascidos em cativeiro durante os primeiros seis meses de crescimento em condições de cativeiro (N=18).

Data	Dia Juliano	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
21 a 25 Out	1 a 5	24,95	1,38	22,07	26,85
10-Nov	21	25,57	1,23	22,85	27,25
20-Nov	31	27,26	1,46	23,65	29
17-Dez	58	30,00	1,55	26,85	31,75
27-Dez	68	30,49	1,56	27,25	32,35
07-Jan	79	31,12	1,73	27,4	33,35
16-Jan	88	31,76	1,91	27,8	34,65
23-Jan	95	32,35	2,31	28	35,7
28-Jan	100	32,47	2,38	28	36,4
06-Fev	109	33,50	2,97	28	38,6
12-Fev	115	33,54	3,02	28,8	38,5
17-Fev	120	33,91	3,21	28,7	39,25
27-Fev	130	35,13	3,46	30,15	41
05-Mar	136	35,86	3,78	30,55	42,55
12-Mar	143	36,84	3,76	31,8	44,1
19-Mar	150	37,92	3,65	32,9	45,3
27-Mar	158	39,13	3,37	34,3	46,2
02-Abr	164	39,79	3,55	34,4	46,95
09 a 14 Abr	171 a 176	40,67	3,54	35,6	47,55

Anexo IV – Valores registados para as principais variáveis em estudo, para cada grupo de indivíduos e para os quatro ensaios.

		Grupo I	Grupo II	Grupo III
		N=18	N=12	N=18
TLat (s)	M ± DP	8,87 ± 12,35	26,87 ± 29,92	0,32 ± 1,37
	Mediana	3,74	19,62	0,00
	Mínimo	0,00	0,59	0,00
	Máximo	46,47	115,00	5,81
TRep (s)	M ± DP	4 ± 2,86	4,40 ± 3,64	1,95 ± 0,68
	Mediana	3,15	2,63	1,74
	Mínimo	1,83	1,44	1,22
	Máximo	11,83	14,04	3,39
TReac (s)	M ± DP	6,11 ± 6,32	13,52 ± 9,25	2,43 ± 3,43
	Mediana	3,24	13,07	0,20
	Mínimo	0,00	2,37	0,00
	Máximo	22,89	27,72	9,83
DurProva (s)	M ± DP	34,28 ± 15,81	52,31 ± 33,69	18,44 ± 9,55
	Mediana	29,25	46,13	13,63
	Mínimo	20,50	11,25	9,33
	Máximo	86,00	130,00	37,50
Orient	M ± DP	26,25 ± 6,36	27,69 ± 8,08	11,56 ± 2,51
	Mediana	26,13	28,63	10,63
	Mínimo	17,50	10,50	8,00
	Máximo	41,00	37,75	15,75
NOr	M ± DP	0,44 ± 0,71	3,23 ± 5,74	1,02 ± 2,29
	Mediana	0,00	0,88	0,00
	Mínimo	0,00	,00	0,00
	Máximo	2,25	20,00	7,75
VelMed (mm.s ⁻¹)	M ± DP	20,33 ± 3,98	21,65 ± 8,83	42,31 ± 5,19
	Mediana	20,33	19,53	41,39
	Mínimo	12,40	13,41	32,70
	Máximo	27,68	44,76	51,03
VelMax (mm.s ⁻¹)	M ± DP	34,98 ± 4,56	38,07 ± 11,14	66,71 ± 6,25
	Mediana	33,67	36,53	65,33
	Mínimo	27,02	24,18	57,72
	Máximo	43,98	61,35	77,72
Paragens	M ± DP	2,01 ± 1,95	4,19 ± 2,56	1,51 ± 0,93
	Mediana	1,38	4,75	1,25
	Mínimo	0,50	,25	0,33
	Máximo	9,00	8,00	3,75
AngOrient (°)	M ± DP	3,12 ± 2,29	3,71 ± 2,99	2,49 ± 1,96
	Mediana	2,22	3,84	2,26
	Mínimo	0,17	,10	0,27
	Máximo	7,67	8,76	6,71

Legenda: N - Número de indivíduos; M ± DP - Média ± Desvio Padrão; TLat - Tempo de latência; TRep - Tempo de reposição; TReac - Tempo de reacção; DurProva - Duração da prova; Orient - Movimentos orientados; NOr - Movimentos não orientados; VelMed - Velocidade média; VelMax - Velocidade máxima; Paragens - Número de paragens; AngOrient - Ângulo médio de movimentos orientados.

Anexo V – Valores registados para as principais variáveis nos diferentes dias de jejum, independentemente do grupo de neonato.

		9º DJ	10º DJ
		N=30	N=30
TLat	M ± DP	20,4 ± 25,61	8,17 ± 11,85
(s)	Mediana	10,50	1,50
	Mínimo	0,00	0,00
	Máximo	115,00	46,12
TRep	M ± DP	4,07 ± 4,50	3,84 ± 3,61
(s)	Mediana	2,50	3,00
	Mínimo	1,00	0,90
	Máximo	22,00	20,00
TReac	M ± DP	12,79 ± 14,52	5,30 ± 6,93
(s)	Mediana	8,18	2,42
	Mínimo	0,00	0,00
	Máximo	55,45	26,13
DurProva	M ± DP	50,55 ± 47,77	32,48 ± 18,42
(s)	Mediana	31,50	26,25
	Mínimo	13,00	9,50
	Máximo	238,00	94,00
Orient	M ± DP	28,93 ± 9,39	24,75 ± 7,25
	Mediana	27,00	23,75
	Mínimo	11,50	9,50
	Máximo	49,00	40,00
NOr	M ± DP	2,62 ± 7,74	0,50 ± 1,10
	Mediana	0,00	0,00
	Mínimo	0,00	0,00
	Máximo	40,00	4,50
VelMed	M ± DP	19,70 ± 6,38	21,98 ± 7,48
(mm.s ⁻¹)	Mediana	19,31	20,85
	Mínimo	10,92	12,55
	Máximo	42,14	47,39
VelMax	M ± DP	36,11 ± 9,27	36,40 ± 10,59
(mm.s ⁻¹)	Mediana	34,15	33,73
	Mínimo	20,08	21,94
	Máximo	56,01	69,25
Paragens	M ± DP	3,75 ± 4,00	2,02 ± 1,72
	Mediana	1,75	1,50
	Mínimo	0,00	0,00
	Máximo	14,00	5,50
AngOrient	M ± DP	4,82 ± 2,72	3,94 ± 2,53
(°)	Mediana	4,53	3,87
	Mínimo	0,42	0,17
	Máximo	13,49	9,36

Legenda: N - Número de indivíduos; 9º DJ - Nono dia de jejum; 10º DJ - Décimo dia de jejum; M ± DP - Média ± Desvio Padrão; TLat - Tempo de latência; TRep - Tempo de reposição; TReac - Tempo de reacção; DurProva - Duração da prova; Orient - Movimentos orientados; NOr - Movimentos não orientados; VelMed - Velocidade média; VelMax - Velocidade máxima; Paragens - Número de paragens; AngOrient - Ângulo médio de movimentos orientados.