

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

RAZÃO SEXUAL E DISTRIBUIÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM
Dermochelys coriacea (VANDELLI, 1761) (TESTUDINES:
DERMOCHELYDAE) NA RESERVA BIOLÓGICA DE COMBOIOS,
NORTE DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

JORDANA BORINI FREIRE

VILA VELHA
SETEMBRO / 2012

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

RAZÃO SEXUAL E DISTRIBUIÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM
***Dermochelys coriacea* (VANDELLI, 1761) (TESTUDINES:**
DERMOCHELYDAE) NA RESERVA BIOLÓGICA DE COMBOIOS,
NORTE DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Dissertação apresentada a Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção grau de Mestre em Ecologia de Ecossistemas

JORDANA BORINI FREIRE

VILA VELHA
SETEMBRO / 2012

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

F866r Freire, Jordana Borini.

Razão sexual e distribuição de elementos traço em *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) na Reserva Biológica de Comboios, norte do estado do Espírito Santo, Brasil / Jordana Borini Freire. – 2013. 55 f.: il.

Orientador: Paulo Dias Ferreira Junior.

Dissertação (mestrado em Ecologia de Ecossistemas) - Universidade Vila Velha, 2013.

Inclui bibliografias.

1. Tartaruga marinha – Reserva Biológica de Comboios - (ES). 2. Ovos - Incubação. 3. Tartaruga marinha - Conservação. 4. Tartaruga-marinha – Gênero. I. Ferreira Junior, Paulo Dias. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 597.92

JORDANA BORINI FREIRE

**RAZÃO SEXUAL E DISTRIBUIÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM
Dermochelys coriacea (VANDELLI, 1761) (TESTUDINÉS:
DERMOCHELYDAE) NA RESERVA BIOLÓGICA DE COMBOIOS,
NORTE DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

Dissertação apresentada a Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção grau de Mestre em Ecologia de Ecossistemas.

Aprovada em 27 de setembro de 2012,

Banca Examinadora:



Dr. Cecilia Baptistotte (Projeto TAMAR)



Dr. Levy Gomes de Carvalho (UVV)



Dr. Paulo Dias Ferreira Júnior (UVV)

Orientador

AGRADECIMENTOS

Em cada meta estabelecida em minha vida fui sondada por uma força que me ergueu a cada dia me conduzindo à vitória, não diferente, nesta conquista agradeço a Deus por cada passo que fui capaz de traçar.

Aos meus pais, Ademir e Marta, e a minha irmã, Milena, que sempre sonharam os meus sonhos e me apoiaram em minhas escolhas.

Ao professor Paulo Dias por me inserir no “universo das tartarugas”, pelas oportunidades concedidas e por toda dedicação em minha formação.

A professora Denise Endringer e todos do laboratório de Farmácia por todo apoio e por abrir portas em outras instituições para que fosse possível a realização do trabalho.

Ao professor Dominik Lenz por auxiliar nas análises estatísticas.

Ao professor Levy Gomes e todos de seu laboratório pela parceria com materiais e reagentes.

Ao professor João Rossi pelo empréstimo de materiais, e por estar presente desde o plano A.

Aos professores Marcelo Renan Wether Kroling pelo apoio e incentivo quando ainda executaríamos o plano A.

Ao professor Leonardo Dobbss pelas dicas e ajuda na formatação do trabalho.

À Ana Claudia e Adriana do laboratório de Análises Químicas da Universidade Vila Velha pela instrução e supervisão no uso do laboratório.

Ao Henrique Figueira pela ajuda na coleta de material e pela troca de artigos e dicas para a melhora do trabalho.

Aos estagiários do Projeto TAMAR pela mobilização em ajudar na coleta de material.

Aos colegas de laboratório: Alexandra Frossard, Ellen Priscila, Fernanda Pavesi, Hilton Entringer, Juliana Heringer, Namany Lourpen, Paulo Roberto (Marrom), Raiza salvador, Vitor Libardi e Wallace Kieffer (Aice) pela ajuda incansável no laboratório, mesmo nos fins de semana. E pelos momentos de lazer, me ajudando a esquecer por algumas horas, as preocupações.

À Namany Lourpen pela compreensão de que no mundo da ciência nem tudo sai como planejamos e que a parceria é imprescindível.

À professora Maria Tereza Carneiro e seus alunos do Núcleo de Competência Química de Petróleo da UFES pela dedicação e disponibilidade nas análises das minhas amostras.

À Universidade Vila Velha pela formação de excelência.

À FAPES pelo financiamento do mestrado.

SUMÁRIO

1	Resumo.....	6
2	Abstract.....	7
3	Introdução Geral.....	8
4	Referências.....	11
5	Capítulo 1 - Razão sexual de filhotes de <i>Dermochelys coriacea</i> (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) no norte do Espírito Santo, Brasil.....	16
6	Resumo.....	17
7	Abstract.....	18
8	Introdução.....	19
9	Materiais e Métodos.....	21
10	Resultados.....	23
11	Discussão.....	26
12	Considerações Finais.....	29
13	Referências.....	30
14	Capítulo 2 - Concentração de elementos traço em ovos e filhotes de <i>Dermochelys coriacea</i> (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) no norte do Espírito Santo, Brasil.....	36
15	Resumo.....	37
16	Abstract.....	38
17	Introdução.....	39
18	Materiais e Métodos.....	40
19	Resultados.....	42
20	Discussão.....	46
21	Considerações Finais.....	48
22	Referências.....	49
23	Anexo1.....	52

RESUMO

BORINI, Jordana Freire, M.Sc., Universidade Vila Velha - ES, setembro de 2012. **Razão sexual e distribuição de elementos traço em *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) na Reserva Biológica de Comboios, norte do estado do Espírito Santo, Brasil.** Orientador: Paulo Dias Ferreira Júnior. Co-orientador: Denise Coutinho Endringer.

Dermochelys coriacea destaca-se entre as tartarugas marinhas por apresentar diferenças morfológicas e fisiológicas relevantes. Está listada como criticamente ameaçada de extinção tendo na pesca acidental e poluição dos mares as principais causas do seu declínio populacional. A poluição leva a efeitos adversos como a queda da imunidade e alterações de processos metabólicos. No Brasil, existe uma pequena população tendo o número de fêmeas adultas aumentado nos últimos anos. A fim de ampliar o conhecimento sobre a espécie, os objetivos deste trabalho foram determinar a razão sexual dos filhotes de *D. coriacea* e levantar as concentrações de elementos traço em ovos e filhotes de *D. coriacea* na REBIO de Comboios durante a temporada reprodutiva de 2011/2012, único sítio de nidificação regular no Brasil. No primeiro capítulo desta dissertação, avaliou-se a razão sexual dos filhotes, tomando como base as temperaturas pivotais estabelecidas para a espécie em 29,4 °C na Costa Rica e 29,7 °C no Suriname. A temperatura de 12 ninhos foi monitorada durante todo o período de incubação permitindo avaliar sua influência na determinação do sexo dos filhotes. Também foram coletados sedimentos dos ninhos para avaliar a sua influência na temperatura e sucesso de eclosão. As médias do segundo terço de incubação dos ninhos variaram entre 26,3 °C e 28,9 °C, desta forma a razão sexual estimada foi de 100% machos. A temperatura dos ninhos é influenciada pela data de desova, precipitação e maré, ao passo que o sucesso de eclosão é afetado pelas propriedades dos sedimentos e tamanho da ninhada indicando a importância dos fatores ambientais na reprodução de *D. coriacea*. No segundo capítulo, foi apresentado o estudo sobre a concentração de elementos traço em ovos e filhotes natimortos. As amostras foram digeridas em meio ácido e lidas em um ICP-OES usando uma solução padrão multielementar para Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr e Zn como referência. Dos elementos analisados, apenas Ba, Cu, Fe, Mn, Sr e Zn apresentaram concentrações acima dos limites de detecção. Filhote e gema apresentaram concentrações equivalentes e diferentes da casca. Não foram detectados níveis de elementos traço suficientes para afetar o desenvolvimento embrionário e o sucesso de eclosão de *D. coriacea*. As concentrações encontradas neste trabalho foram baixas, corroborando com outros estudos com outras populações de tartarugas, sugerindo que a despeito da poluição marinha com elementos traço, a espécie, aparentemente, ainda sofre pequenos efeitos.

Palavras chave: conservação, contaminação, ovo, tartaruga marinha, temperatura de incubação.

ABSTRACT

BORINI, Jordana Freire, M.Sc., Universidade Vila Velha - ES, setembro de 2012. **Sex ratio and distribution of trace elements in *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) in Comboios Biological Reserve, north of Espírito Santo, Brazil.** Supervisor: Paulo Dias Ferreira Júnior. Co-supervisor: Denise Endringer.

Dermochelys coriacea stands out among the sea turtles by presenting relevant morphological and physiological differences. Is listed as critically endangered and by catch and marine pollution are the main causes of their population decline. Pollution leads to adverse effects such as immunity decrease and changes in metabolic processes. In Brazil there is a small population that shows a consistent increase in the number of adult females. In order to increase knowledge about this specie the aim of this study was to determine the sex ratio of *D. coriacea* hatchlings and evaluate the concentrations of trace elements at REBIO Comboios during the 2011/2012 nesting season, the only regular nesting site in Brazil. In the first part of this dissertation was evaluated the sex ratio of hatchlings according to established pivotal temperatures for the species at 29.4 ° C in Costa Rica and 29.7 ° C in Suriname. A temperature of 12 nests were monitored throughout the incubation period allowing assess its influence on sex determination of offspring. Also sediments were collected from nests to evaluate its influence on temperature and hatching success. The mean temperature of the second third of nests hatching period varied between 26.3 ° C and 28.93 ° C, thus the estimated sex ratio was 100% male. The temperature of the nests is influenced by spawning date, rainfall and tide, while hatching success is affected by the properties of the sediment and litter size indicating the importance of environmental factors in the reproduction of *D. coriacea*. In the second part was presented a study of trace elements concentration in eggs and hatchlings. The samples were digested and read in a ICP-OES standard solution with a multielement for Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr and Zn. Of all elements analyzed only Ba, Cu, Fe, Mn, Sr and Zn showed concentrations above the detection limit. Babys and yolk showed equivalent concentrations but different from eggshell. There were no detected levels of trace elements high enough to affect embryonic development and hatching success of *D. coriacea*. The concentrations found in this study were low, corroborating other studies with other populations, suggesting that despite of marine pollution species apparently suffers small effects.

Keywords: conservation, egg, incubation temperature, sea turtles.

INTRODUÇÃO GERAL

A tartaruga-de-couro *Dermochelys coriacea* conhecida também como tartaruga gigante, tartaruga de casco mole ou careba mole (Thome et al., 2007), pertencente à família Dermochelyidae, é um dos maiores répteis vivos, podendo atingir cerca de 900 kg de massa corporal e 250 cm de comprimento curvo da carapaça (Eckert & Luginbühl, 1988). Destaca-se entre as tartarugas marinhas por apresentar diferenças morfológicas e fisiológicas relevantes (Pritchard, 1997). A característica morfológica que a diferencia das demais tartarugas marinhas é o casco, composto por osteodermos (milhares de ossos pequenos e poligonais) cobertos por uma pele flexível, de coloração escura, semelhante a um couro (Wood et al., 1996). Fisiologicamente, *D. coriacea* é dotada de um sistema de isolamento térmico denominado “*gigantothermy*”, que permite habitar águas de baixas temperaturas e mergulhar a grandes profundidades (Paladino et al., 1990; Morreale et al., 1996; Eckert et al., 2012). James & Mrosovsky (2004) confirmaram esta adaptação estudando *D. coriacea* com um termômetro-sonda e observaram que a temperatura corporal se mantém 8 °C acima da temperatura da água.

D. coriacea está listada como criticamente ameaçada de extinção pela União Internacional de Conservação da Natureza (IUCN) (Sarti Martinez, 2000) e a poluição dos mares, coleta dos ovos e, principalmente, captura incidental em pesca de espinhel e redes são fortes ameaças à espécie (Barata et al., 2004). No Brasil está classificada pela IUCN como criticamente em perigo e pelo IBAMA/RAN como ameaçada de extinção (IBAMA, 2003).

Dentre muitos fatores que influenciam na queda da população de *D. coriacea* e demais espécies de tartarugas marinhas está a contaminação ambiental. De acordo com Roe et al. (2004) a exposição de contaminantes na fase embrionária pode ser nociva aos ovíparos, levando a um baixo sucesso de eclosão. A exposição do embrião a contaminantes pode ocorrer a partir da transferência da fêmea ou do ambiente em que o ninho foi depositado (Roe et al., 2011). Outra forte influência no sucesso de eclosão de *D. coriacea* está relacionada ao local da desova, que geralmente situa-se em áreas sujeitas à erosão (Hitipeuw et al., 2007). Segundo Spanier (2010) a escolha por uma área sujeita a erosão acontece quando a topografia da praia apresenta uma inclinação muito alta, a fêmea evita os locais

baixos da praia, com risco de alagamento pela maré, e não avança muito acima e distante da água, pois isto exige um grande desgaste energético.

D. coriacea forrageia em áreas de ressurgência ao longo dos oceanos ricas em nutrientes como zooplâncton gelatinoso, celenterados e quinidários. Como as áreas de ressurgência são instáveis, raramente os indivíduos são vistos agregados nos locais de alimentação (Morreale et al., 1996; Estrades et al., 2007; Witt et al., 2007). Apesar de possuir uma ampla distribuição geográfica em todos os oceanos, ocorrendo nas regiões polares, temperadas e tropicais (Pritchard, 1973; James et al., 2006; Eckert et al., 2012), a sua nidificação se restringe às regiões tropicais e subtropicais (Reina et al., 2002). Os principais locais de nidificação de *D. coriacea* no Oceano Atlântico são América do Sul (Guiana Francesa e Suriname), Caribe Sul (Trinidad) e África (Gabão e Congo) (Spotila et al., 1996; Rivalan et al., 2006; Eckert, 2006). A região de nidificação de *D. coriacea* mais importante do Atlântico ocidental está localizada no Gabão (Fretey et al., 2007). Destacando esta importância, Billes et al. (2003) estimaram cerca de 6300 fêmeas desovando na temporada reprodutiva de 1999/2000 e 7800 fêmeas desovando na temporada reprodutiva de 2000/2001 na costa do Gabão. No Brasil, Barata et al. (2004) observaram a ocorrência de *D. coriacea* do norte ao sul do país, incluindo as proximidades das ilhas oceânicas de Penedo de Sá, São Pedro e São Paulo e Fernando de Noronha. Entretanto a nidificação se restringe a alguns indivíduos no litoral norte do Estado do Espírito Santo (Thomé et al., 2007).

A Reserva Biológica de Comboios e Povoação, localizadas na foz sul e norte do Rio Doce, no norte do Estado do Espírito Santo, são as únicas praias onde a nidificação de *D. coriacea* ocorre de forma regular no Brasil (Barata & Fabiano, 2002). Em decorrência da proximidade da foz do Rio Doce, a quantidade de bioclastos é pequena (< 1 %), predominando sedimentos detríticos como quartzo ao longo da praia de Comboios (Santos & Ferreira Júnior, 2009). Neste ambiente a temperatura dos sedimentos tende a ser maior (Milton et al., 1997) quando comparada a outras áreas litorâneas que recebem grande contribuição de bioclastos o que, em parte, pode justificar a escolha das praias associadas à foz do Rio Doce como área de nidificação (Santos & Ferreira Júnior, 2009).

O período de nidificação de *D. coriacea* varia de acordo com a localização; na Costa Rica a temporada reprodutiva ocorre de março a julho, na costa do Pacífico, de outubro a fevereiro, assim como no Brasil (Reina et al., 2002). No entanto,

algumas desovas são encontradas ao longo do ano (Thomé et al., 2007). As fêmeas desovam quatro a oito ninhos por temporada (Girondot, 1998), com uma média de 90 ovos por ninho, uma vez a cada nove dias (Steyermark et al., 1996) e remigram para nova temporada entre dois a sete anos (Hughes, 1996).

Uma característica das tartarugas marinhas, assim como grande parte dos répteis, é a razão sexual dependente da temperatura de incubação. Há uma temperatura central, também chamada de temperatura pivotal, em torno da qual é gerada uma proporção de machos e fêmeas equivalente, ou seja, 50% de cada sexo. Temperaturas acima ou abaixo da temperatura pivotal geram preferencialmente fêmeas ou machos, respectivamente (Bull & Vogt, 1979; Godfrey et al., 1997; Mrosovsky & Pieau, 1991; Tiwari & Bdjordal, 2000; Wibbeles, 2003). A diferenciação das gônadas e a definição do sexo dos indivíduos é irrevessível a partir do segundo terço do desenvolvimento embrionário, período este chamado de termo-sensitivo (Bull & Vogt, 1979; Yntema, 1979). Além da definição do sexo, Mrosovsky & Yntema (1980) mostraram que para *Caretta caretta*, que uma redução de 1 °C na temperatura prolonga a duração da incubação em cinco dias.

Este trabalho foi desenvolvido sob duas hipóteses. É de se esperar que a razão sexual seja próxima 1:1 compatível com a manutenção da população e baseado em trabalhos anteriores com *Caretta caretta* (Baptistotte et al., 1999), na REBIO de Comboios. Considerando que ovos são uma via de excreção de elementos traço (Guirlet et al., 2008) é provável que uma alta concentração destes elementos afete negativamente o sucesso de eclosão de *D. coriacea*.

O presente trabalho objetiva monitorar a temperatura de incubação e calcular a razão sexual dos ninhos da temporada reprodutiva de 2011/2012 e levantar a concentração de elementos traço em ovos e filhotes natimortos de *D. coriacea* da praia da Reserva Biológica de Comboios.

REFERÊNCIAS

- BAPTISTOTTE, C.; SCALFONI, J. T.; MROSOVSKY, N. Male-producing thermal ecology of a southern loggerhead turtle nesting beach in Brazil: implications for conservation. *Animal Conservation*, 2: 9–13, 1999.
- BARATA, P. C. R.; FABIANO, F. F. C. Evidence for leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) nesting in Arraial do Cabo, State of Rio de Janeiro, and a review of occasional leatherback nests in Brazil. *Marine Turtle Newsletter*, 96: 13–16, 2002.
- BARATA, P. C. R.; LIMA, E. H. S. M.; BORGES-MARTINS, M.; SCALFONI, J. T.; BELLINI, C.; SICILIANO, S. Records of the leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) on the Brazilian coast, 1969-2001. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84: 1233-1240, 2004.
- BILLES, A.; FRETEY, J.; MOUNDEMBA, J. B. Monitoring of leatherback in gabon. In: saminoff, j. A. (ed.). *Proceedings of the Twenty-Second Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum, NMFS-SEFSC-503: 131-132, 2003.
- BULL, J. J.; VOGT, R. C. Temperature-dependent sex determination in turtles. *Science*, 206: 1186-1188, 1979.
- ECKERT, S. A. High-use oceanic areas for Atlantic leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) as identified using satellite telemetered location and dive information. *Marine Biology*, 149: 1257–1267, 2006.
- ECKERT, K. L.; LUGINBUHL, C. Death of a giant. *Mar Turtle News*, 43: 2–3, 1988.
- ECKERT, K. L.; WALLACE, B. P.; FRAZIER, J. G.; ECKERT, S. A.; PRITCHARD, P. C. H. *Synopsis of the Biological Data on the Leatherback Sea Turtle (Dermochelys coriacea)*. U.S. Departmente of Interior, Fish and Wildlife Service, Biological Technical Publication BTP-R4015-2012, Washinton, D.C. 2012.

ESTRADES, A.; MENDILAHARSU, M. L.; FALLABRINO, A. *Dermochelys coriacea* diet. *Herpetological Review*, 38: 330, 2007.

FRETEY, J.; BILLES, A.; TIWARI, M. Leatherback, *Dermochelys coriacea*, Nesting Along the Atlantic Coast Africa. *Chelonian Conservation and Biology*, 6: 126-129, 2007.

GODFREY, M. H; BARRETO, R.; MROSOVSKY, N. Metabolically-generated heat of Developing Eggs and its Potential Effect on Sex Ratio Of Sea Turtle Hatchlings. *Jornal of Herpetology*, 31: 616-619, 1997.

GUIRLET, E.; DAS, K.; GIRONDOT, M. Maternal transfer of trace elements in leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) of French Guiana. *Aquatic Toxicology*, 88: 267–276, 2008.

HITIPEUW, C.; DUTTON, P.H.; BENSON, S.; THEBU, J.; BAKARBESSY, J. Population status and interesting movement of Leatherback Turtles, *Dermochelys coriacea*, nesting on the Northwest Coast of Papua, Indonesia. *Chelonian Conservation and Biology*, 6: 28-36, 2007.

HUGHES, G.R. Nesting of the leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) in Tongaland, KwaZulu-Natal, South Africa, 1963–1995. *Chelonian Conservation and Biology*, 2: 153–158, 1996.

IBAMA. Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção. Ministério do Meio Ambiente. <<http://www.meioambiente.es.gov.br/download/NovaListaFaunaAmeacaMMA2003.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2012. 2003.

JAMES, M. C.; MROSOVSKY. N. Body temperatures of leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) in temperate waters off Nova Scotia, Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 82: 1302–1306, 2004.

JAMES, M. C.; OTTENSMEYER, C. A.; ECKERT, S. A.; MYERS, R. A. Changes in diel diving patterns accompany shifts between northern foraging and southward migration in leatherback turtles. *Canadian Journal of Zoology*, 84: 754–765, 2006.

- MILTON, S. L.; SCHULMAN, A. A.; LUTZ, P. L. The effect of beach nourishment with aragonite versus silicate sand on beach temperature and Loggerhead Sea Turtle nesting success. *Journal of Coastal Research*, 13: 904-915, 1997
- MORREALE, S. J.; STANDORA, E. A.; SPOTILA, J. R.; PALADINO, F. V. Migration corridor for sea turtles. *Nature*, 384: 319–320, 1996.
- MROSOVSKY, N.; PIEAU, C. Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia- Reptilia*, 12:169-179, 1991.
- MROSOVSKY, N.; YNTEMA, C. L. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices. *Biological Conservation*, 18: 271-280, 1980.
- PALADINO, F. V.; O'CONNOR, M. P.; SPOTILA, J. R. Metabolism of leatherback turtles, gigantothermy, and thermoregulation of dinosaurs. *Nature*, 344: 858–860, 1990.
- PRITCHARD, P. C. H. Evolution, phylogeny and current status. *In: The biology of sea turtles*. P. L. Lutz and J. A. Musick (eds.). CRC Press, Boca Raton, FL. 1–28, 1997.
- PRITCHARD, P. C. H. International migrations of South American sea turtles (Cheloniidae and Dermochelyidae). *Animal Behaviour*, 21: 18–27, 1973.
- REINA, R. D.; MAYOR, P. A.; SPOTILA, J. R.; PIEDRA, R.; PALADINO, F. V. Nesting Ecology of the Leatherback Turtle, *Dermochelys coriacea*, at Parque Nacional Marino Las Baulas, Costa Rica: 1988–1989 to 1999–2000. *Copeia*, 2002: 653–664, 2002.
- RIVALAN, P.; DUTTON, P. H.; BAUDRYA, E.; RODEN, S. E.; GIRONDOT, M. Demographic scenario inferred from genetic data in leatherback turtles nesting in French Guiana and Suriname. *Biology Conservation*, 130: 1–9, 2006.

ROE, J. H.; HOPKINS, W. A.; BAIONNO, J. A.; STAUB, B. P.; ROWE, B. P.; ROWE, C. L.; JACKSON, B. P. Maternal transfer of selenium in Alligator mississippiensis nesting downstream from a coal-burning power plant. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23: 1969–1972, 2004.

ROE, J. H.; NATHAN, S. S.; COLUMBIA, M. R.; PALADINO, F. V. Trace Metals in Eggs and Hatchlings of Pacific Leatherback Turtles (*Dermochelys coriacea*) Nesting at Playa Grande, Costa Rica. *Chelonian Conservation and Biology*, 10: 3-9, 2011.

SANTOS, C. H.; FERREIRA JÚNIOR, P. D. Influência do local da desova na incubação de *Dermochelys coriacea* Vandelli, 1761 (Testudines: Dermochelyidae) na Reserva Biológica de Comboios, norte do estado do Espírito Santo, Brasil. *Biota Neotropica*, 9: 413-418, 2009.

SARTI MARTINEZ, A. L. *Dermochelys coriacea*. In: IUCN 2003. 2003 IUCN Red List of Threatened Species. <www.redlist.org>. Acesso em: 24 ago. 2012, 2000.

SPANIER, M. J. Beach erosion and nest site selection by the leatherback sea turtle *Dermochelys coriacea* (Testudines: Dermochelyidae) and implications for management practices at Playa Gandoca, Costa Rica. *Revista de Biologia Tropical*, 58: 1237-1246, 2010.

SPOTILA, J. R.; DUNHAM, A. E.; LESLIE, A. J.; STEYERMARK, A. C.; PLOTKIN, P. T.; PALADINO, F. V. Worldwide population decline of *Dermochelys coriacea*: are leatherback turtles going extinct? *Chelonian Conservation and Biology*, 2: 209–222, 1996.

STEYERMARK, A. C.; WILLIAMS, K.; SPOTILA, J. R.; PALADINO, F. V.; ROSTAL, D. C.; MORREALE, S. J.; KOBERG, M. T.; ARAUZ, R. Nesting leatherback turtles at Las Baulas National Park, Costa Rica. *Chelonian Conservation and Biology*, 2: 173–183, 1996.

THOME, J. C. A.; BAPTISTOTTE, C.; MOREIRA, L. M. P.; SCALFONI, J. T.; ALMEIDA, A. P.; RIETH, D. B.; BARATA, P. C. R. Nesting Biology and Conservation of the Leatherback Sea Turtle (*Dermochelys coriacea*) in the State of Espírito Santo,

Brazil, 1988–1989 to 2003–2004. *Chelonian Conservation and Biology*, 6: 15-27, 2007.

TIWARI, M.; BJORNDAL, K. A. Variation in morphology and reproduction in loggerheads, *Caretta caretta*, nesting in the United States, Brazil, and Greece. *Herpetologica*, 56: 343–356, 2000.

WIBBELS, T. Critical approaches to sex determination in sea turtles. In *Biology of Sea Turtles*, 2: 103-134, 2003.

WITT, M. J.; BRODERICK, A. C.; JOHNS, D. J.; MARTIN, C.; PENROSE, R.; HOOGMOED, M. S.; GODLEY, B. J. Prey landscapes help identify potential foraging habitats for leatherback turtles in the NE Atlantic. *Marine Ecology Progress Serie*, 337: 231–244, 2007.

WOOD, R.; JOHNSON-GOVE, J.; GAFFNEY, E.; MALEY, K. Evolution and phylogeny of the leatherback turtles (Dermochelyidae), with descriptions of new fossil taxa. *Chelonian Conservation and Biology*, 2: 266–287, 1996.

YNTEMA, C. L. Temperature levels and periods of sex determination during incubation of eggs of *Chelydra serpentina*. *Journal of Morphological*, 159: 17-28, 1979.

CAPÍTULO 1

A norma de citação e a estrutura de formatação deste capítulo foram realizadas seguindo as normas da Revista Brasileira de Zoologia, disponível em: <<http://www.scielo.br/revistas/rbzool/pinstruc.htm>>.

RAZÃO SEXUAL DE FILHOTES DE *Dermochelys coriacea* (VANDELLI, 1761) (TESTUDINES: DERMOCHELYIDAE) NO NORTE DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

RESUMO

BORINI, Jordana Freire, M.Sc., Universidade Vila Velha - ES, setembro de 2012. **Razão sexual de filhotes de *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) no norte do Espírito Santo, Brasil.** Orientador: Paulo Dias Ferreira Júnior. Co-orientador: Denise Coutinho Endringer.

Tartarugas marinhas apresentam determinação do sexo dependente da temperatura de incubação indicando a importância das variáveis ambientais na sua reprodução. Quando os embriões são expostos à temperatura pivotal, no segundo terço de incubação, é produzida uma razão sexual de 50:50. A temperatura pivotal de *D. coriacea* varia entre 29,4 °C na Costa Rica e 29,7 °C no Suriname. Com o objetivo de determinar, pela primeira vez, monitoramos a temperatura de incubação e a razão sexual de *D. coriacea* no litoral do Espírito Santo associando o ambiente termal dos ninhos às características dos sedimentos do local de nidificação. Foram monitorados 12 ninhos durante a temporada reprodutiva de 2011/2012, entre novembro de 2011 e março de 2012 na REBIO de Comboios. Cada um dos ninhos recebeu um datalogger para registrar a temperatura do interior do ninho de 60 em 60 min e foram coletados sedimentos destinados à análise da granulometria e albedo. Dados de precipitação e maré foram relacionados à temperatura de incubação para avaliar como as características do meio afetam a incubação. As médias do segundo terço de incubação dos ninhos variaram entre 26,3 °C e 28,93 °C, indicando uma razão sexual de 100% de machos. A precipitação a maré e o momento da desova afetaram a temperatura dos ninhos indicando a influência dos fatores ambientais no sexo dos filhotes. A temporada reprodutiva de 2011/2012 apresentou uma elevada precipitação, entretanto, nenhum fator pode ser apontado, isoladamente, como o único responsável pela ocorrência de 100% de filhotes machos na REBIO de Comboios. Um monitoramento de longo prazo é desejável para o estabelecimento da razão sexual gerada, uma vez que fatores ambientais pontuais podem exercer grande influência no desenvolvimento embrionário.

Palavras chave: incubação, sedimento, temperatura, tartaruga marinha.

ABSTRACT

BORINI, Jordana Freire, M.Sc., Universidade Vila Velha - ES, setembro de 2012. **Sex ratio in hatchling *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) in north of Espírito Santo, Brazil.** Supervisor: Paulo Dias Ferreira Júnior. Co-supervisor: Denise Endringer.

Sex determination on sea turtles depends on incubation temperature, indicating the importance of environmental factors in their reproduction. When embryos are exposed to pivotal temperature in the second third of incubation, is produced a sex ratio of 50:50. The temperature pivotal *D. coriacea* varies between 29.4 ° C in Costa Rica and 29.7 ° C in Suriname. Aiming to determine for the first time, was monitored the incubation temperature and sex ratio of *D. coriacea* on the coast of Espírito Santo associating the thermal environment of the nest to the sedimentary characteristics of the nesting site. We monitored 12 nests during the 2011/2012 breeding season, between November 2011 and March 2012 in REBIO Comboios. Each nest received a datalogger for recording the temperature inside the nest every 60 minutes and were collected for particle size and albedo analysis. Tide and rainfall data were related to incubation temperature to evaluate how those environment characteristics may affect incubation. The average nest temperature of the second third incubation period varied between 26.3 ° C and 28.93 ° C, indicating a sex ratio of 100% males. The precipitation, tide and the time of the spawning affected the nest temperature indicating the influence of environmental factors on the sex of offspring. The breeding season of 2011/2012 showed a high rainfall, however, no single factor can be blamed alone as the unic responsible for occurrence of 100% of male offspring in REBIO Comboios. A long-term monitoring is desirable to establish the sex ratio generated, since specific environmental factors may exert great influence in embryonic development.

Keywords: incubation, sea turtle, sediment, temperature.

INTRODUÇÃO

Todas as tartarugas marinhas apresentam determinação do sexo dependente da temperatura de incubação (Mrosovsky, 1994) indicando a importância dos fatores ambientais na sua reprodução. Uma razão sexual de 50:50 é produzida quando os embriões são expostos, no segundo terço da incubação, à temperatura pivotal (Bull & Vogt, 1979; Godfrey *et al.*, 1997; Mrosovsky & Pieau, 1991; Tiwari & Bjordal, 2000; Wibbeles, 2003). Para *D. coriacea* a temperatura pivotal varia entre 29,5 °C e 29,7 °C no Suriname (Mrosovsky *et al.*, 1984; Rimblot *et al.*, 1985) e 29,4 °C na Costa Rica (Binckley *et al.*, 1998). Em torno da temperatura pivotal existe uma faixa de transição onde são gerados ambos os sexos. Abaixo desta faixa de transição são produzidos, predominantemente, machos e acima, predominantemente, fêmeas (Mrosovsky & Pieau, 1991). A temperatura pivotal é considerada conservativa, variando pouco entre as diferentes populações de tartarugas marinhas (Mrosovsky, 1994) o que possibilita que os valores encontrados em uma população sejam utilizadas em outras. A faixa de transição da temperatura de incubação de *D. coriacea* é muito estreita ficando abaixo de 1 °C (Rimblot *et al.*, 1985; Binckley *et al.*, 1998), já para *Chelonia mydas* a faixa de transição é mais ampla, variando até 4 °C (Mrosovsky *et al.*, 1984). Esta diferença é explicada, em parte, pela característica do local de desova; *D. coriacea* normalmente desova na zona aberta da praia, em ambientes mais homogêneos e geograficamente restritos (Godfrey *et al.*, 1996). Já *C. mydas* apresenta maior plasticidade ambiental em suas áreas de desova ocupando tanto a área vegetada quanto a aberta, apresentando uma menor restrição geográfica (Wang & Cheng, 1999). Considerando a importância da temperatura no desenvolvimento embrionário das tartarugas, faz-se necessário conhecer as características do local de desova (Ferreira Júnior *et al.*, 2008), dentre elas o tipo e o tamanho do sedimento (Mortimer, 1990) e a forma como elas afetam o ambiente termal dos ninhos e a razão sexual dos filhotes.

Face à redução das populações mundiais de *D. coriacea* é essencial que se conheça dados reprodutivos básicos como os locais de desova, o tamanho das populações, o seu potencial reprodutivo, o sucesso de eclosão e a razão sexual. No Brasil *D. coriacea* está listada pelo IBAMA/RAN como ameaçada de extinção (IBAMA, 2003). De acordo com Thomé *et al.* (2007) a população reprodutiva de *D. coriacea* no Brasil está restrita a alguns indivíduos no litoral norte do Espírito Santo,

entretanto, mesmo pequena esta população apresenta um crescimento consistente no número anual de ninhos: na temporada de 2002/2003 (92 ninhos) foi registrado um aumento de 86 ninhos em relação à temporada de 1993/1994 (6 ninhos).

Vargas *et al.* (2008) afirmam por meio de análise de DNA mitocondrial que as populações de *D. coriacea* que ocorrem no litoral e na zona pelágica do Brasil estão estruturadas em dois grupos macrogeográficos: as populações nidificantes do Brasil, Flórida, Costa Rica (Atlântico), Trinidad, Suriname/Guiana Francesa, Saint Croix e África do Sul compõem o grupo Atlântico e as populações da Malásia, Ilhas Salomão, México e Costa Rica (Pacífico) compõem o grupo Indo-Pacífico. Em seu estudo Vargas *et al.* (2008) não analisaram indivíduos do Gabão que podem ter importância na estrutura da população de *D. coriacea* encontrada no Brasil. Migrações reduzem a divergência de conjuntos gênicos de populações parcialmente isoladas, sendo que a interação de uma ou mais populações com diferenças genéticas pode reparar sua diversidade (Frankham *et al.*, 2008). Este contexto torna explícita a importância de todas as populações, uma vez que elas atuam no fluxo gênico permitindo a persistência da espécie em sua distribuição geográfica.

Thomé *et al.* (2007) analisaram a nidificação de *D. coriacea* na REBIO de Comboios de 1988-1999 a 2003-2004 levantando dados sobre o número de ninhos, número de fêmeas, distribuição espacial e característica dos ninhos, período de incubação e sucesso de eclosão. Entretanto, ainda não foi realizado um trabalho sobre a temperatura de incubação dos ninhos de *D. coriacea* no Brasil. Para *Caretta caretta* na REBIO de Comboios Baptistotte *et al.* (1999) obtiveram valores próximos da temperatura pivotal (29,2 °C, Marcovaldi *et al.*, 1997) nas câmaras de ovos, indicando uma razão sexual próxima a 50%. A partir deste resultado com *C. caretta*, espera-se que a razão sexual de *D. coriacea* seja semelhante, ou apresentando uma pequena tendência ao predomínio de machos. O objetivo deste trabalho é determinar, pela primeira vez, a temperatura de incubação e a razão sexual de *D. coriacea* no litoral do Espírito Santo associando o ambiente termal dos ninhos às características dos sedimentos do local de nidificação.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na REBIO de Comboios (19° 40' 19" S - 39° 52' 56" W) situada nos municípios de Aracruz e Linhares, no Estado do Espírito Santo. A região é caracterizada por terras quentes, planas e de transição chuvosa a seca (ENCAPA/NEPUT, 1999). A Reserva possui 37 km de praia voltada à proteção de *C. caretta* e *D. coriacea*, iniciada em 1982 pelo Projeto TAMAR/ICMBio (Baptistotte *et al.*, 1999; Thomé *et al.*, 2007). A coleta de dados foi realizada durante a temporada reprodutiva de 2011/2012, entre novembro de 2011 e março de 2012. Dados referentes ao número de ninhos, localização, data da desova, duração de incubação, data e sucesso de eclosão foram coletados em conjunto com técnicos do Projeto TAMAR/ICMBio. Para a determinação da temperatura de incubação foram colocados dataloggers (ibuttons Maxim DSG1921G) em 12 ninhos de *D. coriacea*. Cada datalogger foi programado para registrar a temperatura no interior dos ninhos de 60 em 60 min. Os dataloggers foram colocados no meio da câmara de ovos e retirados na abertura dos ninhos após a eclosão dos filhotes.

De cada ninho coletou-se cerca de 200 g de sedimento destinados à análise da granulometria e do albedo, relacionando-os à temperatura de incubação para avaliar se as características do meio afetam a incubação. Para o cálculo da razão sexual foi utilizado a temperatura pivotal apresentada por Rimblot *et al.* (1985), Binckley *et al.* (1998) e Chevalier *et al.* (1999) que varia de 29,4 °C a 29,7 °C.

Dados de precipitação e variação de maré, de novembro de 2011 a abril de 2012, foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) a partir da Estação Meteorológica Automática de Linhares (ES) e Diretoria de Hidrografia e Navegação da Marinha do Brasil, respectivamente.

Para o cálculo da razão sexual dos ninhos utilizou-se a equação proposta para a estimativa da proporção de fêmeas que desovam em Playa Grande na Costa Rica (Oceano Pacífico) (Binckley *et al.*, 1998; Chevalier *et al.*, 1999) dada por:

$$\text{Proporção de fêmeas} = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{-(T - 29,4)}{-0,2}\right)}$$

O sucesso de eclosão é a porcentagem de filhotes vivos em relação ao número total de ovos. A duração da incubação é o número de dias transcorridos

entre a desova e a eclosão dos filhotes. Para testar o efeito das variações ambientais (tamanho do sedimento e albedo) e data da desova na temperatura média do segundo terço da incubação e no sucesso de eclosão foi aplicada regressão linear múltipla. Devido a alta colinearidade dos dados, algumas frações granulométricas foram retiradas a partir de uma regressão múltipla passo a passo para trás (Stepwise backward) para que não inflacionassem os resultados. O critério usado para remover as variáveis foi os valores de $p > 0,05$, $r > 0,7$, $r^2 > 0,45$ e correlações entre as variáveis maiores que 0,75. As variáveis expressas em porcentagem (fração granulométrica, albedo e sucesso de eclosão) foram transformadas pela raiz quadrada do arcoseno para evitar a circularidade dos dados. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

As temperaturas dos ninhos de *Dermochelys coriacea* começaram ser registradas a partir do mês de novembro e se estenderam até o mês de abril na REBIO de Comboios. Vinte e um ninhos foram monitorados, entretanto o período termo-sensível foi validado em 12 ninhos. As médias do segundo terço de incubação desses 12 ninhos variaram entre 26,3 °C e 28,93 °C (Tabela 1), quase sempre abaixo, portanto, da temperatura pivotal de *D. coriacea* no Suriname (29,7 °C) e na Costa Rica (29,4 °C) (Rimblot *et al.*, 1985; Binckley *et al.*, 1998; Chevalier *et al.*, 1999).

Tabela 1. Temperatura média de toda a incubação (Temp. Média), temperatura média do segundo terço de incubação (Temp. Média 2/3), sucesso de eclosão (SE) e duração da incubação (DI) de 12 ninhos de *Dermochelys coriacea* da REBIO de Comboios.

Ninho	DI	Temp. Média ± DP	Temp. Média 2/3 ± DP	SE %
1	87	27,97 ± 1,54	26,30 ± 1,24	74
2	87	28,02 ± 2,44	28,10 ± 0,70	0
3	70	28,49 ± 2,57	28,30 ± 1,14	43
4	83	28,02 ± 1,57	27,98 ± 0,66	0
5	74	26,80 ± 1,06	27,69 ± 0,68	72
6	71	28,81 ± 2,22	28,38 ± 0,76	78
7	67	28,81 ± 2,27	28,07 ± 0,76	73
8	65	28,44 ± 2,21	28,21 ± 0,98	74
9	78	28,19 ± 1,78	28,84 ± 0,19	0
10	66	28,23 ± 1,96	28,93 ± 0,39	90
11	90	28,43 ± 0,88	28,06 ± 1,21	30
12	84	28,08 ± 1,71	28,66 ± 1,53	63

A razão sexual estimada com base na equação proposta por Chevalier *et al.* (1999) para todos os 12 ninhos foi de 100% de machos. Com as oscilações diárias, em alguns momentos, sete ninhos ultrapassaram 29,4 °C (temperatura pivotal), outros dois ninhos apresentaram uma queda brusca de temperatura em um mesmo período, o que foi atribuído a variações da maré e à precipitação, próximas aos dias 10 de dezembro de 2011, 5 de janeiro e 20 de fevereiro de 2012 (Figura 1). O sucesso de eclosão dos ninhos variou entre 0% e 90% (Tabela 1).

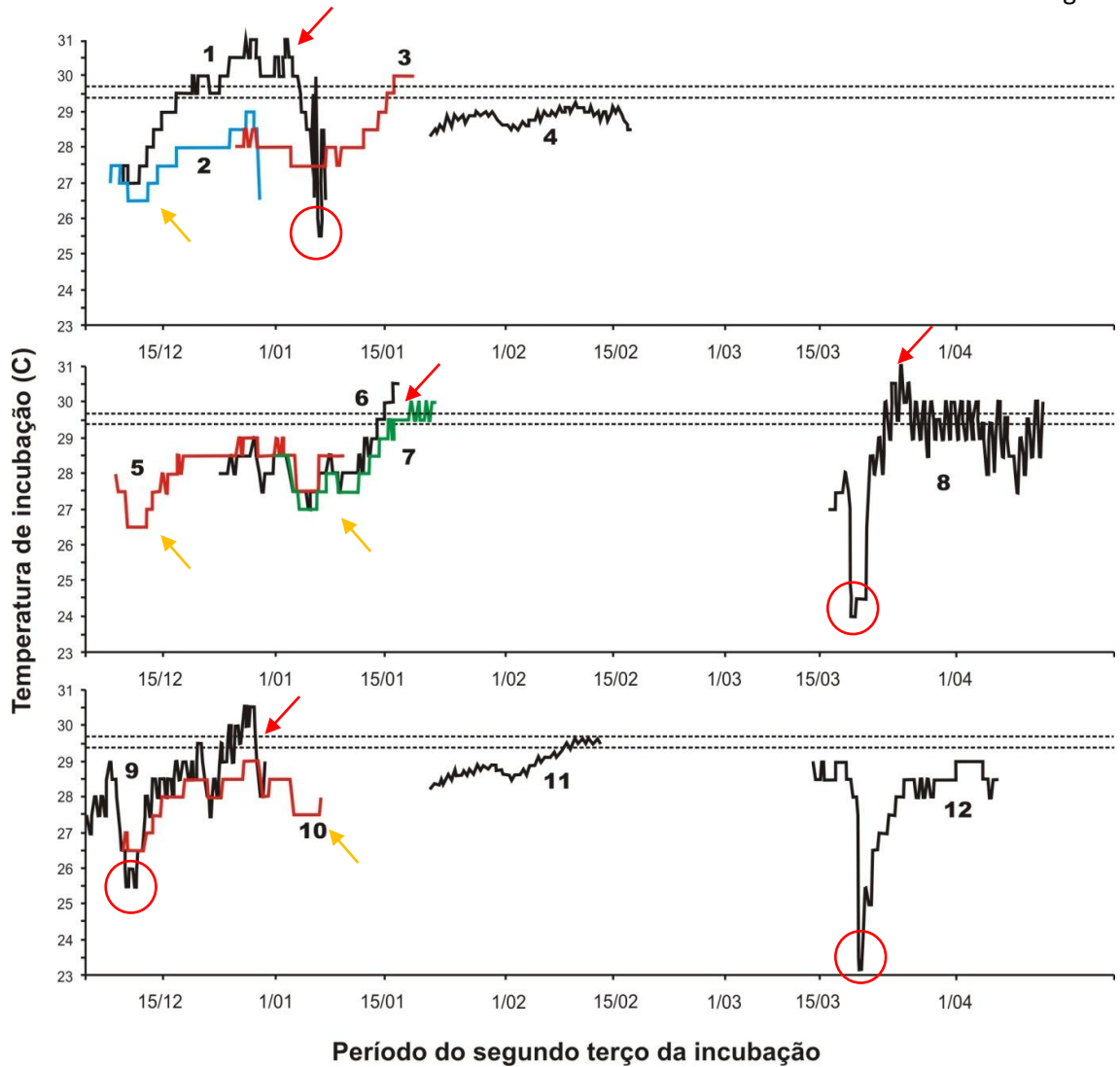


Figura 1. Temperaturas do segundo terço de incubação dos 12 ninhos na REBIO de Comboios. A linha pontilhada representa a temperatura pivotal de *D. coriacea* na Costa Rica (29,4 °C) e Suriname (29,7 °C) (Chevalier et al., 1999) (Ver figura 2). Os círculos vermelhos indicam as quedas de temperatura provocadas por alagamento da maré e as setas amarelas indicam as quedas de temperatura provocadas pela precipitação. As setas vermelhas mostram que em alguns momentos a temperatura registrada ultrapassou a temperatura pivotal.

O sucesso de eclosão foi maior nos ninhos com sedimentos mais grossos e mais escuros e com maior número de ovos (Tabela 2), já a temperatura foi influenciada pela data da desova aumentando no final da temporada reprodutiva (Tabela 3).

Tabela 2. Influência dos fatores ambientais e do tamanho da ninhada no sucesso de eclosão de *D. coriacea* (n = 12; r = 0,935; r² = 0,874; F = 5,8; p = 0,03).

Variável	Coefficiente	t	p
Constante	3,918	0,961	0,381
Duração da incubação	-0,0129	-1,866	0,121
Temperatura 2/3	0,190	1,282	0,256
Total de ovos	-0,0497	-3,951	0,011
Areia muito grossa	1,378	2,381	0,063
Areia grossa	-1,959	-3,438	0,018
Albedo	-5,279	-3,007	0,030

Tabela 3. Influência dos fatores ambientais e do tamanho da ninhada na temperatura dos ninhos de *D. coriacea* (n = 12; r = 0,908; r² = 0,825; F = 5,64; p = 0,029).

Variável	Coefficiente	t	p
Constante	-517,884	-3,668	0,010
Data da desova	0,0133	3,838	0,009
Total de ovos	0,00806	0,415	0,0692
Areia muito grossa	-0,342	-0,404	0,700
Areia grossa	1,539	1,914	0,104
Albedo	2,905	1,114	0,308

DISCUSSÃO

A temperatura do segundo terço de incubação de *Dermochelys coriacea* na REBIO de Comboios manteve-se abaixo da temperatura pivotal 29,4 °C, estabelecida por Binckley *et al.* (1998) em Playa Grande na Costa Rica, indicando um predomínio de machos. A razão sexual de *D. coriacea* difere daquela encontrada para *Caretta caretta* nesta área que foi próxima a 1:1 (Battistotte *et al.*, 1999). Este predomínio de machos é compatível com a localização da área de desova, situada no limite sul da zona de ocorrência de *C. caretta* no Brasil. Na REBIO de Comboios, Battistotte *et al.* (1999) apresentaram uma razão sexual de *C. caretta* próxima a 50% e um aumento da temperatura de incubação no decorrer da temporada reprodutiva. A temperatura pivotal de 29,2 °C para *C. caretta* somente foi atingida e ultrapassada a partir de dezembro. Estes autores ainda mostraram que a temperatura na praia aberta, onde a desova de *C. caretta* é mais comum (Thomé *et al.*, 2007) é menor que nas áreas geologicamente mais estáveis e próximas da vegetação, onde a desova de *C. caretta* é mais frequente.

As diferenças entre as razões sexuais destas duas espécies que utilizam a REBIO de Comboios podem ser atribuídas à temperatura pivotal, ao microambiente dos ninhos e a sazonalidade climática. A temperatura pivotal de *D. coriacea* é um pouco maior que a de *C. caretta* (0,3 a 0,5 °C), mas como a faixa de transição ao redor a temperatura pivotal é muito estreita (< 1 °C) a produção de ninhos com um único sexo não é muito difícil. Como apresentado por Battistotte *et al.* (1999) e Mrosovsky *et al.* (1994) as áreas utilizadas por *C. caretta* e *D. coriacea* diferem em termo de susceptibilidade à erosão e temperatura. *Dermochelys coriacea* desova em áreas abertas mais frias e sujeitas à erosão. Além disso, a câmara de ovos é mais profunda (Eckert *et al.*, 2012) que a de *C. caretta* o que tem como consequência uma menor variação diária da temperatura e uma menor temperatura média (Mrosovsky, 1994).

Durante a temporada reprodutiva de 2011/2012 ocorreu uma elevada de precipitação (529,4 mm de dezembro a abril (INMET)) o que levou as baixas temperaturas de incubação. Matsuzawa *et al.* (2002) observaram um aumento abrupto de temperatura em ninhos de *C. caretta* no Japão quando a estação chuvosa terminou. Houghton *et al.* (2007) avaliaram a influência da precipitação na temperatura de incubação de ninhos de *D. coriacea* em Granada, indicando que a temperatura na câmara de ovos é mais baixa durante períodos de intensa

precipitação. A variação da maré é outro fator que influencia o sucesso de eclosão e a temperatura dos ninhos. Caut *et al.* (2010) observaram um menor sucesso de eclosão em ninho de *D. coriacea* que foram inundados pela maré comparando aqueles que não foram atingidos. Na REBIO de Comboios, além do alagamento dos ninhos a erosão das praias, principalmente próximo à foz do Rio Doce, é uma importante causa da redução do sucesso de eclosão.

É importante destacar que a razão sexual de filhotes de uma única temporada deve ser analisada com cautela, considerando que tartarugas marinhas são animais que possuem longa duração de reprodução. Estudos sobre razão sexual de filhotes de *D. coriacea* em outras partes do mundo apontam uma forte tendência ao predomínio de fêmeas e uma variação na proporção dos sexos ao longo de uma temporada reprodutiva e de diferentes temporadas (Godfrey *et al.*, 1996) e de praias (Goverse *et al.*, 2006). Machos prevalecem durante os meses frios do início da estação reprodutiva e fêmeas nos meses mais quentes (Lescure *et al.*, 1985; Dutton *et al.*, 1985). Períodos com 100% de filhotes de um único sexo são relatados no Suriname (Dutton *et al.*, 1985), Costa Rica (Binckley *et al.*, 1998) e Malásia (Chan & Liew, 1995), mas ao contrário do registro na REBIO de Comboios não foram reportados ninhos com 100% de machos em toda uma temporada reprodutiva. Na REBIO de Comboios a temperatura média aumentou ao longo da temporada reprodutiva, mas não foi suficiente para ultrapassar a temperatura pivotal e alterar a razão sexual.

As implicações de uma razão sexual francamente favorável aos machos, a despeito de uma análise pontual focada em uma única estação, pode ser analisada sob duas perspectivas (Eckert *et al.*, 2012). Na primeira, caso a população de *D. coriacea* que desova no Brasil apresente uma alta fidelidade (“nesting fidelity”) ela se mostraria inviável a longo prazo. No segundo cenário onde a fidelidade à área de desova é baixa, os filhotes gerados na REBIO de Comboios poderão desempenhar um papel importante na manutenção do equilíbrio de outras populações (Frankham *et al.*, 2008). A segunda hipótese parece ser a mais viável, pois *D. coriacea* possui uma menor fidelidade à área de desova que as outras espécies de tartaruga marinha o que em parte pode explicar as pequenas divergências de mtDNA entre as populações dos oceanos Atlântico e Pacífico (Dutton *et al.*, 1996). A estruturação genética da população é fraca e em alguns casos é indistinta como nas populações da Flórida, Costa Atlântica da Costa Rica, Guiana Francesa-Suriname e África do Sul (Dutton *et al.*, 1996).

A temperatura média da incubação não influenciou o sucesso de eclosão dos ninhos indicando que apesar da razão sexual francamente favorável aos machos o desenvolvimento embrionário transcorreu dentro dos limites termais adequados (Erckert *et al.*, 2012). Para os ninhos que não sofreram erosão, que é uma das principais causas de perda de ninho (Caut *et al.*, 2010; Thomé *et al.*, 2007), o sedimento influenciou o sucesso de eclosão indicando a importância do local da desova na reprodução de *D. coriacea*. Santos & Ferreira Júnior (2009) não encontraram esta influência no sucesso de eclosão o que reflete as diferenças entre as estações reprodutivas e a necessidade de estudos de longa duração para se estabelecer as correlações entre as variáveis ambientais e o desenvolvimento embrionário de *D. coriacea*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para espécies cujo sexo é determinado pela temperatura da incubação a razão sexual de uma única estação reprodutiva pode não ser o melhor indicador do seu potencial reprodutivo. Anos excepcionalmente quentes, quando comparados a anos frios, podem produzir filhotes com uma razão sexual muito diferente com o sexo tendendo ora para machos, ora para fêmeas. A temporada reprodutiva de 2011/2012 apresentou uma elevada precipitação, mas o clima não deve ser, isoladamente, apontado como o único responsável pela ocorrência de 100% de filhotes machos na REBIO de Comboios, pois o local e o momento da desova, as propriedades do ninho e a temperatura pivotal atuam em conjunto sobre o ambiente termal e no desenvolvimento embrionário.

REFERÊNCIAS

- Baptistotte, C.; Scalfoni, J. T.; Mrosovsky, N. 1999. Male-producing thermal ecology of a southern loggerhead turtle nesting beach in Brazil: implications for conservation. *Animal Conservation*, 2: 9–13.
- Binckley, C. A.; Spotila, J. R.; Wilson, K. S.; Paladino, F. V. 1998. Sex determination and sex ratios of Pacific leatherback turtles, *Dermochelys coriacea*. *Copeia*, 1998: 291-300.
- Bull, J. J.; Vogt, R. C. 1979. Temperature-dependent sex determination in turtles. *Science*, 206: 1186-1188.
- Caut, S.; Guirlet, E.; Girondot, M. 2010. Effect of tidal overwash on the embryonic development of leatherback turtles in French Guiana. *Marine Environmental Research*, 69: 254–261.
- Chan, E. H.; Liew, H. C. 1995. Incubation temperatures and sex-ratios in the Malaysian leatherback sea turtle *Dermochelys coriacea*. *Biological Conservation*, 74: 169-174.
- Chevalier, J.; Godfrey, M. H.; Girondot, M. 1999. Significant difference of temperature-dependent sex determination between French Guiana (Atlantic) and Playa Grande (Costa Rica, Pacific) leatherbacks (*Dermochelys coriacea*). *Annales des Sciences Naturelles*, 20: 147-152.

Dutton, P. H.; Davis, S. K.; Guerra, T.; Owens, D. W. 1996. Molecular phylogeny for marine turtles based on sequences of the ND4-leucine tRNA and control regions of mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5: 511-521.

Dutton, P. H.; Whitmore, C. P.; Mrosovsky, N. 1985. Masculinisation of leatherback turtle, *Dermochelys coriacea*, hatchlings from eggs incubated in Styrofoam boxes. *Biology Conservation*, 31: 249-264.

Eckert, K. L.; Wallace, B. P.; Frazier, J. G.; Eckert, S. A.; Pritchard, P.C. H. 2012. Synopsis of the Biological Data on the Leatherback Sea Turtle (*Dermochelys coriacea*). U.S. Department of Interior, Fish and Wildlife Service, Biological Technical Publication BTP-R4015-2012, Washinton, D.C.

ENCAPA/NEPUT. 1999. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – INCAPER. <<http://hidrometeorologia.incaper.es.gov.br/>>. Acesso em: 20 de set. 2012.

Ferreira Júnior, P. D.; M. F.; Lorenzo, M. D. Monteiro, M. F.; Azevedo Júnior, R. 2008. Influência das características geológicas do local de desova na duração da incubação e no sucesso da eclosão dos ovos de *Caretta caretta* na praia da Guanabara, Anchieta, Espírito Santo. *Iheringia, Série Zoológica*, 98: 447-453.

Fretey, J.; Billes, A.; Tiwari, M. 2007. Leatherback, *Dermochelys coriacea*, Nesting Along the Atlantic Coast Africa. *Chelonian Conservation and Biology*, 6: 126-129.

Frankham, R.; Ballou, J. D.; Briscoe, D. A. 2008. Fundamentos de genética da Conservação. Editora SBG (Sociedade Brasileira de Genética), p. 35.

Godfrey, M. H.; Barreto, R.; Mrosovsky, N. 1996. Estimating past and present sex ratio of sea turtles in Suriname. *Canadian Journal of Zoology*, 74: 267-277.

Gofrey, M. H.; Barreto, R.; Mrosovsky, N. 1997. Metabolically-generated heat of developing eggs and its potential effects on sex ratio of sea turtle hatchlings. *Journal of Herpetology*, 31: 616-619.

Goverse, E.; Hilterman, M.; Godfrey, M. 2006. Sand temperature profiles of three major leatherback (*Dermochelys coriacea*) nesting beaches in Suriname. Pages 11-13 in N. Pilcher, compiler. Proceedings of the 23rd annual symposium on sea turtle biology and conservation. U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration Technical Memorandum NMFSSSEFSC- 536. Miami, Florida.

Houghton, J. D. R.; Myers, A. E.; Lloyd, C.; King, R. S.; Isaacs, C.; Hays, G. C. 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.

IBAMA. 2003. Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção. Ministério do Meio Ambiente.

<<http://www.meioambiente.es.gov.br/download/NovaListaFaunaAmeacaMMA2003.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2012.

Lescure, J.; Rimblot, F.; Fretey, J.; Renous, S.; Pieau, C. 1985. Influence de la temperature d'incubation des oeufs sur la sex-ratio des nouveauxnés de la tortue luth, *Dermochelys coriacea*. Bulletin de la Société Zoologique de France, 100: 355-359,

Marcovaldi, M. A.; Godfrey, M. H.; Mrosovsky, N. 1997. Estimating sex ratios of loggerhead turtles in Brazil from pivotal incubation durations. Canadian Journal of Zoology, 75: 755-770.

Matsuzawa, Y.; Sato, K.; Sakamoto, W.; Bjorndal, K.A. 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.

Mortimer, J. A. 1999. The Influence of Beach Sand Characteristics on the Nesting Behavior and Clutch Survival of Green Turtles (*Chelonia mydas*). Copeia, 1990: 802-817.

Mrosovsky, N. 1994. Sex ratio of sea turtle. The Journal of Experimental Zoology, 270: 16-27.

Mrosovsky, N.; Dutton, P.H.; Whitmore, C.P. 1984. Sex ratio of two species of sea turtle nesting in Suriname. Canadian Journal of Zoology, 62: 2227-2239.

Mrosovsky, N.; Pieau, C. 1991. Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia-Reptilia*, 12: 169-179.

Rimblot, F.; Fretey, J.; Mrosovsky, N.; Lescure, J.; Pieau, C. 1985. Sexual differentiation as a function of the incubation temperature of eggs in the sea-turtle *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1976). *Amphibia-Reptilia*, 6: 83-92.

Santos, C. H.; Ferreira Júnior, P. D. 2009. Influência do local da desova na incubação de *Dermochelys coriacea* Vandelli, 1761 (Testudines: Dermochelyidae) na Reserva Biológica de Comboios, norte do estado do Espírito Santo, Brasil. *Biota Neotropica*, 9: 413-418.

Tiwari, M.; Bjorndal, K. A. 2000. Variation in morphology and reproduction in loggerheads, *Caretta caretta*, nesting in the United States, Brazil, and Greece. *Herpetologica*, 56: 343–356.

Thomé, J. C. A.; Baptistotte, C.; Moreira, L. M. P.; Scalfoni, J. T.; Almeida, A. P.; Rieth, D. B.; Barata, P. C. R. 2007. Nesting Biology and Conservation of the Leatherback Sea Turtle (*Dermochelys coriacea*) in the State of Espírito Santo, Brazil, 1988–1989 to 2003–2004. *Chelonian Conservation and Biology*, 6: 15-27.

Vargas, S. M.; Araújo, F. C. F.; Monteiro, D.; Estima, S. C.; Almeida, A. P.; Soares, L. S.; Santos, F. R. 2008. Genetic Diversity and Origin of Leatherback Turtles (*Dermochelys coriacea*) from the Brazilian Coast. *Journal of Heredity*, 99: 215–220.

Wang, H.C.; Cheng, I.J. 1999. Breeding biology of the green turtle *Chelonia mydas* (Reptilia: Cheloniidae), on Wan-An Island, PengHu archipelago. II. Nest site selection. *Marine Biology*, 133: 603-609.

Wibbels, T. 2003. Critical approaches to sex determination in sea turtles. In *Biology of Sea Turtles*, 2: 103-134.

CAPÍTULO 2

A norma de citação e a estrutura de formatação deste capítulo foram realizadas seguindo as normas da Revista Brasileira de Zoologia, disponível em: <<http://www.scielo.br/revistas/rbzool/pinstruc.htm>>.

**CONCENTRAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM OVOS E FILHOTES DE
Dermochelys coriacea VANDELLI, 1761 (TESTUDINES: DERMOCHELYIDAE)
NO NORTE DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

RESUMO

BORINI, Jordana Freire, M.Sc., Universidade Vila Velha - ES, setembro de 2012. **Concentração de elementos traço em *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) no norte do Espírito Santo, Brasil.** Orientador: Paulo Dias Ferreira Júnior. Co-orientador: Denise Coutinho Endringer.

O contato direto de tartarugas marinhas com poluentes pode provocar danos à saúde e aos seus processos metabólicos. Devido a isso, a concentração de elementos traço em tartarugas marinhas tem sido utilizada como indicativo de qualidade das águas dos oceanos, uma vez que as espécies se alimentam de organismos de diferentes níveis tróficos. A reprodução exerce papel importante na transferência de elementos traço essenciais e não essenciais, sendo possível estimar a concentração desses elementos na fêmea a partir de seus ovos, e vice versa. O objetivo deste trabalho é determinar a concentração de elementos traço em ovos e filhotes de *Dermochelys coriacea* correlacionando-a ao sucesso de eclosão. Foram coletadas amostras de ovos não eclodidos e filhotes natimortos de ninhos, na praia da REBIO de Comboios, para a realização das análises de elementos traço. Amostras de filhote e gema foram digeridas em mistura de ácido nítrico e sulfúrico, e as amostras de casca em mistura de ácido nítrico e clorídrico. A quantificação foi realizada em ICP-OES para Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr e Zn. Os filhotes apresentam maior concentração de Ba (0,22), Cu (0,28), Fe (1,86), Sr (1,25) e Zn (0,77) do que a casca e maiores concentrações de Sr e Zn que a gema. Na casca observou-se maior concentração de Ba (0,13), Cu (0,14) e Sr(0,60) do que a gema, mas para Zn esta relação se inverte, respectivamente, para casca e para gema. A presença de elementos traço não essencial nas concentrações avaliadas não afetou o desenvolvimento embrionário de *D. coriacea*, ao contrário, observou-se uma correlação positiva entre a concentração de Cu e o sucesso de eclosão ($p = 0,0418$). Concluiu-se que, embora haja detecção de alguns elementos traço, as concentrações não são altas o suficiente para afetar negativamente o sucesso de eclosão de *D. coriacea*.

Palavras chave: poluentes, contaminação, sucesso de eclosão, reprodução, tartaruga marinha.

ABSTRACT

BORINI, Jordana Freire, M.Sc., Universidade Vila Velha - ES, setembro de 2012.
Concentration of trace elements in *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) (Testudines: Dermochelyidae) in north of Espírito Santo, Brazil. Supervisor: Paulo Dias Ferreira Júnior. Co-supervisor: Denise Endringer.

Direct contact of sea turtles and pollutants may be harmful to health and their metabolic processes. Due to this, the concentration of trace elements in sea turtles has been used as an indicator of water quality of the oceans, since the species feeds on different trophic level organisms. Reproduction plays an important role in transferring essentials and nonessentials elements being possible to estimate the concentration of this trace elements in the female from her eggs, and vice versa. The objective is to determine the concentration of trace elements in eggs and hatchling of *Dermochelys coriacea* correlating it to hatching success. Samples were collected from unhatched eggs and stillborn babies in REBIO Comboios, for trace elements analyzes. Samples of hatchling, eggshell and yolk were read and digested in an ICP-OES with a multielement solution for Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr and Zn. The stillborn presented higher concentrations of Ba (0,22), Cu (0,28), Fe (1,86), Sr (1,25) and Zn (0,77) than eggshell and higher concentrations of Sr and Zn than yolk. The eggshell showed higher concentrations of Ba (0,13), Cu (0,14) and Sr(0,60) than yolk, but for Zn this relationship is reversed. The concentrations of trace elements were not enough to affect the embryonic development of *D. coriacea*, instead, there is a positive correlation between the Cu concentration and hatching success ($p = 0,0418$). Comparing our results with other authors, we note that in one population and in different populations are the concentration of trace elements may be very variable, which may reflect variation in life history of each individual.

Keywords: concentration, trophic level, reproduction, sea turtle.

INTRODUÇÃO

A exposição a poluentes orgânicos e inorgânicos pode provocar efeitos adversos nas tartarugas marinhas como a queda da imunidade e alterações de processos metabólicos (Storelli & Marcotrigiano, 2000; Keller *et al.*, 2006). A concentração de contaminantes tóxicos em tartarugas marinhas vem sendo utilizada como um indicativo de qualidade das águas dos oceanos (Guirlet *et al.*, 2008), uma vez que as espécies se alimentam de organismos de diferentes níveis tróficos (Anan *et al.*, 2002): *Caretta caretta*, de moluscos e crustáceos (Bjordnal, 1997; Godley *et al.*, 1997); *Chelonia mydas*, de algas marinhas (Santos *et al.*, 2011); *Dermochelys coriácea*, de zooplâncton gelatinoso (Morreale *et al.*, 1996; Estrades *et al.*, 2007; Witt *et al.*, 2007); *Eretimochely imbricata*, de poríferos (León & Bjordnal, 2002); *Lepdochelys olivacea*, de algas marinhas, peixes e moluscos (Bjordnal, 1997).

A dinâmica das correntes oceânicas e dos organismos pode, entretanto, obscurecer parcialmente algumas informações sobre a contaminação da cadeia alimentar. Por exemplo, Nicholson & Osborn (1983) observaram níveis elevados de mercúrio e cádmio em espécies de aves marinhas pelágicas, superiores aos níveis encontrados em aves marinha costeiras. Devido ao fato de ambientes costeiros serem mais susceptíveis à poluição por estes metais que os ambientes pelágicos, os autores supõem que os níveis encontrados no ambiente pelágico sejam naturais. Contudo, o transporte atmosférico dos metais e a absorção por organismos marinhos podem levar a um aumento na sua concentração em ecossistemas pelágicos (Barbieri *et al.*, 2007).

A reprodução exerce papel importante na transferência de elementos essenciais como cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e não essenciais como bário (Ba), cádmio (Cd), cobalto (Co), chumbo (Pb), estrôncio (Sr) e níquel (Ni) via transferência materna, como no caso de ovos de tartaruga (Guirlet *et al.*, 2008). Quando existe baixa flutuação entre os níveis de metal nos tecidos de uma fêmea e seus ovos, é possível estimar a concentração de metais na fêmea a partir de seus ovos, e vice-versa (Sakai *et al.*, 1995).

O presente trabalho foi desenvolvido sob a hipótese de que uma elevada concentração de elementos traço afetará negativamente o desenvolvimento embrionário de *D. coriácea*. O objetivo do trabalho é determinar a concentração de elementos traço em ovos e filhotes de *D. coriácea*, relacionando-a ao sucesso de eclosão.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Reserva Biológica de Comboios (19° 40' 19" S - 39° 52' 56" W) situada nos municípios de Aracruz e Linhares, no Estado do Espírito Santo. A região é caracterizada por terras quentes, planas e de transição chuvosa a seca (ENCAPA/NEPUT, 1999). A Reserva possui 37 km de praia e é utilizada como área de desova para *Caretta caretta* e *D. coriacea* (Baptistotte *et al.*, 1999; Thome *et al.*, 2007). Dados referentes ao número de ninhos, localização, data da desova, duração de incubação, data e sucesso de eclosão foram coletados em conjunto com técnicos do Projeto TAMAR/ICMBio na temporada reprodutiva 2011/2012.

No momento da abertura dos ninhos, realizada pelo Projeto TAMAR/ICMBio para a checagem do sucesso de eclosão, foi coletada amostra de ovos não eclodidos e filhotes natimortos para a realização das análises de elementos traço. A casca dos ovos foi triturada e a gema de cada ovo homogeneizada, ambos separadamente. Para a homogeneização, cada filhote natimorto foi triturado com um volume de água ultrapura tipo 1 equivalente ao seu peso. A amostra de 1 g filhote e da gema dos ovos foram digeridas em um volume total de 10 mL de ácido nítrico (HNO₃) a 5 mol/L e 10 mL ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 5 mol/L. As amostras de casca de ovo foram digeridas num volume de 15 mL de ácido clorídrico (HCl) a 10 mol/L e 5 mL de HNO₃ a 5 mol/L. A digestão foi catalisada por digestor (Marconi Mod. MA 851) a 250 °C por, aproximadamente, uma hora até a solução ficar translúcida. Após a digestão, as amostras foram transferidas para balão volumétrico de 25 mL, tendo o volume ajustado com água ultrapura tipo 1. A solução padrão multielementar para Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr e Zn foi preparada nas concentrações 0,001 – 1,0 µg/mL. A quantificação foi realizada em ICP-OES (Espectroscopia e emissão óptica por plasma indutivamente acoplado). Os limites de detecção (µg/mL) para cada elemento foi de: Ba = 0,028712, Cd = 0,029177, Cr = 0,025502, Cu = 0,025275, Fe = 0,024044, Mn = 0,023928, Ni = 0,025914, Pb = 0,025173, Sr = 0,029573 e Zn = 0,02495.

A curva analítica para cada metal foi obtida em triplicata e foi submetida à regressão, em nível de confiança de 95%. Os dados de concentração de metais, em cada classe (gema, filhote e casca) foram expressos como mediana da média (DPM) e com a faixa com os valores mínimo e máximo. A distribuição normal foi estimada pelo teste de Shapiro-Wilk. Teste de Kruskal-Wallis-ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Dunn foram aplicados para comparar os teores de metais nas três

classes de amostras (gema, filhote e casca). Análises estatísticas foram realizadas utilizando o software livre Tanagra e a GraphPrism software ® (Prism 5 para Windows, versão 5.00, de 2007). Para a seleção de parâmetros de separação/diferenciação e análise de componentes principais (PCA), todos os dados de concentrações de metal foram organizados sob a forma de matrizes X ($I \times J$) contendo as linhas (amostras) e as colunas J (variáveis), em que cada repetição foi considerada uma amostra. As variáveis J neste caso foram os metais (concentração $\mu\text{g/g}$) obtido por ICP-OES. Para o processamento de dados, foi utilizado o software Matlab 6.5 (The MathWorks, Inc., Natick, MA, EUA) e pacote computacional PLS_Toolbox (Pesquisa Eigenvector, Inc. -. PLS_Toolbox versão 3.02).

RESULTADOS

Foram monitorados 15 ninhos de *D. coriacea* na REBIO de Comboios. Dos nove elementos analisados no ICP-OES, apenas seis (Ba, Cu, Fe, Mn, Sr e Zn) apresentaram concentrações acima do limite de detecção em amostras suficientes para permitirem comparações e correlações (Tabela 1). Cd, Cr e Pb foram desconsiderados por apresentarem concentrações abaixo do limite de detecção nas amostras analisadas. Os resultados completos das concentrações de elementos traço encontram-se no Anexo 1. Não se observou diferença ($p < 0,05$) na concentração de nenhum elemento traço entre gema e casca do ovo, e gema e filhote. Os filhotes apresentam maior concentração de Ba, Cu, Fe, Sr e Zn do que a casca e maiores concentrações de Sr e Zn do que a gema. A casca possui maior concentração de Ba, Cu e Sr do que a gema, mas para Zn esta relação se inverte (Figura 1).

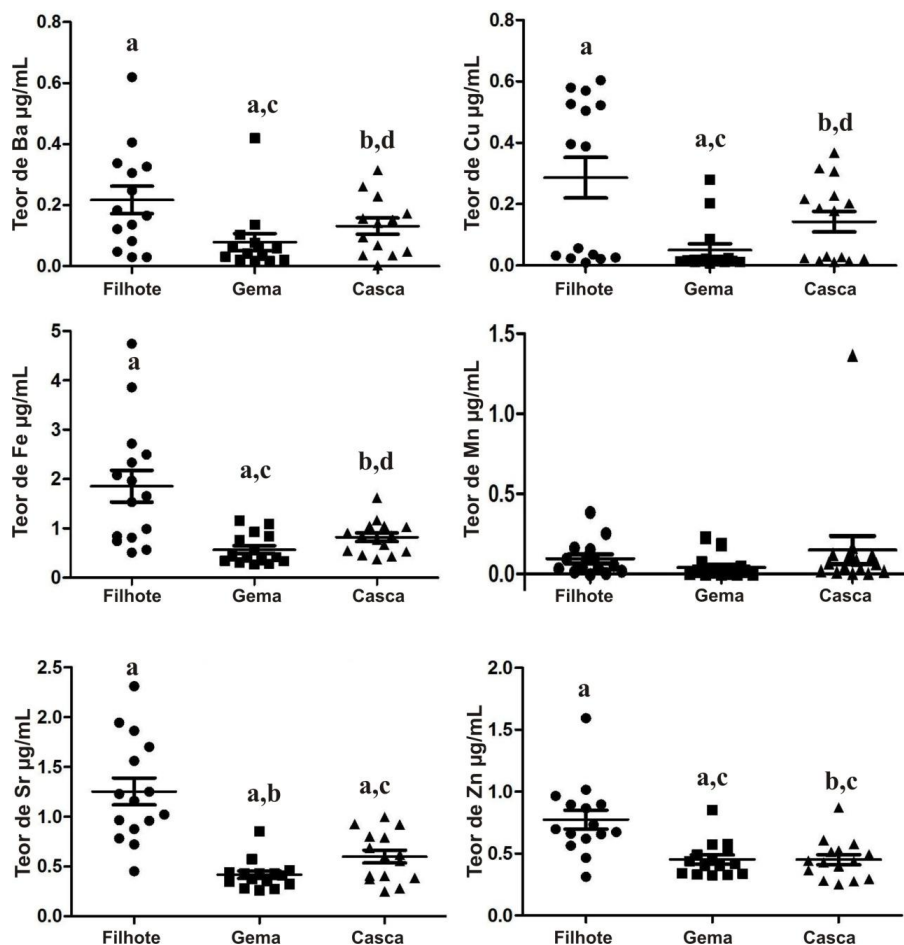


Figura 1. Concentração de elementos traço em filhotes, gema e casca de ovo de *D. coriacea*.

Tabela 1. Concentração média de elementos traço em ovos não eclodidos e filhotes natimortos (Média \pm DP), valor máximo e mínimo de concentração (Intervalo), análise estatística Kruskal-Wallis (U) e significância (p) de *Dermochelys coriacea* da REBIO de Comboios. Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferenças estatísticas.

Elemento	Filhote		Gema		Casca		Estatística teste	
	Média \pm DP	Intervalo	Média \pm DP	Intervalo	Média \pm DP	Intervalo	U	p
Essencial								
Cu	0,29 \pm 0,25 ^a	0,01-0,6	0,05 \pm 0,08 ^{ac}	0,007-0,28	0,14 \pm 0,13 ^{bd}	0,012-0,37	12,8	0,0017
Fe	1,86 \pm 1,23 ^a	0,51-4,75	0,57 \pm 0,3 ^{ac}	0,27-1,15	0,82 \pm 0,34 ^{bd}	0,38-1,62	15,93	0,0003
Mn	0,09 \pm 0,1	0,004-0,38	0,04 \pm 0,07	0-0,22	0,15 \pm 0,34	0,003-1,36	5,185	0,0748
Zn	0,77 \pm 0,30 ^a	0,31-1,6	33,21 \pm 127 ^{ab}	0,32-492	0,45 \pm 0,16 ^{bc}	0,21-0,87	16,56	0,0003
Não essencial								
Ba	0,21 \pm 0,17 ^a	0,003-0,42	0,08 \pm 0,10 ^{ac}	0,018-0,42	0,13 \pm 0,09 ^{bd}	0,003-0,315	8,27	0,0159
Sr	1,25 \pm 0,52 ^a	0,45-2,31	0,42 \pm 0,14 ^{ab}	0,26-0,85	0,60 \pm 0,25 ^{ac}	0,25-1	24,57	< 0,0001

Os dados de concentração dos elementos traço analisados neste estudo (Ba, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sr e Zn) presentes nas amostras de casca, gema e filhote foram submetidos à análise de seleção de características (*feature selection*) que pudessem ser empregadas na diferenciação entre as classes ou que pudessem ser empregadas na predição de sucesso de eclosão. Entretanto, como apresentado na figura 2, somente três metais, Fe, Sr e Cu, poderiam ser empregados na construção de um modelo matemático para predição e para a execução de análise de componentes principais (PCA). Os metais indicados na figura 3 foram selecionados para a análise de regressão, visando correlacionar sucesso de eclosão e teor de metais pesados.

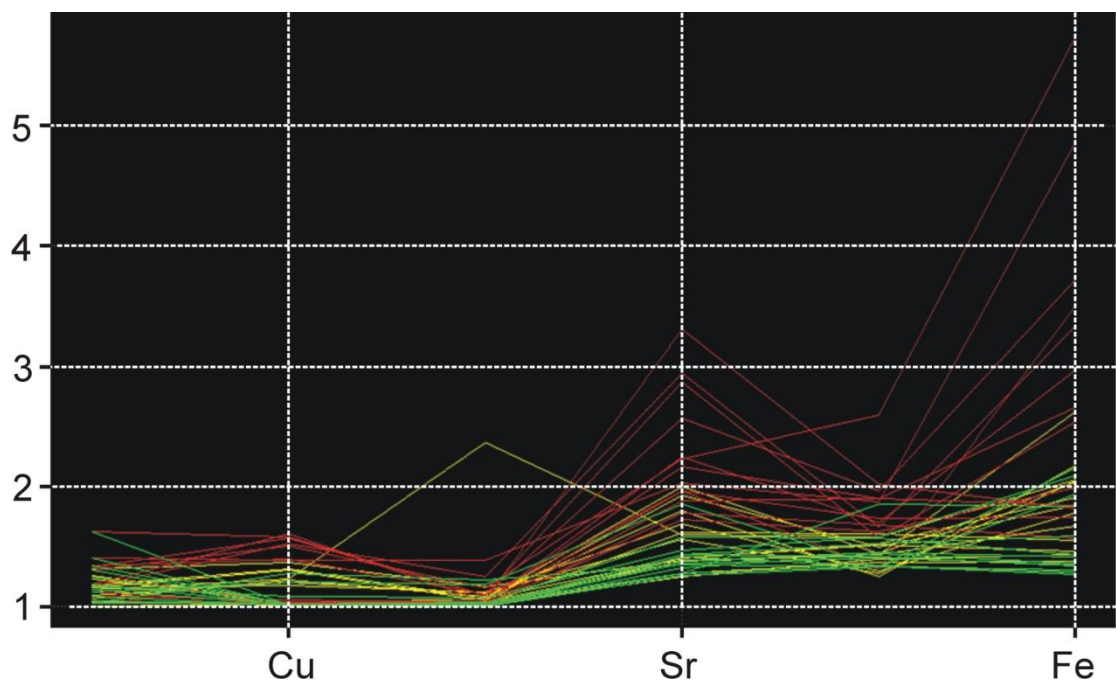


Figura 2. Resultado da análise de seleção de parâmetros (*feature selection*) para predição de sucesso de eclosão ou para diferenciação entre os grupos (gema: amarelo, filhote: vermelho, casca: verde).

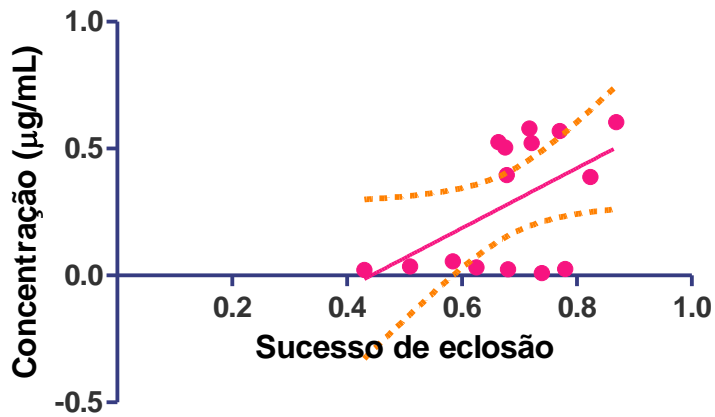


Figura 3. Relação entre o sucesso de eclosão e concentração de Cu em filhotes de *D. coriacea*.

A correlação entre a concentração de elementos traço e o sucesso de eclosão dos ninhos de *D. coriacea* não foi observada ($r^2 < 0.02$), exceto para Cu que apresentou um pequeno efeito deste metal no desenvolvimento embrionário ($r^2 = 0,28$; $p = 0,0418$) (Figura 3).

DISCUSSÃO

Pela primeira vez no Oceano Atlântico Sul um estudo relata concentrações de elementos traço de ovos e filhotes de *Dermochelys coriacea*. Durante a reprodução as fêmeas transferem para os ovos uma carga maior de elementos essenciais que elementos tóxicos, principalmente aqueles nutrientes importantes para o desenvolvimento embrionário (Guirlet *et al.*, 2008). Roe *et al.* (2011) avaliaram em Playa Grande, na costa do Pacífico da Costa Rica, a concentração de elementos traço em ovos e filhotes de *D. coriacea* relacionando-a à remigração e ao tamanho da fêmea. Foram detectados Cu, Cd, Fe, Mn, Ni e Zn, sendo que Cu, Cd, Fe, Ni foram encontrados em concentrações maiores do que já registrados para ovos de outras espécies de tartaruga em outros locais. Entretanto, não foi possível correlacionar as concentrações de elementos traço com a variação do sucesso de eclosão (Roe *et al.*, 2011). No presente estudo, conduzido na REBIO de Comboios, resultado semelhante foi observado por Roe *et al.* (2011) que também não detectaram variações nas concentrações de elementos traço entre desovas de uma mesma fêmea, o que foi atribuído ao curto intervalo de tempo para assimilação de novas concentrações, ou não foram capazes de correlacionar as variações dos elementos traço ao tamanho dos indivíduos, provavelmente pela padronização da fase adulta a um determinado comprimento curvilíneo do casco sem considerar uma dinâmica na alimentação de cada população, onde há flutuação na disponibilidade de presas. Na Guiana Francesa, Guirlet *et al.* (2008) analisaram elementos traço em ovos e sangue de fêmeas de *D. coriacea* e não encontraram a transferência de Hg, Pb, Cu e Zn para os ovos. Já para Se e Cd as concentrações foram positivamente correlacionadas com as amostras de sangue correspondentes, indicando uma via transversal de acumulação.

Sakai *et al.* (1995) analisando ovos de *Caretta caretta*, no Japão, encontraram maiores concentrações de Fe, Mn, Zn, Cd e Hg na gema do que na casca. O presente estudo observou resultado semelhante e as concentrações de Fe foram menores na casca em comparação com filhotes e gema, que apresentaram concentrações equivalentes, mas diferenciaram para o Zn. Sakai *et al.* (1995) afirmam que a gema é o componente mais importante para as análises de concentração de elementos traço em ovos de tartarugas marinhas. No presente estudo, observou-se que as concentrações na gema são equivalentes as concentrações detectadas em filhotes, mas a casca apresenta concentração abaixo

destas (Figura 1). Estas diferenças ao longo dos tecidos, espécie, populações e indivíduos mostram as dificuldades nos trabalhos que envolvem o estudo de elementos que apresentam baixos níveis e diferentes vias metabólicas. Maffucci *et al.* (2005) estudaram concentrações de elementos traço em *C. caretta* no mar Mediterrâneo, sul da Itália, local com altas concentrações de Hg (Capelli *et al.*, 2000) e as análises apontaram baixas concentrações de Hg sugerindo que a espécie alimenta-se de presas de baixo nível trófico. O mesmo ocorre para *D. coriacea* que, se alimentando de zooplâncton gelatinoso, tende a não bioacumular quantidades significativas de elementos traço (Morreale *et al.*, 1996; Estrades *et al.*, 2007; Witt *et al.*, 2007; Guirlet *et al.*, 2008). No Brasil, Barbieri (2009) encontrou diferenças em tecidos de *C. mydas* juvenis e adultas quanto à concentração de elementos traço, e a média de Cd e Ni em juvenis foi significativamente mais baixa em relação aos adultos, indicando bioacumulação ao longo do tempo (Barbieri *et al.*, 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho é possível observar que dentro de uma mesma população e em diferentes populações existem variações de concentração de elementos traço. Considerando a alimentação como porta de entrada destes elementos, entende-se que os sítios de alimentação são geograficamente distintos e em locais com diferentes concentrações de elementos traço. Desta forma, não podemos afirmar, ainda, que as tartarugas sejam uma boa sentinela para indicação da saúde dos oceanos, levando em consideração que a maioria das espécies tem uma distribuição geográfica ampla e grande deslocamento, não se sabe ao certo seus sítios de alimentação e, conseqüentemente, não se pode afirmar em que local se deu essa contaminação. Estudos como este, em diferentes pontos da ocorrência da espécie, devem ser realizados para uma melhor avaliação do estado de conservação afetado por elementos traço.

As concentrações dos elementos traço em filhotes e ovo de *D. coriacea* na REBIO de Comboios apresentam uma elevada variação, mas os resultados são compatíveis com os estudos realizados com outras populações e outras espécies. Os valores encontrados são menores que aqueles relatados para espécimes oriundas do Oceano Pacífico e, aparentemente, não afetam a reprodução da espécie.

REFERÊNCIAS

- Anan, Y.; Kunito, T.; Sakai, H.; Tanabe, S. 2002. Subcellular distribution of trace elements in the liver of sea turtle. *Marine Pollution Bulletin*, 45 : 224-229.
- Barbieri, E. 2009. Concentration of heavy metals in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) sampled in the Cananéia estuary, Brazil. *Note Brazilian Journal of Oceanography*, 57 (3) : 243-248.
- Barbieri, E.; Garcia, C. A. B.; Passos, E. A.; Aragão, K. A. S.; Alves, J. P. A. 2007. Heavy metal concentration in tissues of *Puffinus gravis* sampled on the Brazilian coast. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 15 (1) : 69-72.
- Bjorndal, K. A. 1997. Foraging ecology and nutrition of sea turtles. In: Lutz, P.L. & Musick, J.A. (eds). *The biology of sea turtles*. Ranton, Fla.: CRC Press. 199–231.
- Capelli, R. A.; Drava, G. A.; De Pellegrini, R.A.; Minganti, V.A.; Poggi, R. B. 2000. Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) found dead along the Ligurian coasts (Italy). *Adv. Environ. Res.*, 4 : 31–42.
- ENCAPA/NEPUT. 1999. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – INCAPER. <<http://hidrometeorologia.incaper.es.gov.br/>>. Acesso em: 20 de set. 2012.
- Estrades, A.; López Mendilaharsu, M.; Fallabrino, A. 2007. *Dermochelys coriacea* diet. *Herpetological Review*, 38 (3) : 330.
- Godley, B. J.; Smith, S. M.; Clark, P. F.; Taylor, J. D. 1997. Molluscan and crustacean hems in the diet of the loggerhead turtle, *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) [Testudines: Cheloniidae] in the eastern Mediterranean. *Journal of Molluscan Studies*, 63 : 474-476.

Guirlet, E.; Das, K.; Girondot, M. 2008. Maternal transfer of trace elements in leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) of French Guiana. *Aquatic Toxicology*, 88: 267–276.

Keller, M. J.; McClellan-Green, P. D.; Kucklick, J. R.; Keil, D. E.; Peden-Adams, M. M.. 2006. Effects of Organochlorine Contaminants on Loggerhead Sea Turtle Immunity: Comparison of a Correlative Field Study and In Vitro Exposure Experiments. *Environmental Health Perspectives*, 114 (1).

León, Y. M.; Bjorndal, K. A. 2002. Selective feeding in the hawksbill turtle, an important predator in coral reef ecosystems. *Marine Ecology Progress Series*, 245 : 249–258.

Maffucci, F.; Caurant, F.; Bustamante, P.; Bentivegna, F. 2005. Trace element (Cd, Cu, Hg, Se, Zn) accumulation and tissue distribution in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the Western Mediterranean Sea (southern Italy). *Chemosphere*, 58 : 535–542.

Morreale, S. J.; Standora, E. A.; Spotila, J. R.; Paladino, F. V. 1996. Migration corridor for sea turtles. *Nature*, 384 : 319–320.

Nicholson, J. K.; Osborn, D. 1983. Kidney lesions in pelagic seabirds with high tissue levels of cadmium and mercury. *Journal of Zoology (London)*, 200 : 99-118.

Roe, J. H.; Nathan, S. S.; Columbia, M. R.; Paladino, F.V. 2011. Trace Metals in Eggs and Hatchlings of Pacific Leatherback Turtles (*Dermochelys coriacea*) Nesting at Playa Grande, Costa Rica. *Chelonian Conservation and Biology*, 10 (1).

Sakai, H.; Hichihashi, H.; Sukanuma, H.; Tatsukawa, R. 1995. Heavy metal monitoring in sea turtles using eggs. *Marine Pollution Bulletin*, 30 (5) : 347–353.

Santos, R. G.; Martins, A. S.; Farias, J. N.; Horta, P. A.; Pinheiro, H. T.; Torezani, E.; Baptistotte, C.; Seminoff, J. A.; Balazs, G. H.; Work, T. M. 2011. Coastal habitat degradation and green sea turtle diets in Southeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 62 (6) : 1297-1302.

Storelli, M. M.; Marcotrigiano, G. O. 2000. Total organic and inorganic arsenic from marine turtles *Caretta caretta* beached along the Italian Coast (South Adriatic Sea). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 65 : 732–739,

Witt, M. J.; Broderick, A. C.; Johns, D. J.; Martin, C.; Penrose, R.; Hoogmoed, M. S.; Godley, B. J. 2007. Prey landscapes help identify potential foraging habitats for leatherback turtles in the NE Atlantic. *Marine Ecology Progress*, 337 : 231–244.

ANEXO I

Amostras	Ba	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Sr	Zn	Fe
1 C	0,152	0,001	0	0,179	0,120	-0,004	-0,001	0,693	0,297	0,783
1 G	0,062	-0,004	-0,008	0,015	0,005	-0,007	0,018	0,325	0,444	0,356
1 F	0,028	-0,010	-0,006	0,034	0,091	-0,013	-0,002	0,865	0,900	0,829
2 C	0,312	0,000	0,016	0,367	0,170	0,001	-0,016	0,386	0,438	0,672
2 G	0,022	-0,002	-0,008	0,023	0,025	-0,007	-0,005	0,572	0,576	0,436
2 F	0,048	-0,006	-0,008	0,026	0,042	-0,013	-0,009	1,166	0,895	1,649
3 C	-0,010	0,001	0,011	0,188	0,120	-0,003	0,091	0,682	0,169	0,871
3 G	0,040	-0,003	-0,003	0,010	0,001	-0,006	0,027	0,279	0,339	0,267
3 F	0,274	-0,008	-0,006	0,024	0,054	-0,012	0,014	2,323	1,019	0,815
4 C	0,141	0,001	0,007	0,228	1,351	0,005	0,005	0,599	0,582	1,053

4 G	0,076	-0,003	-0,004	0,019	0,023	-0,008	0,008	0,355	0,399	0,346
4 F	0,134	-0,008	-0,016	0,022	0,018	-0,014	0,024	0,727	0,621	0,993
5 C	0,158	0,006	0,002	0,275	0,097	0,001	0,091	0,997	0,494	1,417
5 G	0,005	-0,002	-0,006	0,015	0,015	-0,006	0,003	0,369	0,392	0,324
5 F	0,125	-0,005	-0,008	0,188	0,069	0,005	0,001	1,135	1,377	3,402
6 C	0,003	-0,002	0,042	0,179	0,058	-0,006	0,004	0,281	0,327	0,590
6 G	0,035	-0,003	-0,006	0,012	0,006	-0,005	0,005	0,428	0,423	0,622
6 F	0,025	-0,007	0,036	0,191	0,075	0,003	-0,021	1,415	0,577	8,148
7 C	0,149	0,003	0,004	0,138	0,140	-0,001	0,006	0,373	0,434	1,696

7 G	0,031	-0,004	-0,002	0,019	0,002	-0,004	0,004	0,539	0,511	0,366
7 F	0,209	-0,005	0	0,145	0,128	-0,007	0,005	0,955	0,808	2,755
8 C	0,162	-0,002	0,010	0,198	0,032	-0,001	0,007	0,792	0,736	0,808
8 G	0,064	-0,003	-0,004	0,020	0,007	-0,006	0,015	0,386	164,297	0,400
8 F	0,326	-0,005	0,007	0,223	0,053	-0,003	0,005	1,327	0,962	2,095
9 C	0,100	0	0,017	0,254	0,189	0,003	0,003	0,556	0,290	1,005
9 G	0,312	0,027	-0,001	0,113	0,110	-0,002	0,119	0,355	0,349	0,888
9 F	0,043	-0,009	-0,016	0,023	0,031	-0,011	-0,013	0,531	0,693	0,587
10 C	0,108	-0,002	0,025	0,139	0,127	-0,004	0,006	0,249	0,372	0,662
10 G	0,086	-0,001	0,010	0,080	0,065	-0,003	-0,002	0,680	0,368	0,929

10 F	0,161	-0,009	-0,006	0,043	0,030	-0,010	0,025	1,081	0,739	1,020
11 C	0,057	-0,003	0,019	0,149	0,063	-0,001	-0,012	0,618	0,487	0,765
11 G	0,152	0,028	0	0,034	0,023	-0,002	0,522	0,395	0,494	0,515
11 F	0,109	-0,001	0,038	0,213	0,105	-0,006	-0,003	1,615	0,681	1,819
12 C	0,068	-0,003	0,008	0,084	0,044	0,003	-0,019	0,668	0,331	0,958
12 G	0,111	-0,001	-0,001	0,210	0,030	-0,007	0,011	0,262	0,388	0,483
12 F	0,110	-0,002	-0,008	0,048	0,028	-0,013	0,031	0,960	0,770	0,773
13 C	0,266	0,001	0,035	0,258	0,231	-0,001	-0,006	0,925	0,486	1,307
13 G	0,195	0,001	0	0,024	0,015	-0,003	0,030	0,320	0,739	0,712
13 F	0,102	0,039	0,009	0,248	0,075	-0,006	0,005	1,027	0,758	1,967

14 C	0,114	-0,004	0,011	0,182	0,049	-0,006	-0,011	0,407	0,448	0,712
14 G	0,161	0,023	-0,001	0,024	0,042	-0,005	0,109	0,385	0,473	0,578
14 F	0,237	0,006	-0,001	0,208	0,059	0,001	0,050	0,891	0,517	2,032
15 C	0,170	0,013	0,013	0,227	0,135	0,001	0,219	0,408	0,466	0,955
15 G	0,028	-0,002	-0,002	0,013	0,003	-0,006	0,008	0,407	0,526	0,510
15 F	0,171	-0,002	0,009	0,174	0,036	-0,006	0,046	1,697	0,734	1,346
