

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO - UENF

MARIAH BIANCHI REIS GUSMÃO PETRONILHA

**OSTEOCROLOGIA EM TARTARUGAS-VERDES - *Chelonia mydas*
(LINNAEUS, 1758) ENCALHADAS NO LITORAL DO ESTADO DO RIO DE
JANEIRO, BRASIL**

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

MARÇO 2019

MARIAH BIANCHI REIS GUSMÃO PETRONILHA

**OSTEOCRONOLOGIA EM TARTARUGAS-VERDES - *Chelonia mydas*
(LINNAEUS, 1758) ENCALHADAS NO LITORAL DO ESTADO DO RIO DE
JANEIRO, BRASIL**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal”

Orientador: Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

MARÇO 2019

MARIAH BIANCHI REIS GUSMÃO PETRONILHA

**OSTEOCROLOGIA EM TARTARUGAS-VERDES - *Chelonia mydas*
(LINNAEUS, 1758) ENCALHADAS NO LITORAL DO ESTADO DO RIO DE
JANEIRO, BRASIL**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal”

Orientador: Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho

PROF. EDUARDO SHIMODA (Ph.D.) – UCAM

PROF. LEONARDO SERAFIM DA SILVEIRA (Ph.D) – UENF

PROF. EULÓGIO CARLOS QUEIRÓZ DE CARVALHO (PhD) – UENF

HASSAN JERDY LEANDRO (Ph.D)

Dedico esse trabalho à minha mãe (*in memoriam*), minha filha, meu esposo, minha família, meus amigos e ao meu orientador Eulógio por todos os incentivos e orientações na vida pessoal e profissional.

AGRADECIMENTO

Primeiramente a Deus, pois é o responsável por eu estar aqui realizando meus sonhos. Ele me capacitou, deu-me força, se não fosse pela fé eu não conseguiria. Deus é a base de toda conquista e cada sucesso que consegui conquistar e ainda conquistarei;

Agradeço ao meu esposo Giovanni, que nos altos e baixos desses anos esteve ao meu lado e que em nenhum momento fraquejou e me deixou fraquejar. Ele fez dos meus problemas os seus problemas. Cada batalha, cada lágrima, cada alegria e conquista, estávamos lá, juntos, vivendo e sobrevivendo. A ele devo e agradeço pelo amor, apoio incondicional durante esses anos que estamos juntos e pela família linda que construímos;

Agradeço à minha filha Maria, minha princesa, ela ainda é pequena e não sabe o tamanho que representa para mim. Meu presente de Deus, minha dose diária de amor. Por ela e meu esposo que tenho força para levantar e seguir para uma nova batalha;

O agradecimento mais fácil e difícil faço com lágrimas nos olhos à minha mãe (*in memoriam*), minha estrelinha mais brilhante, iniciou esse sonho comigo, mas infelizmente não está mais aqui para contemplar dessa felicidade. A ela eu devo tudo que tenho. Por muitas vezes esteve ao meu lado, me mostrando que devemos ser pessoas de bem, queridas e que transborda amor. Vivemos inúmeros momentos bons, mas também inúmeras dificuldades e que mesmo assim, como ela me ensinou, rimos e fomos felizes. Minha mãe será sempre a minha heroína, minha rainha, representação do amor mais perfeito que perdi cedo demais;

Agradeço à minha irmã Tainah por me mostrar a força de uma guerreira, de lutar além da fé, de viver o agora da forma mais plena e de como os momentos juntos das pessoas que amamos são preciosos. Minha irmã me ensinou a ser mãe, pois quando nasceu, já era maiorzinha e entendia que meu primeiro bebê estava a caminho e quando nossa mãe se foi ela se tornou minha responsabilidade;

Agradeço aos meus irmãos de alma, Maria Cecília, Stephane, Marina, Gabriel, que porventura nasceram em ventres separados. Criamos relação de irmãos, um amor fraterno que perpetua por anos e que nos altos e baixos da vida sempre estará lá, naquele local tão sagrado pra gente;

Agradeço ao meu pai, Eduardo por ser meu grande amigo, companheiro, meu paizão, que mesmo que em alguns momentos da vida não estávamos juntos, não faltou nos momentos principais e me deu uma mãedrastra maravilhosa que é Renata e irmãs lindas;

Agradeço à minha mãezinha Lucia, minha tia amada, esteve ao meu lado sempre, com muito amor de mãe;

Agradeço à minha sogra e minha cunhada, dois anjinhos em minha vida;

Agradeço o apoio extremo da minha amiga Maclaudia, que esteve em muitas tempestades comigo e com amor olha minha filha nos momentos que não estou presente;

À minha grande amiga Rachel, pessoa com a qual eu posso contar, não somente para situações de trabalhos, mas também para vida. Fez meus dias tristes melhores. Como eu contei com ela!!! Foi minha sustentação, quem esteve ao meu lado, riu e chorou comigo, sem contar que fez sua função de geminiana muito bem, me dizendo a melhor direção a seguir.

Agradeço também à Juliana, amiga querida que esteve sempre ao meu lado, disposta a ajudar em todos os momentos. À amiga Verônica, que em pouco tempo construímos laços bem fortes. À amiga Mariana, parceira de todos os momentos.

A grandes outros amigos, como Hassan, que me proporcionou grandes alegrias, ensinamentos e sou muito grata pela nossa amizade;

Ao meu orientador Eulógio, que só encontro a palavra PAI para definir a sua importância para a nossa família LMPA. Ele é a pessoa maravilhosa que Deus coloca na sua vida para te encorajar a seguir em frente, meu maior exemplo;

Ao Professor Leonardo, por me estender a mão e me acolher quando precisei e ao Professor Eduardo Shimoda, por ter sido tão esclarecedor na realização da estatística;

À empresa CTA – Meio ambiente por disponibilizar o material alvo deste estudo;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, por ceder todos os conhecimentos e estrutura para realização do trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico, pelo suporte financeiro;

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

A técnica de esqueletocronologia oferece o potencial para uma rápida e ampla caracterização de parâmetros de idade e crescimento de uma população a partir da análise de linhas cíclicas de crescimento, presentes em tecidos rígidos e vem sendo bem utilizada em determinação de idade de tartaruga marinha. Ainda não há relatos na região do Rio de Janeiro e pouco se sabe sobre as etapas de vida das tartarugas marinhas. Deste modo, o presente trabalho tem como o principal objetivo obter a estimativa de idade para a população de *Chelonia mydas* (tartaruga-verde), avaliar a técnica histológica e verificar a correlação do crescimento cíclicos dos ossos com as biometrias e avaliar a existência de correlação entre elas. As tartarugas-verdes são oriundas de encalhes nas praias de Paraty a Saquarema, RJ, no período de 2016 a 2017, com a realização de necropsia e armazenamento dos ossos pela empresa de Meio Ambiente CTA. As idades foram acessadas a partir da técnica de osteocronologia realizadas em 41 úmeros, com a qual foi possível constatar que os indivíduos apresentavam idade variando de 1 a 6 anos de vida, com comprimento curvilíneo de carapaça entre 31,2 a 60,5 cm. Foi possível, também, constatar a correlação positiva entre as linhas de crescimento ósseo e comprimento curvilíneo de carapaça. Na região estudada, a espécie parece recrutar para o ambiente nerítico com cerca de 31 a 40 cm de carapaça, que envolve um desenvolvimento inicial em zona pelágica de até 30 cm. Nos exemplares encontrados no litoral do Rio de Janeiro foi verificada apenas a ocorrência de exemplares de juvenis que estão iniciando o período de desenvolvimento costeiro e permanecem na região até atingir aproximadamente 60,5 cm de comprimento curvilíneo de carapaça. A técnica de osteocronologia se apresentou eficaz, no entanto, foram feitas adaptações. Este estudo é o primeiro registro da presença de linhas de crescimento ósseo, estimativa de idade e comportamento biológico para uma amostra populacional de *Chelonias mydas* na região do Rio de Janeiro.

Palavras-Chave: Osteocronologia, *Chelonia mydas*, osso, idade.

ABSTRACT

The skeletochronology technique offers the potential for a rapid and broad characterization of age and population growth parameters from the analysis of cyclic growth lines present in rigid tissues and has been well used in marine turtle age determination. There is still no report in the region of Rio de Janeiro and little is known about the life stages of sea turtles. The aim of the present study was to obtain the age estimate for the population of *Chelonia mydas* (green turtle), to evaluate the histological technique and to verify the correlation of the cyclic growth of the bones with the biometrics and to evaluate the existence of correlation between them. The green turtles come from stranded in the pariahs of Paraty to Saquarema, RJ, from 2016 to 2017, with the accomplishment of necropsy and storage of the bones by the company of Environment CTA. The ages were accessed using the osteochronology technique performed in 41 humerus, where it was possible to verify that the individuals presented age ranging from 1 to 6 years of life, with curvilinear carapace length between 31.2 and 60.5 cm, mean of (41.5). It was possible to verify the positive correlation between the lines of bone growth and curvilinear carapace length. In the studied region the species seems to recruit to the neritic environment with about 31 to 40 cm of carapace, and that involves an initial development in pelagic zone of up to 30 cm. The specimens found on the coast of Rio de Janeiro were only verified the occurrence of juvenile specimens that are beginning the period of coastal development and remain in the region until reaching approximately 60.5 cm of carapace. The osteochronology technique was effective, however adaptations were made. This study is the first record of the presence of lines of bone growth, age estimation and biological behavior for the population of *Chelonia mydas* in the region of Rio de Janeiro.

Keywords: osteochronology, *Chelonia mydas*, Bone, age

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Classificação taxonômica das tartarugas marinhas (PROJETO TAMAR, 2018).....	15
Figura 2. Estrutura da cabeça, casco e plastrão da <i>Chelonia mydas</i> (WYNEKEN, 2001).....	17
Figura 3. Úmero direito inteiro: A visão dorsal; B visão ventral (ZUG et al., 1986).....	19
Figura 4. Seções transversais representativas do úmero. As fotografias mostram a superfície proximal de cada seção, com exceção da seção mais distal, que mostra a superfície distal. (ZUG et al., 1986)	20
Figura 5. Formação óssea de Chondro-osseus. Os canais vasculares são vistos nas extremidades articulares de úmeros de tartarugas de couro (WYNEKEN, 2001).....	20
Figura 6. Corte histológico do úmero de uma tartaruga <i>Caretta caretta</i> . Setas indicando a primeira linha de crescimento “annulus” (PETITET, 2010).....	26
Figura 7. Mapa com destacando a área de estudo, extensão de Saquarema, Latitude: 22° 52' 52”S e Longitude: 42° 29' 47” W à Paraty, Latitude: 23° 13' 04”S e Longitude: 44° 42' 47” W.....	27
Figura 8. Medidas realizadas em campo nos exemplares de <i>Chelonia mydas</i> encontradas no litoral do Rio de Janeiro. A comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) e B largura curvilínea máxima de carapaça (LCC) (WYNEKEN, 2001).....	28
Figura 9. Vista proximal (A), dorsal (B) e ventral (C) de úmero de Chelonidade (modificado de Zug et al., 1986) com a indicação das medidas tomadas (conforme descrito no 3.2), principais estruturas anatômicas e o local de retirada da secção para preparação histológica (a).....	29
Figura 10. Distribuição por classes de tamanhos das tartarugas-verdes encahadas no litoral do Rio de Janeiro, na praia de Paraty a Saquarema, no Período de 2016 à 2017.....	33

Figura 11. Fotomicrografia dos cortes transversais de úmero de *Chelonia mydas*/(HE). (A) visão geral do corte transversal do úmero do indivíduo de número (CO0020) demonstrando a presença de quatro linhas de crescimento ósseo (setas). (B) Corte transversal do úmero do indivíduo de número (CO0023) com indicação das regiões medular (M), cortical (C) e do perióstio (P). (C) Corte transversal do úmero do indivíduo de número (CO003) com quatro linhas de crescimento ósseo (seta). As linhas se exibiam bem nítidas (D) Corte transversal do úmero do indivíduo de número (CO0033). As linhas não se apresentavam nítidas.....

41

Figura 12: Distribuição de idade das tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) analisadas através de esqueletocronologia provenientes do litoral do Rio de Janeiro.....

44

Figura 13: Distribuição de idade e comprimento curvilíneo de carapaça das tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) analisadas através de esqueletocronologia provenientes do litoral do Rio de Janeiro.....

45

Figura 14: Correlação entre o número de linhas de crescimento no úmero e o comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) de *Chelonia mydas* no litoral fluminense do Rio de Janeiro.....

50

LISTA DE TABELA

Tabela 1. A relação entre as biometrias, (CCC), (LCC), (CT), e o número de linhas de crescimento dos indivíduos testados, com a utilização de coeficiente de correlação, com os resultados significativos.....	48
Tabela 2. Resultados obtidos a partir da equação de regressão linear e múltipla, com os valores reais e estimados a partir da equação linear múltipla, com grau de acerto de 85,7%.....	48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Objetivo	14
1.1.1. Objetivos Específicos.....	14
1.2. Justificativa	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Quelônios	15
2.1.1. <i>Chelonia mydas</i>	16
2.2. Anatomia do úmero	18
2.2.1 Histologia do tecido ósseo.....	21
2.3. Estudo de crescimento e determinação de idade	22
2.3.1. Crescimento e determinação de idade em tartarugas marinhas.	23
2.3.2. Crescimento e determinação de idade em <i>Chelonia mydas</i>	24
2.3.3 Análise das marcas de crescimento.....	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1. Área de estudo	27
3.2. Procedência das amostras	27
3.3. Preparação das amostras	30
3.4. Análise das marcas de crescimento	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Preparação do material	33
4.2. Classe de tamanho de <i>Chelonia mydas</i> no litoral do Rio de Janeiro, de Paraty a Saquarema	33
4.3. Técnica histológica	36
4.3.1 Descalcificação.....	37
4.3.2 Inclusão.....	39
4.3.3 Coloração.....	40
4.3.4 Visualização das linhas de crescimento ósseo.....	41
4.4. Estimativa de idade para a população de <i>Chelonia mydas</i> no litoral do Rio de Janeiro	43
4.5. Correlação entre biometria e linhas de crescimento ósseo	47

5. CONCLUSÃO.....	52
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
7. APÊNDICE.....	62

1. INTRODUÇÃO

Quelônios ou testudines são denominações que agrupam todas as espécies de tartarugas identificadas no mundo, caracterizando-se por ter o corpo protegido por uma carapaça óssea. As sete espécies de tartarugas marinhas consideradas pela taxonomia vigente incluem: *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758), *Caretta caretta* (LINNAEUS, 1758), *Eretmochelys imbricata* (LINNAEUS, 1766), *Dermochelys coriacea* (LINNAEUS, 1766), *Lepdochelys olivacea* (ESCHSCHOLTZ, 1829), *Lepidochelys kempii* (GARMAN, 1880) e *Natator depressus* (GARMAN, 1880), sendo que as cinco primeiras são encontradas no Brasil, e as duas últimas são encontradas no Golfo do México.

O conhecimento das taxas de crescimento naturais e da idade dos indivíduos de uma população é fundamental para entender a demografia, avaliar a qualidade do *habitat*, e projetar planos de manejo e medidas conservacionistas adequadas para as espécies ameaçadas de extinção.

Embora dados de crescimento e idade possam ser adquiridos diretamente para muitos organismos, esta facilidade não está disponível para as populações de tartarugas marinhas. Esses animais apresentam características, em seu ciclo de vida, que dificultam a realização de estudos de marcação e recaptura, para determinação de parâmetros importantes como crescimento e determinação de idade. Por esta razão, muitos estudos envolvendo determinação de idade utilizando linhas cíclicas de crescimentos presentes nos tecidos duros vêm sendo acumulados para esta espécie.

A análise de marcas de crescimento nos ossos é denominada esqueletocronologia e vem sendo amplamente utilizada no grupo de quelônios e foi aplicado pela primeira vez por Zug et al. (1986), utilizando os ossos do crânio e do úmero direito de tartarugas cabeçudas (*Caretta caretta*). Em tartarugas marinhas o método já vem sendo validado para algumas espécies.

Diante do exposto, foi possível, com esse estudo, calcular a idade aproximada dos animais encalhados no litoral do Estado do Rio de Janeiro, o que, além de ser fundamental para conservação (proteção) das tartarugas marinhas, embasará estudos correlacionados com a etapa de vida de cada animal e, conseqüentemente, com a biologia da evolução destes indivíduos.

1.1. Objetivo

Objetiva-se com esta investigação estimar a idade das tartarugas da espécie *Chelonia mydas* (tartaruga-verde) encalhadas nas praias de Paraty a Saquarema, no litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

1.1.1. Objetivos Específicos

- Estipular, com as linhas de crescimento, a idade aproximada das tartarugas marinhas;
- Comparar as taxas de crescimento cíclico dos ossos com o comprimento e largura de carapaça e, assim, classificar as etapas de vida das tartarugas marinhas;
- Comparar as taxas de crescimento com outras já registradas para a espécie *Chelonia mydas*;
- Verificar a correlação entre comprimento curvilíneo de carapaça e linhas de crescimento ósseo e, assim, a partir da realização de equação de retrocálculo, estimar a idade das tartarugas-verdes a partir do valor de seu comprimento curvilíneo de carapaça;
- Avaliar qual etapa de vida predominou nos animais do estudo.

1.2. Justificativa

As tartarugas marinhas são pré-históricas e pouco se sabe acerca delas, principalmente quanto aos padrões de crescimento, a exemplo da *Chelonia mydas*. Dessa forma, a esqueletocronologia, nesta investigação, terá a finalidade de estabelecer estes parâmetros, obviamente, requeridos para melhor entendimento da dinâmica populacional da espécie e entendimento do seu ciclo de vida.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Quelônios

Os primeiros fósseis de tartarugas marinhas datam de sedimentos de 110 milhões de anos atrás (HIRAYAMA,1998) e a diversidade morfológica e taxonômica conhecida no registro fóssil supera a conhecida no presente. As tartarugas marinhas pertencem à Classe Reptilia, Ordem Testudines, Subordem Cryptodira (POUGH et al., 1998). Sete espécies são conhecidas atualmente, estão divididas em duas famílias, sendo seis espécies de tartarugas marinhas com casco recoberto por escudos córneos, da família Cheloniidae, e uma espécie morfológicamente divergente, com casco recoberto por epiderme coriácea, da família Dermochelyidae (PRITCHARD, 1969; PROJETO TAMAR, 2018).

As sete espécies consideradas pela taxonomia vigente incluem: *Caretta caretta* (LINNAEUS, 1758), *Eretmochelys imbricata* (LINNAEUS, 1766), *Lepidochelys olivacea* (ESCHSCHOLTZ, 1829), *Lepidochelys kempii* (GARMAN, 1880), *Natator depressus* (GARMAN, 1880) e *Dermochelys coriacea* (LINNAEUS, 1766) (Figura 1).

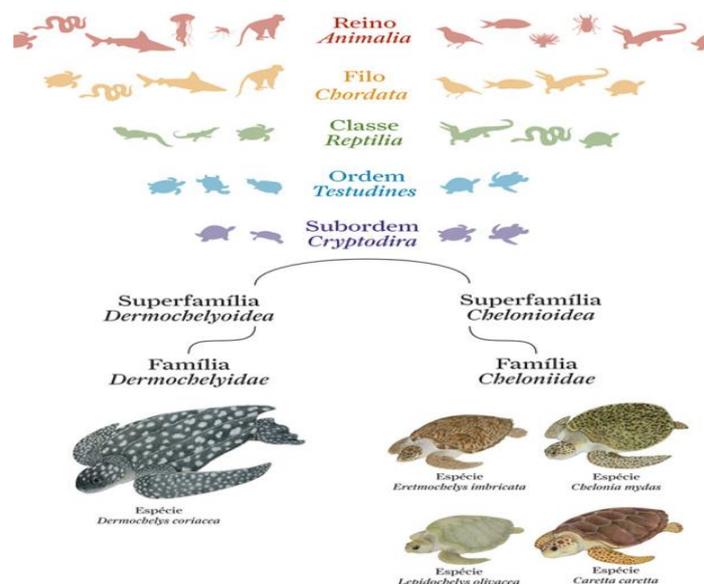


Figura 1. Classificação taxonômica das tartarugas marinhas (PROJETO TAMAR, 2019).

No Brasil, são encontradas cinco espécies: tartaruga-cabeçuda (*Caretta caretta*), tartaruga-verde (*Chelonia mydas*), tartaruga-de-pente (*Eretmochelys imbricata*), tartaruga-oliva (*Lepidochelys olivacea*) e tartaruga-de-couro (*Dermochelys coriacea*), que desovam no continente ou em ilhas oceânicas das regiões do nordeste e sudeste (MARCOVALDI & MARCOVALDI, 1999). Fora da estação reprodutiva, adultos e indivíduos juvenis em vários estágios de desenvolvimento podem ser encontrados ao longo de quase todo litoral, especialmente nas áreas de alimentação (MARCOVALDI *et al.*, 1998, MARCOVALDI & MARCOVALDI, 1999; GALLO *et al.*, 2000; MARCOVALDI *et al.*, 2000).

Em todo mundo, estes répteis têm sido caçados há centenas de anos, por causa de sua carne, óleo, carapaça, pele e ovos. Entretanto, foi no início deste século que sua comercialização cresceu consideravelmente. A captura insustentável resultou em um esgotamento muito rápido de numerosas colônias, estando algumas destas, atualmente, próximas à extinção (PROJETO TAMAR, 2018).

Inúmeras ameaças a estes animais são conhecidas, tanto nas praias de desova como nas áreas oceânicas e costeiras, durante o período migratório e de alimentação (CÂMARA, 1982). A urbanização das praias, com a construção crescente de edificação, o alto tráfego de pessoas e a iluminação noturna são, atualmente, uma grande ameaça à manutenção das áreas de desova (PETERS & VERHOEVEN, 1994). Em relação ao ambiente marinho, altas taxas de mortalidade têm sido observadas e se devem principalmente à captura acidental em redes de pesca de emalhe e de arrasto, bem como espinhéis de pesca oceânica (CHAN *et al.*, 1988; MARCOVALDI *et al.*, 1998; GALLO *et al.*, 2000; MARCOVALDI *et al.*, 2000). Ameaças adicionais como a poluição dos oceanos, também têm contribuído para o aumento dos riscos de extinção destes animais (PROJETO TAMAR, 2018).

Assim, todas as espécies, exceto *Natator depressus*, estão classificadas como “ameaçadas” ou “vulneráveis” na lista vermelha da União Mundial para a Conservação da Natureza (*International Union for Conservation of Nature - IUNC*, 2018).

2.1.1. *Chelonia mydas* (CM)

Chelonia mydas são popularmente conhecidas como tartarugas-verdes, devido à coloração verde da sua gordura, possui cabeça pequena com um único par

de escamas pré-orbitais (entre os olhos) e mandíbula serrilhada, características que as distinguem de outras espécies (MARQUEZ, 1990). Podem atingir até 230 quilos, e, aproximadamente, 112 a 120 cm de comprimento curvilíneo de carapaça. (ATM, 2018; PROJETO TAMAR, 2018). É considerada ameaçada de extinção em nível internacional (IUNC, 2018) e vulnerável em nível nacional (PROJETO TAMAR, 2018).

As tartarugas-verdes são facilmente distinguidas das demais por apresentarem as seguintes características: quatro pares de escudos laterais ou costais; doze pares de escudos marginais; cinco escudos vertebrais ou centrais, com o mais anterior em contato com o escudo nucal e mais dois pares de escudos marginais; a cabeça possui um único par de escudos pré-frontais (entre as orbitais) e quatro pares de placas pós-orbitais (CARR, 1952; PRITCHARD & TREBBAU, 1984). O plastrão possui quatro escudos epidérmicos inframarginais, sem poros visíveis (WYNEKEN, 2001) (Figura 2).

A distribuição geográfica dessa espécie é bastante ampla, abrangendo os ambientes tropicais e ocasionalmente subtropicais nos Oceanos Atlântico, Pacífico e Índico e nos Mares Mediterrâneo e Vermelho (PRITCHARD & MORTIMER, 1999).

É encontrada nos mares tropicais e subtropicais, em águas costeiras e ao redor de ilhas, sendo rara a ocorrência em águas temperadas (ATM, 2018). Habitam águas costeiras com muita vegetação (áreas de forrageio), ilhas ou baías onde estão protegidas, sendo raramente avistadas em alto-mar (PROJETO TAMAR 2018). A tartaruga-verde é tipicamente nectônica e solitária, podendo, ocasionalmente, formar agregações em áreas de alimentação (MARQUEZ, 1990).

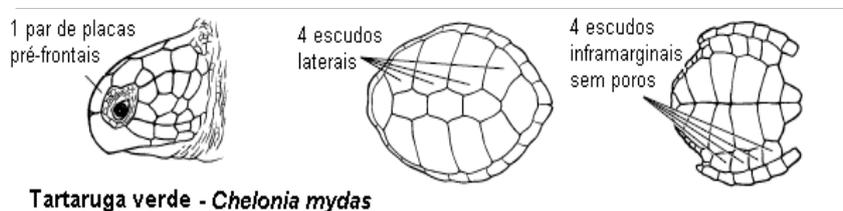


Figura 2. Estrutura da cabeça, casco e plastrão da *Chelonia mydas* (WYNEKEN, 2001).

A alimentação varia consideravelmente durante o seu ciclo de vida. Enquanto juvenil é uma espécie onívora, tornando-se herbívora quando adulta, mas pode se alimentar eventualmente de medusas, moluscos, esponjas, ovos de peixes, restos de peixes e de outros animais marinhos. É a única tartaruga marinha que é

preferencialmente herbívora na sua fase adulta (ATM, 2017; PROJETO TAMAR, 2017).

A CM coloca em média 115 ovos por postura e após, aproximadamente, 59 dias estes eclodem. As posturas são realizadas em intervalos de dois a três anos, chegando a desovar de três a cinco vezes por temporada, com um intervalo médio internidal (entre posturas) de 12 a 13 dias (ATM, 2017).

A maioria das áreas de reprodução encontra-se em locais onde a temperatura da água é superior a 25°C (MÁRQUEZ, 1990). As colônias reprodutivas podem ser encontradas no litoral dos continentes (como na Costa Rica e Suriname), em ilhas nas barreiras de coral (Austrália), ou ilhas oceânicas remotas (por exemplo, Ilha Ascensão e Atol das Rocas) (PRITCHARD, 1997). No Brasil, embora existam registros de desovas em alguns pontos no litoral dos estados do Rio de Janeiro, Bahia, Espírito Santo (MARCOVALDI & MARCOVALDI, 1999), a sua desova regular se dá apenas em ilhas oceânicas como Trindade, Atol das Rocas e Fernando de Noronha (PROJETO TAMAR, 2017; MARCOVALDI & MARCOVALDI, 1999)

2.2. Anatomia do Úmero

O úmero das tartarugas marinhas difere do das terrestres em vários aspectos. Presumivelmente, as diferenças são relacionadas a uma reestruturação adaptativa do membro anterior para o nado. O úmero das tartarugas marinhas, especialmente a espécie *Caretta caretta* (Figura 3), é achatado em secção transversal. A maioria das regiões da diáfise possuem contornos elípticos quando seccionados transversalmente (ZUG *et al.*, 1986).

Nas tartarugas marinhas, a cabeça do úmero faz um ângulo de 45° com a diáfise diferindo com a orientação perpendicular das outras tartarugas terrestres. Em aparência geral, a superfície articular é em forma de ovo, com a extremidade ventricular e o eixo longo dorsoventral. O processo ulnar medial (ou tuberosidade) é estreito e alongado, estendem-se aproximadamente em um ângulo de 25° do eixo; a ponta medial do processo é fortemente proximal à cabeça do úmero (ZUG *et al.*, 1986).

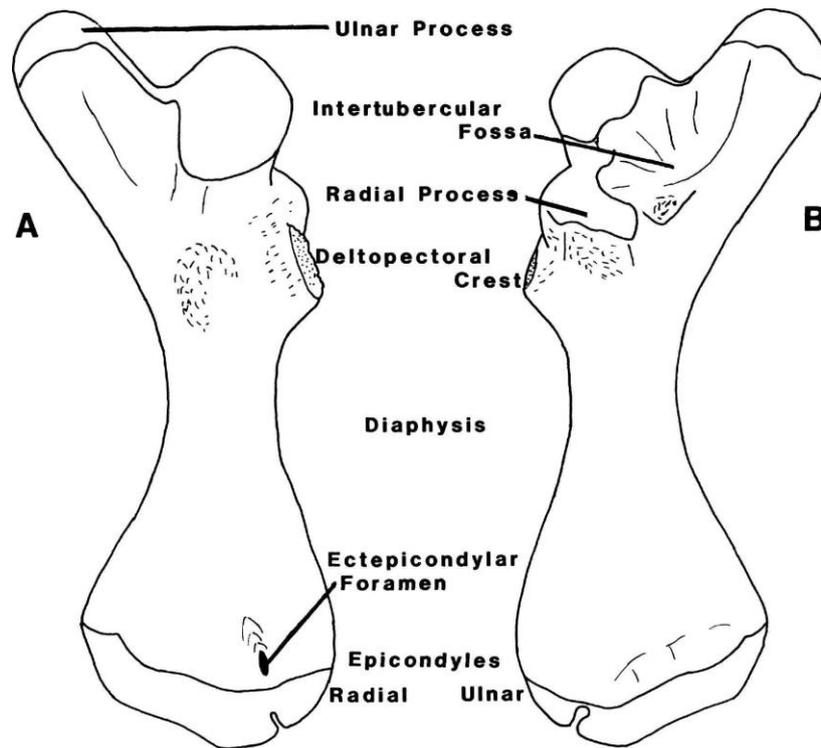


Figura 3. Úmero direito inteiro: **A** visão dorsal; **B** visão ventral (ZUG *et al.*, 1986).

O processo radial (ou lateral) está distal à cabeça e ventralmente na borda preaxial da diáfise. O processo ulnar medial (ou tuberosidade) é estreita e alongada, estendendo-se posteromedialmente em, aproximadamente, um ângulo de 25° do eixo; a ponta medial do processo é fortemente proximal à cabeça umeral. O processo radial é frequentemente indicado para ter deslocamento distal no eixo, ainda uma comparação de sua posição e orientação em outras tartarugas, o que sugere que a mudança da orientação da cabeça e alongamento do processo ulnar resultam em uma mudança na posição relativa, mas não real no eixo (ROMER, 1956). De acordo com Zug *et al.* (1986), outro processo surge na borda pré-axial próximo ao processo radial. Este processo é chamado de crista deltopeitoral devido à sua localização no centro da inserção do músculo deltoides e peitorais, (ROMER, 1956; ZUG *et al.*, 1986). Imediatamente distal a estes dois processos a diáfise estreita e depois amplia gradualmente (ao longo do eixo pré-postaxial) direção aos epicôndilos. A superfície epicondilar é lisa com apenas uma pequena concavidade medial para separar os epicondílitos radiais e lunares. O epicôndilo radial está marcado em subadultos e juvenis pelo sulco ectepicondilar. O sulco gradualmente fecha com a idade à medida que a área epicondílita cresce além e ao redor de nervos e vasos (ZUG *et al.*, 1986).

Externamente, o úmero é constituído de uma densa e lisa superfície óssea, exceto para as superfícies articulares e algumas das principais inserções musculares. A cabeça umeral, processo ulnar, processo radial, nos processos deltopeitoral e os epicôndilos possuem superfícies lisas e porosas. As regiões da fossa intertubercular, região entre processo radial e deltopeitoral, e a superfície dorsal da diáfise adjacente à cabeça são comumente rugosas, outras regiões desenvolvem cristas e rugosidades em tartarugas maiores (presumivelmente mais antigas) (ZUG *et al.*, 1986). Internamente (Figuras 4), o úmero consiste em uma concha estreita de osso compacto denso e um núcleo de osso esponjoso (ZUG *et al.*, 1986).

Em *Dermochelys coriácea*, o úmero é extremamente achatado e composto principalmente de osso esponjoso com, relativamente, pouco osso lamelar cortical e com vasos sanguíneos calibrosos e cartilagem nas suas superfícies articulares (Figuras 4-5). Em esqueletos preparados, a cartilagem é muitas vezes perdida. Os extensos canais vasculares na cartilagem são indicativos da formação óssea do “chondro-osseus”, isso é diferente do osso chelônico que é formado por deposição de relativamente espessas camadas (lamelas) de osso cortical em torno de um núcleo ósseo celular (WYNEKEN, 2001).

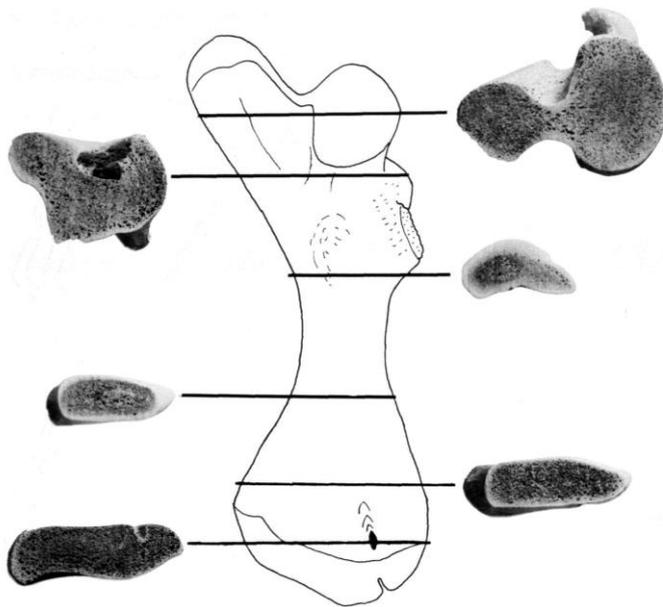


Figura 4. Seções transversais representativas do úmero (ZUG *et al.*, 1986).



Figura 5. Formação óssea de Chondro-osseus. Os canais vasculares são vistos no corte da extremidade de úmeros de tartaruga de couro. (WYNEKEN, 2001).

2.2.1. Histologia do Tecido Ósseo

O osso como órgão é a unidade do sistema esquelético, apropriado para função de sustentação, proteção e depósito de minerais. É constituído por tecido ósseo, conjuntivo propriamente dito (periósteo e endósteo), hemocitopoiético, vascular, adiposo e cartilaginoso. Sabidamente o tecido ósseo é um conjuntivo especializado constituído por matriz orgânica e minerais e que apresenta três tipos celulares: osteoblasto, osteócito e osteoclasto. É um tecido metabolicamente ativo, sendo continuamente renovado por processos anabólicos (aposição) e catabólicos (reabsorção). A renovação óssea é intensa nas fases de crescimento, gestação, e lactação, reduzindo-se com o tempo, mas nunca cessando (SANTOS & ALESSI, 2017).

Os osteoblastos derivam-se de células-tronco mesenquimais da medula óssea, endosteais e trabeculares, sintetizam matriz orgânica não mineralizada nas superfícies ósseas preexistentes sobre matriz cartilaginosa, ou sobre condensação de colágeno e são responsáveis, também, pela mineralização da matriz óssea (osteóide). À medida que produzem a matriz e ficam envoltas por ela, passam a ser denominadas osteócitos. As principais ações dos osteócitos são manter a viabilidade do tecido ósseo e promover a reabsorção óssea por osteólise osteocítica, mecanismo essencial para manter constantes os níveis de cálcio extracelulares. Os osteoclastos são células multinucleadas derivadas da fusão dos precursores das células mononucleares hematopoéticas, com diferenciação dependente dos fatores liberados pelas células da linhagem osteoblástica. Sua função principal, quando ativados, é promover a reabsorção óssea por osteoclasia (SANTOS & ALESSI, 2017).

O tecido ósseo apresenta dois tipos de configuração: trabecular ou esponjoso e osteônico ou compacto. O tecido ósseo trabecular é formado por trabéculas dispostas umas ao lado das outras, conectadas e circundadas por tecido conjuntivo vascularizado. O tecido ósseo osteônico é formado por trabéculas dispostas de forma concêntrica em torno de um canal com tecido conjuntivo vascular (canal de Havers) formando ósteons unidos entre si por lamelas intersticiais (SANTOS & ALESSI, 2017).

O osso é classificado pelo arranjo de fibrilas de colágeno na matriz (osso reticular ou lamelar) ou pelo tipo de tecido conjuntivo precursor (ossificação

intramembranosa ou endocondral). Osso reticular possui fibrilas de colágeno que estão dispostas de maneiras anastomosante e irregular e o osso lamelar possui uma matriz mais organizada que é depositada em camadas. Os dois tipos de desenvolvimento ósseo dependem de células específicas que se diferenciam em dois microambientes específicos, quando o osso se forma diretamente do tecido conjuntivo é denominado de ossificação intramembranosa e quando se forma a partir de modelos cartilagosos preexistentes é denominado ossificação endocondral ou intracartilaginosa. Durante esse processo a cartilagem calcificada é substituída por osso (EURELL & FRAPPIER, 2012).

2.3. Estudo de crescimento e determinação de idade

O conhecimento das taxas naturais de crescimento e da idade dos indivíduos de uma população é fundamental para entender a demografia, avaliar a qualidade do *habitat* e elaborar planos de manejo e medidas conservacionistas adequadas para as espécies ameaçadas de extinção (BJORNDAL & BOLTON, 1988).

Para determinar o crescimento, técnicas podem ser utilizadas: as diretas e as indiretas. As técnicas diretas consistem em determinar o aumento de tamanho dos indivíduos ao longo do tempo através de sua marcação e recaptura. Os métodos indiretos incluem as análises de frequência de comprimentos dos indivíduos em amostras da população e o exame de marcas de crescimento em tecido duro (DAM, 1999).

Em muitas espécies, a técnica direta para determinação de idade é difícil de ser realizada, por esta razão a análise de linhas cíclicas de crescimento presentes nos tecidos duros vem sendo desenvolvida em diversos grupos de vertebrados. Em peixes, por exemplo, as estruturas utilizadas são principalmente otólitos (PANELLA, 1971; CERCHIARI & ANDRADE, 2000), em mamíferos marinhos, estas linhas cíclicas são observadas nos dentes (HOHN & FERNANDEZ, 1999). No grupo dos quelônios, além de osso (CASTANET & CHEYLAN, 1979; CASTANET, 1982; ZUG *et al.*, 1986), a carapaça também é amplamente utilizada na determinação da idade dos animais (GERMANO & BURY, 1998 e WILSON *et al.*, 2003).

Esqueletocronologia é uma subdisciplina do vasto campo de estudo chamado esclerocronologia, que é a investigação da temporalidade associada às características de história de vida através da análise de estruturas duras ou

calcificadas nos organismos (AVENS & SNOVER, 2013). Grande quantidade de dados tem sido obtida em relação à idade e padrão de crescimento de anfíbios e répteis, utilizando linhas de crescimento cíclicas em seus ossos (CASTANET & SMIRINA, 1990).

A técnica de esqueletocronologia oferece o potencial para uma rápida e ampla caracterização de parâmetros de idade e crescimento de uma população (AVENS & SNOVER, 2013). Esta técnica assume que uma relação constante e proporcional existe entre o crescimento dos ossos e o crescimento somático, e que anéis de crescimento periódicos são depositados em intervalo de tempo regular e constante (CHALOUPKA & MUSICK, 1997).

Mattox (1936) foi o primeiro a reconhecer o potencial de anéis ou marcas de crescimento ósseo como meio de estabelecer o envelhecimento de tartarugas. Ele observou que, em *Chrysemys picta* menores em comprimento, menos anéis eram evidenciados e, em tartarugas com comprimentos maiores, mais anéis eram observados.

2.3.1 Crescimento e determinação de idade em tartarugas marinhas

Trabalhos têm sido realizados com espécies de tartarugas marinhas, através de marcação e recaptura (FRAZER & EHRHART, 1985; LIMPUS & WALTER, 1980; BJORN DAL & BOL TEN, 1988), contudo, estes animais possuem características que dificultam a realização deste tipo de estudo. As tartarugas marinhas possuem crescimento lento, sendo necessário um grande investimento de tempo para obter resultados satisfatórios. A probabilidade de recaptura dos indivíduos marcados é muito baixa, devido às peculiaridades de cada estágio de vida, também devido às altas taxas de mortalidade no estágio juvenil de vida, além de alta mortalidade, induzida pelo homem, tanto de juvenis quanto de adultos (BJORN DAL & BOL TEN, 1998). Neste contexto, os numerosos encalhes de tartarugas marinhas mortas podem ser convertidos em valiosos espécimes para pesquisa de esqueletocronologia (ZUG *et al.*, 1986).

Análises de linhas de crescimento nos ossos têm sido realizadas para diversas espécies de tartarugas marinhas em diferentes regiões geográficas, inclusive para *Caretta caretta* (SNOVER & HOHN, 2004; AVENS & GOSHE, 2007; CASALE *et al.*, 2011) e *Chelonia mydas* (ZUG *et al.*, 2002; GOSHE *et al.*, 2010;

AVENS *et al.*, 2012). Zug *et al.* (1986) utilizaram a técnica em diversos ossos de *Caretta caretta* e concluíram que o úmero apresenta as marcas de crescimento mais evidentes. Cada marca de crescimento consiste em uma área de coloração clara e uma área de coloração escura, a área clara representa um período de rápido crescimento, e a escura, crescimento lento ou nulo (ZUG *et al.*, 1986). Juntas, uma área clara e uma área escura adjacentes representam um ciclo completo de crescimento, ou seja, um ano em tartarugas marinhas (ZUG *et al.*, 1986).

O padrão de deposição anual de marcas de crescimento em tartarugas marinhas tem sido validado em vários estudos, através de marcação de indivíduos com tetraciclina (KLINGER & MUSICK, 1992; COLES *et al.*, 2001; SNOVER *et al.*, 2010), marcação e recaptura (GOSHE *et al.*, 2010; AVENS *et al.*, 2012) em indivíduos com idade conhecida (SNOVER & HOHN, 2004; GOSHE *et al.*, 2010). A relação proporcional entre crescimento somático e crescimento ósseo também já foi validada (SNOVER *et al.*, 2007; GOSHE *et al.*, 2010; AVENS *et al.*, 2012).

O remodelamento intracortical do osso, juntamente com sua vascularização, é uma das dificuldades encontradas na prática da esqueletocronologia em quelônios e crocódilianos, podendo destruir marcas de crescimento mais antigas (CASTANET & SMIRINA, 1990; SUZUKI, 1963). Nas tartarugas marinhas há um incremento de tamanho de 18 a 20 vezes, desde o nascimento até a idade adulta, o que sugere uma maior reorganização estrutural no esqueleto, reabsorção/remodelamento são evidentes em todos os ossos (ZUG, 1990). Alguns métodos têm sido propostos para estimar o número de marcas de crescimento perdidas pelo remodelamento ou reabsorção do osso (KLINGER & MUSICK, 1992; PARHAM & ZUG, 1997; ZUG *et al.*, 2002; SNOVER *et al.*, 2007).

2.3.2. Crescimento e determinação de idade em *Chelonia mydas*

Taxas de crescimento de tartarugas-verdes são altamente variáveis, tanto entre populações como dentro de uma mesma população, podendo ser influenciadas por genótipo, sexo, qualidade do *habitat*, temperatura da água e dieta (BJORNDAL & BOLTEN, 1988). Taxas médias de crescimento de tartarugas-verdes no oeste do Atlântico têm variado entre 3–5 cm ao ano, seguindo sua entrada em *habitats* neríticos (ZUG & GLOR, 1998). Avens *et al.* (2012) afirmam que o alto grau

de variabilidade de taxas de crescimento indica que grandes volumes de amostras são necessários para avaliar padrões de crescimento de tartarugas-verdes.

Diversos estudos utilizando esqueletocronologia para estimativa de idade ou taxas de crescimento de tartarugas-verdes já foram realizados no Atlântico Norte (BJORNDAL *et al.*, 1998; ZUG & GLOR, 1998; GOSHE *et al.*, 2010; AVENS *et al.*, 2012) e no Pacífico (ZUG *et al.*, 2002). No Brasil, Torezani *et al.* (2009) investigaram o crescimento de tartarugas-verdes juvenis em uma área de descarga de efluentes industriais no litoral sudeste, através de marcação e recaptura, nas áreas com grande concentração de indivíduos, principalmente juvenis, no arquipélago de Fernando de Noronha (SANCHES & BELLINI, 1999), também foram desenvolvidos estudos envolvendo a marcação e recaptura. No Rio grande do Sul, alguns trabalhos já foram realizados em relação a aspectos relacionados ao crescimento e idade em *Chelonia mydas* (LENZ, 2013; TRIGO, 2004).

As tartarugas-verdes agregam-se nas áreas de reprodução e se espalham pelas áreas de alimentação, podendo haver, em uma mesma área, indivíduos de estoques genéticos diferentes. A distribuição das classes de tamanho observadas para esta população no estado do Rio de Janeiro indica que é composta por indivíduos juvenis que estão na costa brasileira devido ao seu hábito alimentar (PROJETO TAMAR, 2017). Assim, torna-se importante a realização de estudos sobre a idade dos animais que estão nesta fase do ciclo de vida, visto que a aquisição de dados sobre este período é, também, impedida pela falta de técnicas diretas adequadas e duradouras.

2.3.3 Análise das marcas de crescimento

Cada linha de crescimento possui duas áreas, uma clara e uma escura. A área clara representa o crescimento rápido, e a escura, um crescimento lento ou até nulo, juntos representam um ciclo completo de crescimento (marca de crescimento esquelético) que equivale a um ano de vida (ZUG *et al.*, 1986)

A primeira linha de crescimento (“annulus”) em tartaruga marinha é depositada diante do centro do osso, enquanto as linhas de crescimento mais recentes ocorrem ao longo da circunferência mais externa (Figura 9) (ZUG *et al.*, 1986).

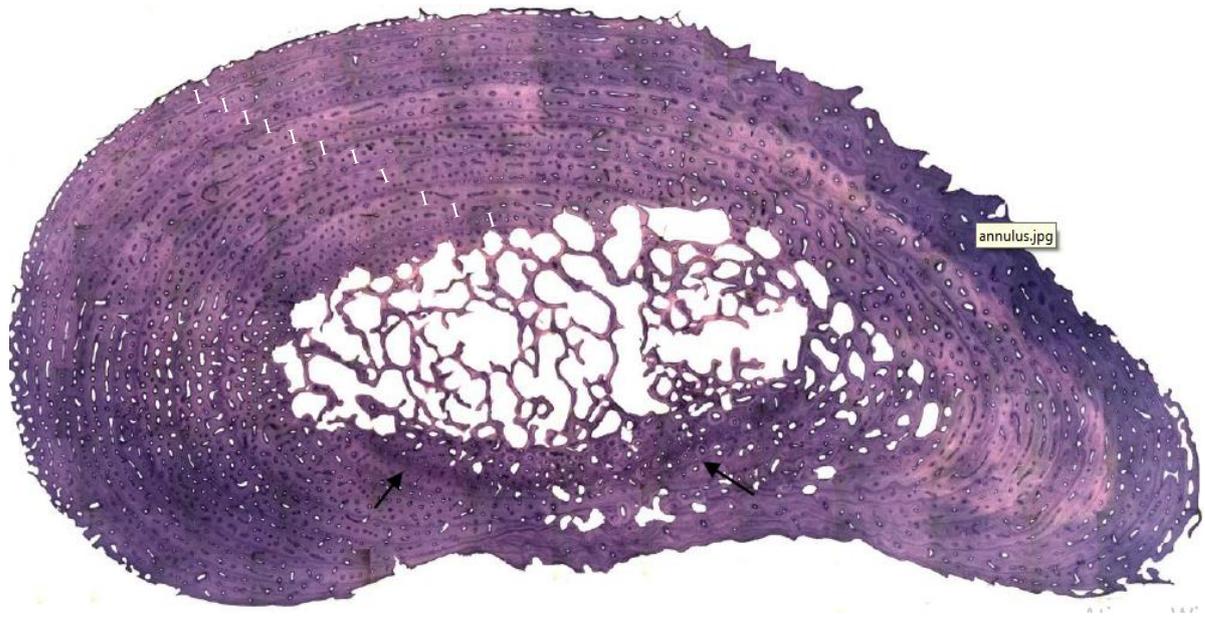


Figura 6. Corte histológico do úmero de uma tartaruga *Caretta caretta*. Setas indicando a primeira linha de crescimento “annulus”, barras (|) indicando o número de linhas de crescimento (PETITET, 2010).

Reabsorção e remodelamento ocorrem nas camadas mais internas do osso, principalmente em tartarugas marinhas, seu diâmetro transversal (o eixo mais estreito) aumenta dez vezes desde a incubação até a idade adulta. Além disso, há mudanças nas proporções e na orientação do eixo longitudinal, assim, o úmero original e as primeiras camadas são totalmente substituídos por remodelação e crescimento endosteal (ZUG *et al.*, 1986).

A taxa de crescimento foi calculada a partir da aplicação da técnica de “retrocálculo”, utilizada em muitos trabalhos com esqueletocronologia de tartarugas marinhas. A técnica em questão se baseia no conceito de um padrão das linhas de crescimento, sendo proporcional ao crescimento do animal, e relacionando as dimensões dos ossos com o tamanho do corpo, pôde-se confirmar a proporcionalidade (LENZ, 2013).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O estudo foi realizado no litoral do Rio de Janeiro, na extensão de Saquarema, Latitude: 22° 55' 52" S e Longitude: 42° 29' 47" W à Paraty, Latitude: 23° 13' 04" S e Longitude: 44° 42' 47" W (Figura 6). As amostras de úmeros foram coletadas das nadadeiras anteriores, direita e esquerda de carcaças encalhadas.

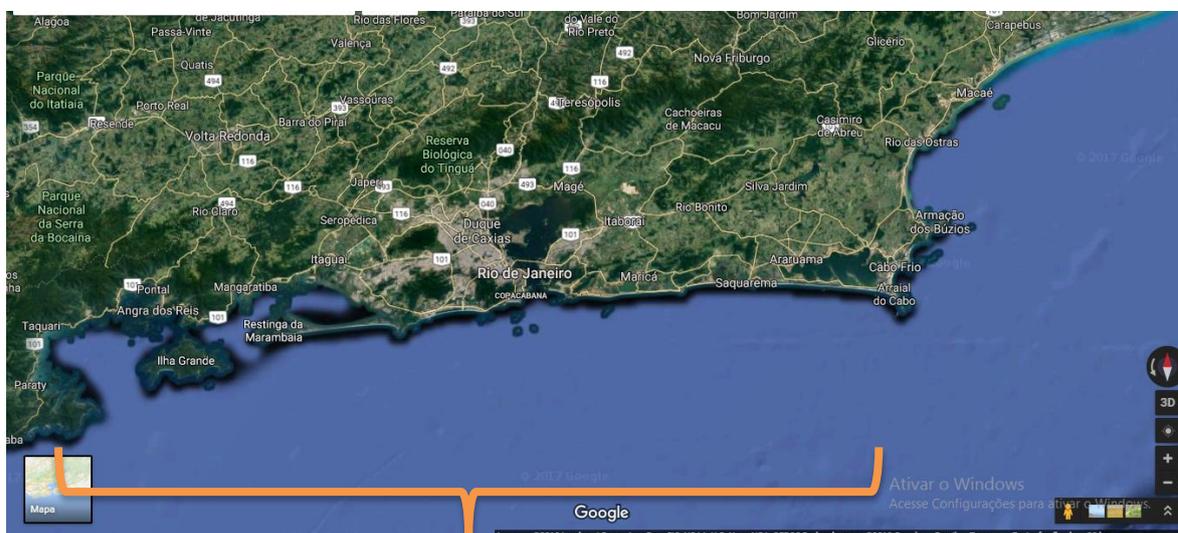


Figura 7. Mapa com destaque na área de estudo, extensão de Saquarema, Latitude: 22° 55' 52" S e Longitude: 42° 29' 47" W a Paraty, Latitude: 23° 13' 04" S e Longitude: 44° 42' 47" W.

3.2. Procedência das amostras

As necropsias de tartarugas marinhas foram realizadas por médicos veterinários treinados da empresa CTA – Meio Ambiente, seguindo um protocolo padrão de acordo com Wyneken (2001), entre 2016 e 2017, em animais encontrados encalhados mortos no litoral do Estado do Rio de Janeiro, na extensão de praias de Paraty a Saquarema.

Em campo, os indivíduos foram medidos (Figura 7) e, quando possível, pesados e sexados. Entretanto, devido principalmente ao estado avançado de decomposição de alguns espécimes, estes não apresentaram condições para realização de tais procedimentos. As medidas básicas tomadas para cada animal

foram o comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) e a largura curvilínea máxima de carapaça (LCC). O comprimento curvilíneo da carapaça é medido na linha mediana da carapaça, desde o ponto médio anterior (escudo nugal) até a porção mais distal das escamas supracaudais (Figura 7a). Já a largura curvilínea é medida no ponto mais largo da carapaça (Figura 7b).

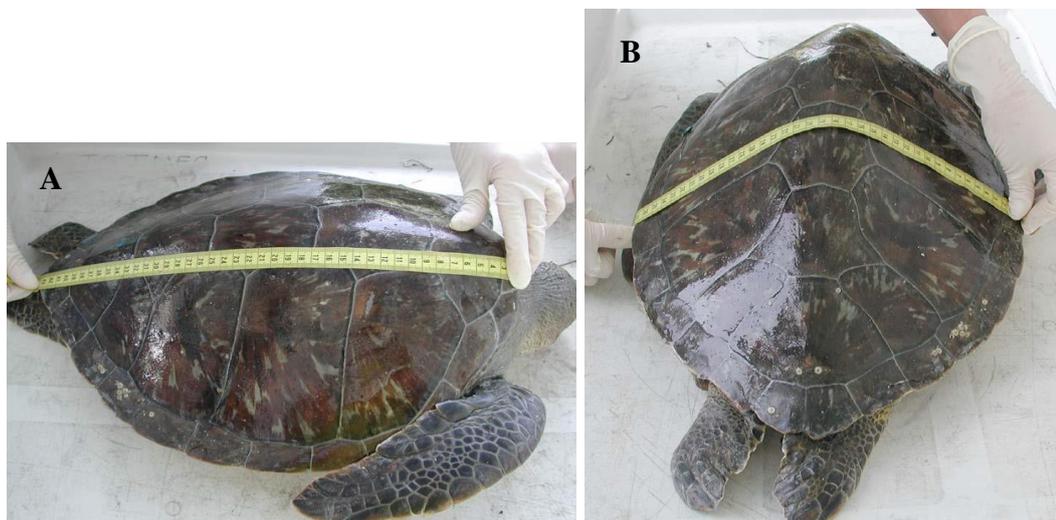


Figura 8. Medidas realizadas em campo nos exemplares de *Chelonia mydas* encontradas no litoral do Rio de Janeiro. **A** comprimento curvilíneo da carapaça (ccc) e **B** largura curvilínea máxima de carapaça (lc) (WYNEKEN, 2001).

Foram realizadas medidas dos úmeros, seguindo o método de Trigo (2004), (Figura 8):

As medidas realizadas foram as seguintes:

- 1) comprimento máximo (CM): distância da extremidade mais próxima do processo ulnar à superfície articular distal;
- 2) comprimento longitudinal (CL): distância da superfície próxima à cabeça à superfície articular distal, paralela ao eixo longitudinal do úmero;
- 3) comprimento do processo ulnar (CPU) até a junção da cabeça e do processo;
- 4) comprimento proximal (CP): distância da superfície próxima à cabeça até a borda distal do processo radial, paralelo ao eixo longitudinal;
- 5) largura proximal (LP): distância da superfície pré-axial da cabeça à superfície pós-axial do processo ulnar, perpendicular ao eixo longitudinal;
- 6) comprimento do processo radial (CPR): distância entre as bordas pré e pós axiais do processo, diagonal ao eixo longitudinal;

- 7) largura na crista deltopeitoral (LCDp): distância transversal da haste desde a superfície pré até a pós-axial na crista deltopeitoral;
- 8) largura média (LM): distância da superfície pré até a pós-axial no ponto de largura mínima;
- 9) largura distal (LD): distância transversal da superfície pré até a pós-axial na junção dos côndilos articulares com a haste (diáfise);
- 10) diâmetro máximo da cabeça (DCMax);
- 11) diâmetro mínimo da cabeça (DCmin);
- 12) espessura (E): profundidade mínima meio da haste, aproximadamente a cerca a largura média (LM), perpendicular aos eixos longitudinal e transversal.

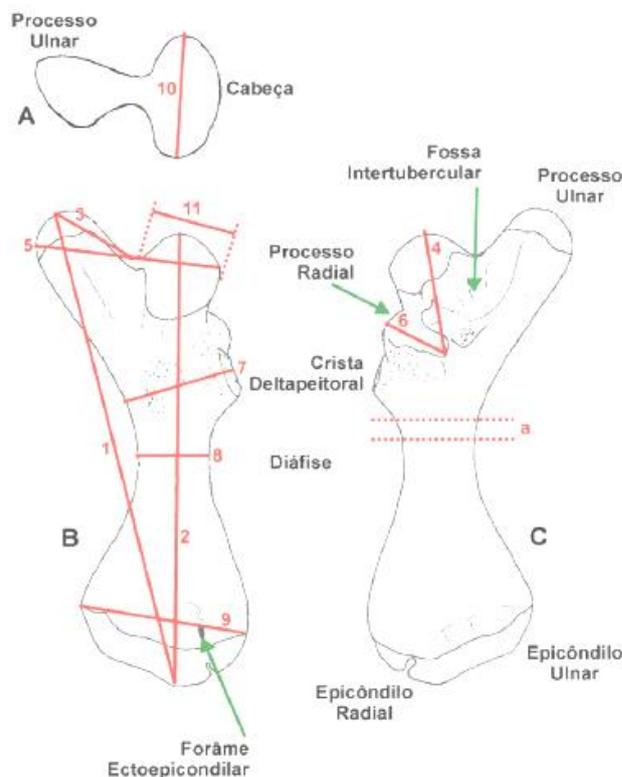


Figura 9. Vista proximal (A), dorsal (B) e ventral (C) de úmero de Chelonidade (modificado de Zug *et al.*, 1986) com a indicação das medidas tomadas (conforme descrito no item 3.2), principais estruturas anatômicas e o local de retirada da secção para preparação histológica (a). Medidas conforme descrito no item 3,2: 1- comprimento máximo (CM); 2- comprimento longitudinal (CL): distância da superfície próxima à cabeça à superfície articular distal, paralela ao eixo longitudinal do úmero; 3) comprimento do processo ulnar (CPU); 4- comprimento proximal (CP); 5- largura proximal (LP); 6- comprimento do processo radial (CPR); 7- largura na crista deltopeitoral (LCDp); 8- largura média (LM); 9- largura distal (LD); 10- diâmetro máximo da cabeça (DCMax); 11- diâmetro mínimo da cabeça (DCmin); 12- espessura (E).

3.3. Preparação das amostras

Nos indivíduos encalhados, um total de 41 exemplares de úmeros de *Chelonia mydas*, tanto os esquerdos como os direitos, foram coletados, congelados e acondicionados em sacos plásticos.

O material, então, foi encaminhado para o Setor de Morfologia e Anatomia Patológica (SMAP) do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA), no Hospital Veterinário (HV) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), onde foram acondicionados sob refrigeração.

A técnica histológica das amostras para análise se baseou nas metodologias de Zug *et al.* (1986), Trigo (2004), Petitet (2010). Esta técnica é usualmente a mais utilizada para a realização deste tipo de estudo de determinação de idade em tartaruga marinha (ZUG E PARHAM, 1996; PARHAM & ZUG, 1998; ZUG & GLOR, 1998; ZUG *et al.*, 2002; BJORN DAL et a., 2003; TRIGO, 2004).

1. Maceração – os úmeros foram acondicionados em tanques, submersos em água por 20 dias, numa proporção equivalente a três vezes o volume de água para uma vez do volume do úmero.
2. Secagem – Após lavagem, foram colocados para secar em local aberto por 14 dias.
3. Medidas – Previamente ao corte e à preparação histológica, os úmeros foram medidos de acordo com Zug *et al.* (1986), sendo tomadas 12 medidas para cada úmero, utilizando-se um paquímetro com precisão de 0,02 mm. A realização destas medidas foi importante para permitir a análise da correlação entre tamanho do corpo e tamanho do úmero.
4. Corte – Após a realização das medidas, uma secção transversal do osso foi retirada na porção média da diáfise, próximo à crista deltapeitoral, utilizando serra de arco manual. Segundo Sheehan & Hrapachak (1973), as secções foram cortadas com uma espessura de aproximadamente 3 mm. Após o corte, as secções foram, então, submetidas à preparação histológica.
5. Fixação química – conforme Trigo (2004), as secções foram armazenadas em formalina tamponada 10%, por um período de 12 horas.

6. Descalcificação – foi utilizado ácido nítrico a 10% (TRIGO 2004). O período de descalcificação foi de 4 a 10 dias.
7. Enxágue – após o término de descalcificação os ossos foram lavados em água corrente, pelo menos, 12 horas.
8. Processamento histotécnico de rotina foi realizado no processador TP 1020 Leica. Com a desidratação do material em banhos de álcool, clarificação em xilol, sendo embebidas em parafina, seccionadas (5 e 7 μm), no micrótomo semiautomático RM 2145, coradas pela Hematoxilina e Eosina Harris (10 a 15 minutos) e montadas em lâminas *StarFrost advanced adhesive*.

3.4. Análise das marcas de crescimento

Após a visualização e verificação de linhas de crescimento, os ossos que apresentaram a primeira linha de crescimento “annulus”, a idade equivalente das tartarugas, correspondeu ao total de linhas observadas. Nos animais que não retinham a primeira linha de crescimento “annulus”, a idade equivalente foi o número de linhas de crescimento observadas, adicionada ao número de linhas perdidas, que foi calculado baseado no fator de correção das no fator de correção demonstrado por Parharm e Zug (1998).

As lâminas com exibição das linhas de crescimento foram fotografadas pela câmera Leica DFC 450C, com a utilização do *software Leica Application Suite (LAS)* versão 4.12, em microscópio (Leica DMLB). A identificação, contagem e medidas das linhas de crescimento foram realizadas.

Cada seção foi analisada independentemente por dois leitores e as leituras comparadas a fim de obter-se um consenso sobre a posição e o número de linhas de crescimento. As linhas de crescimento foram numeradas sequencialmente do centro para a periferia da seção do úmero (Figura 9). O diâmetro de cada linha de crescimento representou o diâmetro do úmero do indivíduo para a idade correspondente ao número da linha.

Após a visualização e verificação das linhas de crescimento, foi realizada a análise dos dados de idade estimada e tamanho (CCC, LCC, CT), como descrito por Trigo (2004) e Lenz (2013), para a verificação da correlação, fornecimento de um banco de dados e possibilitar a predileção das linhas de crescimento a partir do

comprimento curvilíneo, largura curvilínea de carapaça e comprimento total, com a utilização de uma equação de regressão linear, conforme Lenz (2013) e Snover *et al.*, (2007).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Visualização das linhas (Lâminas) e confecção de um banco de dados

As 12 medidas (Figura 9) dos úmeros analisados e a interpretação das linhas de crescimento nas secções ósseas foram organizadas em tabelas para a criação de um banco de dados de referência para dimensões ósseas e linhas de crescimento (Apêndice I e II).

4.2. Classe de tamanho de *Chelonia mydas* no litoral do Rio de Janeiro, de Paraty a Saquarema.

Dos 41 espécimes de tartaruga-verde coletadas, apenas 38 apresentaram condições de serem medidos, e os comprimentos curvilíneos de carapaça (CCC) registrados variaram de 31,2 a 60,5 cm (Figura 10). A maioria dos exemplares (34,2%) pertencia aos animais que variaram em comprimento de carapaça de 35 a 40 cm (Figura 10).

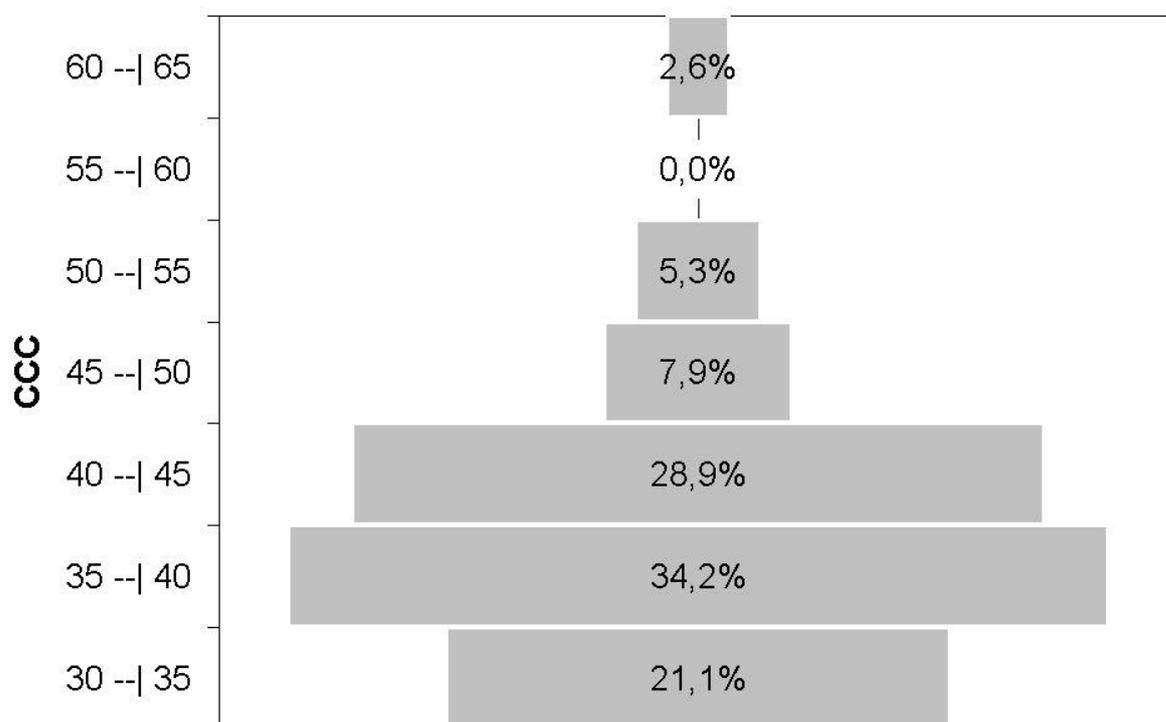


Figura 10. Distribuição por classes de tamanhos das tartarugas-verdes encalhadas no litoral do Rio de Janeiro, na extensão da praia de Paraty a Saquarema, no Período de 2016 a 2017.

Dados semelhantes ao presente trabalho foram obtidos na Argentina e Uruguai por Frazier (1984), que registrou tartarugas-verdes com comprimento curvilíneo de carapaça variando entre 27 e 50 cm, sendo que 82% dos exemplares apresentaram comprimento entre 32,5 e 42,4 cm.

No Rio Grande do Sul também foi possível observar semelhança com os dados apresentados anteriormente, no qual Lenz (2013) registrou tartarugas com comprimento curvilíneo de carapaça variando de 30,6 e 62 cm (média = $41 \pm 5,8$). Comprimentos bem próximos do encontrado por Lenz (2013) foi anteriormente descrito por Trigo (2004), que registrou tartarugas com comprimento curvilíneo de carapaça variando de 29 a 52 cm, também, no Rio Grande do Sul. Já Silva & Almeida (1998) registraram para o Rio Grande Sul, no ano de 1996, exemplares com comprimento variando entre 20 a 80 cm (CCC). Esses últimos resultados exibidos por Silva E Almeida (1998) apresentam uma faixa mais ampla de comprimento curvilíneo de carapaça registrada para o Rio Grande do Sul.

Segundo Boulon & Frazer (1990), Collazo *et al.* (1992) e Bjorndal *et al.* (1998), composição de classes e tamanhos entre 25 e 75 cm são indicativos de população de indivíduos juvenis. Assim, as classes de tamanho observadas no presente trabalho, parte do litoral do Rio de Janeiro, para tartaruga-verde que habitam o litoral gaúcho, quanto o Uruguai e da Argentina, indicam que estas populações estão constituídas de animais em estado de vida juvenil. Dado díspar a esse padrão, que indicou presença de animais adultos no Rio Grande do Sul, foi obtido por Silva & Almeida (1998).

Dados diferentes do registrado para o litoral do Rio de Janeiro foram encontrados no estado do Paraná, no qual D'Amato (1991) relatou a existência de animais juvenis e adultos, em Ubatuba, litoral do Estado de São Paulo. Gallo *et al.*, (2000) registraram a ocorrência de animais juvenis e adultos com comprimento curvilíneo de carapaça variando de 27 a 96 cm, porém, a média de comprimento foi de 40,6 cm, sendo 99,3 % das tartarugas capturadas representadas por indivíduos juvenis (MARCOVALDI *et al.*, 1998).

Também no arquipélago de Fernando de Noronha, Sanches & Bellini (1999) verificaram indivíduos com comprimentos entre 32 e 83 cm (tendo a maioria destes, um comprimento entre 40 e 50 cm), onde diferente do presente trabalho foi possível verificar a presença de indivíduos adultos e juvenis. Em Almofala, no Ceará,

Marcovaldi *et al.* (1998) constataram que 70,1% das tartarugas encontradas consiste em indivíduos juvenis.

A partir da observação destes padrões diferenciados de distribuição de classes de tamanho para estas regiões do litoral brasileiro e baseando-se no tamanho de fêmeas maduras que desovam na Ilha de Trindade (90–143,5 cm de CCC), a mais importante área de desova da espécie, no Brasil (ALMEIDA *et al.*, 2011), conclui-se que os indivíduos registrados no litoral fluminense do Rio de Janeiro são juvenis, com comprimento curvilíneo da carapaça variando de 31,2 e 60,5 cm e idade estimada de 1 a 6 anos (Figura 10).

Os dados obtidos para o litoral do Rio de Janeiro são compatíveis com os encontrados nos litorais gaúchos, uruguaios e argentino, onde a população é predominantemente constituída de animais juvenis. Já para Fernando de Noronha, no estado de Pernambuco e Ubatuba, no estado de São Paulo, há registro de populações de tartaruga-verde em estágio de vida juvenil, subadulto e adultos. Segundo Carr (1980), grupos de tartarugas-verdes de diferentes idades podem ocorrer em uma mesma área, desde que existam recursos alimentares disponíveis para suportar tantos animais juvenis, apresentando uma dieta principalmente carnívora, quanto animais adultos herbívoros.

A espécie *Chelonia mydas* possui distribuição cosmopolita, desde os trópicos até as zonas temperadas, sendo a espécie de tartaruga marinha que apresenta hábitos mais costeiros, utilizando estuários de rios e lagos (HIRTH, 1997). No Brasil, as áreas prioritárias de desova para indivíduos adultos estão localizadas em ilhas oceânicas: Ilha de Trindade (Estado do Espírito Santo, MOREIRA *et al.*, 1995), Atol das Rocas (Estado de Pernambuco, BELLINI & SANCHES 1996). Na costa brasileira, áreas de desova secundárias ocorrem no litoral norte do estado da Bahia, esporadicamente em Sergipe e Rio Grande do Norte. Apesar das áreas reprodutivas com informação disponível se limitarem aos estados descritos acima, as ocorrências não reprodutivas, sobretudo de indivíduos em estágio juvenil, se distribuem ao longo de toda costa (MARCOVALDI & MARCOVALDI 1999). Os dados expostos acima corroboram os achados sobre a distribuição das populações de tartaruga-verde encontradas no litoral fluminense do Rio de Janeiro e nos outros estados citados anteriormente (CARR, 1980; MOREIRA *et al.*, 1995; MARCOVALDI *et al.*, 1998; SILVA & ALMEIDA, 1998; SANCHES & BELLINI, 1999; GALLO *et al.*, 2000; TRIGO; 2004; ALMEIDA *et al.*, 2011; LENZ, 2013)

4.3. Técnica histológica

A partir da metodologia proposta por Zug *et al.* (1986), houve a necessidade de algumas modificações, visto que com a metodologia original não foram obtidos os resultados esperados. Em muitos trabalhos com esqueletocronologia em tartarugas marinhas não foram relatados problemas quanto à metodologia, em contra partida, no presente trabalho, a análise da técnica histológica foi modificada em vista da constatação de inúmeras dificuldades referentes à sua replicação. Questionamentos e modificação da técnica já haviam sido descritos (TRIGO, 2004; BJORN DAL *et al.*, 2003; MEASEY, 2001).

Dos 41 úmeros inicialmente submetidos à preparação histológica, apenas 39 apresentaram condições satisfatórias para realização da análise. Os dois úmeros não foram analisados, pois se encontravam fraturados exatamente abaixo da crista deltapeitoral (Figura 3), impossibilitando a realização das medidas e análise de forma representativa das linhas de crescimento ósseo, visto que parte da região cortical, onde as linhas mais recentes (atuais) são depositadas, foi perdida.

Cerca de 16 úmeros apresentaram problemas durante a preparação, e apresentaram dificuldades ao serem cortados no micrótomo, no qual foi necessário repetição de todas as etapas para que fosse possível a análise desses úmeros. Dois ossos, na etapa de descalcificação, quando ainda não estava estabelecida exatamente a metodologia a ser utilizada, sofreram danos da má descalcificação, mas foram recuperadas e não foi preciso descartá-los. As fases da preparação, anteriores ao corte (descalcificação e inclusão), foram críticas na obtenção dos resultados.

Nos trabalhos de Trigo (2004), Measey (2001) e Bjorndal *et al.* (2003), estas dificuldades foram relatadas. Measey (2001) e Bjorndal *et al.* (2003) submeteram 40 espécimes, sendo que alguns sofreram danos e foram excluídos da análise. Bjorndal *et al.* (2003) utilizaram a mesma preparação histológica de ZUG *et al.* (1986), e 12,5% das amostras sofreram danos, enquanto Measey (2001) utilizou uma metodologia diferente da proposta original e 25% dos ossos não puderam ser lidos e medidos adequadamente, sendo descartados na análise. Os autores desses trabalhos não esclareceram em que parte da metodologia, quais foram os danos e quais as possíveis causas.

Trigo (2004) em seu trabalho, assim como Measey (2001), não utilizou a metodologia original proposta por Zug *et al.* (1986) e cerca de 50% das amostras utilizadas não puderam ser analisadas. Trigo (2004) relatou que os ossos utilizados em seu trabalho, inicialmente demonstravam estarem totalmente descalcificados, mas após a inclusão na parafina, o material apresentava uma consistência muito mais resistente do que aquela observada no final do processo de descalcificação. Ao serem cortadas no micrótomo, as secções se dilaceravam ou se partiam, impossibilitando, assim, cortes satisfatórios para análise. A dificuldade relatada por Trigo (2004) foi observada na execução do presente trabalho, como descrito anteriormente, os 16 úmeros demonstram-se rígidos no processo de corte em micrótomo, se partindo ou impossibilitando cortes satisfatórios para as etapas seguintes, e subsequente análise.

Duas hipóteses foram propostas, a primeira seria a de que problemas na fase de descalcificação do material estariam afetando o restante do processamento e a segunda, estaria relacionada à fase posterior à descalcificação, clarificação e inclusão (TRIGO, 2004).

4.3.1 Descalcificação

Em 16 secções ósseas foi constatado o enrijecimento inadequado do material e, inicialmente, supôs-se que o problema estaria na descalcificação. No presente trabalho, o ácido de escolha foi o ácido nítrico a 10%, que é o descalcificador mais empregado nos trabalhos de esqueletocronologia no grupo dos anfíbios e répteis (CASTANET *et al.*, 1988; CASTANET *et al.*, 1996; MEASEY, 2001). Nos trabalhos mencionados acima, as concentrações dos descalcificadores variaram de 2,5% até 10%. Para este trabalho, utilizou-se este ácido na concentração de 7% e 10%. Na solução de ácido nítrico a 7%, as secções levavam aproximadamente 14 dias para descalcificar, mas quando seguiam para etapa de corte em micrótomo, o material ainda se encontrava resistente à realização dos cortes, mesmo já aparentemente descalcificado. Optou-se, então, por elevar a concentração para 10% do ácido nítrico, e foi possível descalcificar as secções ósseas em um período máximo de uma semana (7 dias). Em dois casos, citados anteriormente, em que o tempo se excedeu, os ossos amoleceram ao ponto de se desfazer na solução.

Preece (1972) alerta que períodos muito extensos de submissão dos ossos aos compostos descalcificadores podem afetar a estrutura das células do tecido e, por isso, bons detalhes histológicos e citológicos não podem ser esperados. Segundo a mesma autora, o período ideal de descalcificação de um tecido é de 24 a 48 horas, não sendo aconselhável que este seja prolongado por mais de quatro dias. Todavia, ela admite que alguns ossos muito densos possam levar 14 dias ou mais para uma completa descalcificação. Preece (1972) sugere, também, que a solução ácida seja trocada diariamente ou até duas vezes por dia.

De acordo com Trigo (2004) que utilizou várias soluções ácidas, mas quando utilizado o ácido nítrico, a sua escolha foi pelo ácido na concentração de 5%, o autor relatou que as secções ácidas levavam aproximadamente 30 dias para a descalcificação ideal. No presente trabalho, assim como Trigo (2004), o período de descalcificação necessitou de um tempo superior àquele sugerido nos trabalhos com alguns anfíbios e répteis (CASTANET *et al.*, 1988; CASTANET *et al.*, 1996; MEASEY, 2001). Este período, que varia de 2 a 10 horas para falanges (MEASEY, 2001), excedeu 7 dias. A diferença no tempo de descalcificação, neste caso poderia ser devido à diferença de dimensões dos materiais, visto que as secções dos ossos das tartarugas são maiores que a falange dos anfíbios e lagartos. Em relação ao descrito por Trigo (2004), a necessidade do período ainda maior, podemos justificar ao fato da concentração utilizada pelo referido autor ser menor (5%) que o utilizado no presente trabalho.

A etapa de descalcificação é uma fase crítica, senão a mais crítica na obtenção dos resultados para análise, visto que é necessário encontrar o tempo ideal para a descalcificação satisfatória, onde os ossos serão cortados, sem que ofereçam resistência no micrótomo, em contra partida não podem exceder o tempo de descalcificação ao ponto de amolecerem demasiadamente, dissolvendo o material na solução. Logo, este tempo ideal é, de certa forma, difícil de ser obtido, visto que as amostras se diferenciam umas das outras, variando de animal para animal e de tamanho de indivíduo.

4.3.2 Inclusão

Nas etapas subsequentes, a descalcificação, também, foi laboriosa, existindo a possibilidade de que problemas referentes ao corte dos ossos em micrótomo serem causados pela preparação, ou seja, todo processo necessário à inclusão do material em parafina (desidratação, clarificação e inclusão). Segundo Preece (1972), as etapas de desidratação em álcool, clarificação em xilol e inclusão em parafina tendem a enrijecer os tecidos à medida que estes passam de uma etapa para outra da preparação. Dificuldades na realização de cortes podem ser devido ao tratamento prolongado em altas concentrações de álcool etílico, ou em certos agentes clareadores, ou ainda, na parafina.

Todas as etapas são graduais e importantes, pois, é a partir da execução destas que o tecido pode ser cortado no micrótomo. Como a parafina funciona como meio de sustentação ao tecido, ela precisa penetrá-lo de maneira eficiente, e para que isso ocorra, todas as etapas anteriores à inclusão devem ser realizadas (Preece, 1972).

O enrijecimento do material é bastante importante para uma grande quantidade de tipos de tecidos, visto que estes seriam muito frágeis para serem cortados no micrótomo. Infelizmente, este enrijecimento parece ter influenciado de maneira negativa a preparação histológica dos ossos no presente trabalho e é descrito, também, por Trigo (2004) em sua metodologia.

Para tanto, tem-se desenvolvido metodologia alternativa, com preparações totalmente diferentes daquelas sugeridas por Zug *et al.* (1986). A realização de um procedimento utilizando micrótomo de congelação vem sendo desenvolvida por um grupo de pesquisadores (LENZ, 2013). O uso deste tipo de equipamento já foi relatado no trabalho de Castanet *et al.* (1988) em estudo com tuatara (*Sphenodon sp.*) e parece ter fornecido bons resultados. A principal vantagem desta nova metodologia é a supressão de toda etapa de inclusão, que parece ser bastante crítica na preparação dos tecidos.

4.3.3 Coloração

Além das dificuldades na preparação anterior ao corte, na coloração alguns processos e procedimentos foram importantes, tanto para obter uma coloração ideal, como para a manutenção dos cortes nas lâminas durante os banhos.

O tempo de coloração nos corantes foi um fator que de forma importante afetou a qualidade da delimitação das linhas. Tempos de coloração utilizados em outros tipos de técnicas (2 a 3 min, MCMANUS & MOWRY, 1960; TRIGO, 2004) se mostraram menos efetivos para a detecção das linhas (Figura 11). As técnicas com períodos maiores de exposição ao corante (10 a 15 min, BANCROFT & STEVENS, 1977, TRIGO, 2004) resultaram em maior nitidez nas linhas (Figura 11). Quanto à utilização dos corantes, no presente trabalho foi utilizado Hematoxilina / Eosina de Harris, proposta nas metodologias de Zug *et al.* (1986); Trigo (2004) e foi possível obter bons resultados, como já relatados por esses autores.

Em alguns casos, durante o processo de coloração, o tecido se desprendia da lâmina, o que implicava na necessidade de retornar à etapa de microtomia para obtenção de outros cortes, que de certa forma, prejudicou muito na dinâmica do experimento. Para tal implicação houve a necessidade de utilizar lâminas comercialmente silanizadas (*Star Frost advanced adhesive*) que possibilitaram maior adesão dos cortes à superfície. Não foi encontrado qualquer tipo de relato quanto a essa implicação em outros trabalhos, no entanto, na metodologia empregada por Trigo (2004) este descreve fórmulas de lâminas silanizadas. Lenz (2013), em sua metodologia, relata a utilização de lâminas com glicerina a 100%, sem maiores detalhes do porquê de sua utilização.

As dificuldades relacionadas à aplicação de uma determinada metodologia são muitas vezes omitidas na maioria dos trabalhos. A metodologia proposta por Zug *et al.* (1986) tornou-se difícil de ser aplicada, visto que as instruções sobre a realização dos procedimentos não são suficientemente claras, faltando explicações sobre tempos de exposição das amostras aos produtos, bem como informações de volume adequado, soluções e a periodicidade de troca desta, entre outros aspectos essenciais.

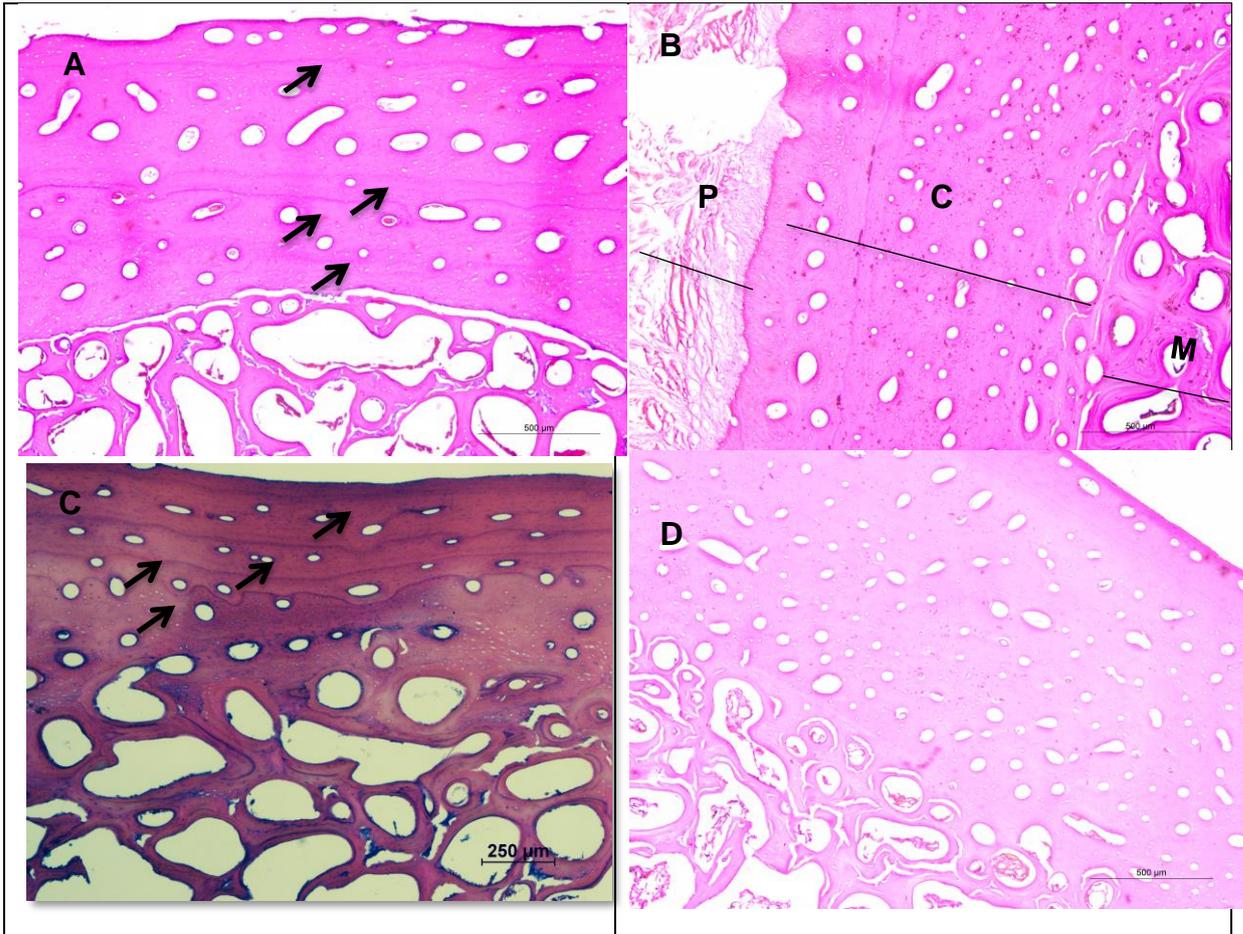


Figura 11: Fotomicrografia dos cortes transversais de úmero de *Chelonia mydas* (HE). (A) visão geral do corte transversal do úmero do indivíduo de número (CO0020) demonstrando a presença de quatro linhas de crescimento ósseo (setas). (B) Corte transversal do úmero do indivíduo de número (CO0023) com indicação das regiões medular (M), cortical (C) e do periósteo (P). (C) Corte transversal do úmero do indivíduo de número (CO003) com quatro linhas de crescimento ósseo. As linhas se exibiam bem nítidas (D) Corte transversal do úmero do indivíduo de número (CO0033). As linhas não se apresentavam nítidas.

4.3.4 Visualização das linhas de crescimento ósseo

As marcas de crescimento foram evidenciadas em 39 indivíduos dos 41 exemplares de tartaruga-verde, sendo que algumas dificuldades foram detectadas no decorrer da avaliação das linhas. Em alguns casos, as linhas não foram observadas nitidamente, com a necessidade de novos recortes e colorações. Nesses exemplares, as marcas puderam ser visualizadas da região medular e algumas no córtex até a margem do periósteo, onde se distinguiram zonas claras e espessas, intercaladas por linhas estreitas escuras. O número de linhas observadas nestes exemplares variou de um a seis (Figura 12) (Apêndice II).

Trigo (2004), em seu trabalho, evidenciou nitidamente as marcas de crescimento em 11 dos 25 indivíduos analisados e relacionou ao fato dos animais da sua região apresentarem bagagens genéticas diferentes, além de estarem em áreas de forrageio, podendo ser provenientes de ambientes tropicais que, segundo Bjorndal *et al.* (1998), são ambientes que podem sustentar um crescimento e deposição óssea contínuas, impossibilitando a deposição das marcas de crescimento.

A ausência ou presença variável de marcas de crescimento, em uma mesma população, tem sido documentada em alguns estudos (BJORNDAL *et al.*, 1998; ZUG *et al.*, 1986; ZUG & GLOR, 1998).

Os trabalhos de Zug *et al.* (1986) e Bjorndal *et al.* (1998) apresentaram algumas hipóteses para a ausência das linhas. O primeiro autor sugeriu que exemplares de *Caretta caretta* capturados na Geórgia, EUA, que não apresentavam linhas de crescimento, poderiam ser migrantes de ambientes tropicais. Sendo assim, o comportamento migratório das tartarugas marinhas pode afetar significativamente o número e periodicidade de linhas depositadas e induzir a uma baixa qualidade nas estimativas de idade derivadas das contagens de linhas de crescimento, tanto ao nível individual quanto populacional. Bjorndal *et al.* (1998) apontam a influência de climas tropicais, sem grandes flutuações térmicas e de produtividade, como causa para a não deposição de linhas de crescimento, visto que esta população de tartaruga-verde habita a região das Bahamas, no Caribe.

O mecanismo de formação das linhas não foi suficientemente estudado até hoje. Entretanto, segundo Enlow (1979), o córtex ósseo das tartarugas é formado por uma estrutura “laminar” típica. Ele é composto por vastas lâminas, circunferencialmente arranjadas, cada qual contendo uma fileira de canais vasculares primários. Esta laminação cortical é resultado de um crescimento intermitente, ou seja, não contínuo, apresentando interrupções ou suspensões. Nos indivíduos muito novos, entretanto, o córtex é composto, usualmente, por uma lâmina única contendo vários canais primários. Para o referido autor, o comportamento cíclico de crescimento do esqueleto parece estar relacionado a fatores sazonais que determinam a atividade de crescimento em geral. A laminação cortical seria o resultado de tal periodicidade sazonal de crescimento. Já Castanet & Smirina (1990) sugerem que a deposição anual seria resultado de ciclos endógenos reforçados pela sincronização com ciclos ambientais. Estes autores

sugerem que sobre condição de contrastante sazonalidade, as linhas apresentam-se fortemente visíveis. Já em ambientes com condições climáticas mais constantes, estas linhas podem se apresentar menos evidentes.

Com base nos dados adquiridos a partir de estudos relatados anteriormente, em alguns ossos analisados, a visualização das linhas foi, de certa forma, dificultada, sendo assim, podemos sustentar a hipótese de que essas linhas de crescimento ósseo que não estavam satisfatoriamente evidentes podem estar relacionadas ao crescimento e deposição óssea contínua, impossibilitando a deposição das marcas de crescimento.

4.4. Estimativa de idade para a população de *Chelonia mydas* no litoral do Rio de Janeiro.

Um total de 41 tartarugas-verdes tiveram os úmeros submetidos à análise. Estes animais apresentaram CCC variando entre 31,2 e 60,5 cm (média = $41,5 \pm 5,8$) (Figura 10) (Apêndice II), sendo uma amostra representativa da população registrada na área. Entretanto, somente 39 indivíduos tiveram a idade estimada, duas seções de úmero foi conservativamente descartada devido a problemas durante o processamento. Todos os animais analisados retinham o annulus, marcas difusas que representam o final do primeiro ano de crescimento. Os indivíduos analisados apresentaram de 1 a 6 linhas de crescimento ósseo, com base nos estudos já realizados e supondo que estas linhas representam a idade em anos, e sendo observado o annulus nas amostras, estima-se que a população de *cheloniamydas* analisadas apresentavam idade de 1 a 6 anos de vida (Figura 12).

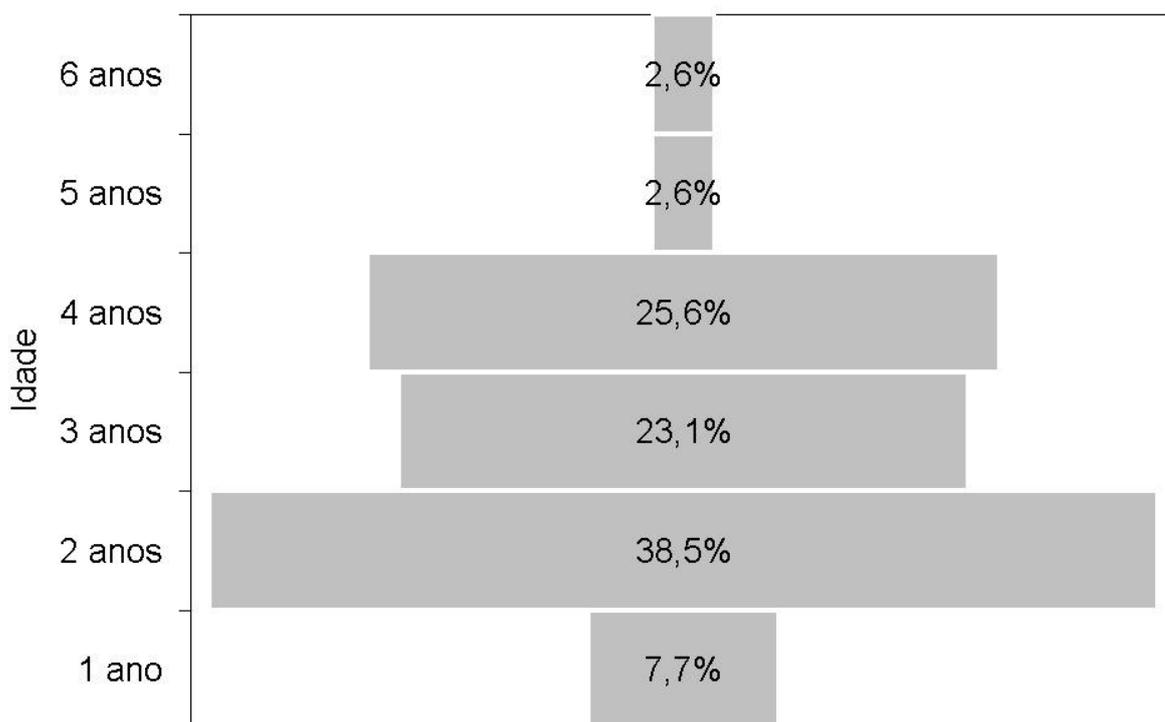


Figura 12: Distribuição de idade das tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) analisadas através de esqueletocronologia provenientes do litoral do Rio de Janeiro.

Nos indivíduos estudados pôde-se observar que o valor do comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) é equivalente ao número de linhas de crescimento ósseo, quanto maior o CCC maior é o número de linhas (Figura 13) (Apêndice II). Nos espécimes que apresentam comprimento curvilíneo de carapaça de 32 a 39 cm foi possível a visualização de duas linhas de crescimento ósseo, os indivíduos com CCC > 39,1cm e < 43 cm exibiam três linhas de crescimento, os indivíduos com CCC > 43 cm e < 51 apresentavam quatro linhas de crescimento e com CCC > 60 cm, em um único exemplar foi possível visualizar seis linhas de crescimento ósseo (Figura13) (Apêndice II).

Comparando com trabalhos realizados no Havaí (ZUG & BALAZS, 1985) e Rio Grande do Sul, no Brasil, (TRIGO, 2004) relataram a ocorrência de um animal de 33 cm com idade conhecida de dois anos, e outro de 45 cm com quatro anos de idade, podemos dizer que seus resultados são concordantes com o resultado obtido no presente estudo, visto que a mesma idade foi observada em indivíduos com 33 e 45 cm na população do litoral fluminense do Rio de Janeiro.

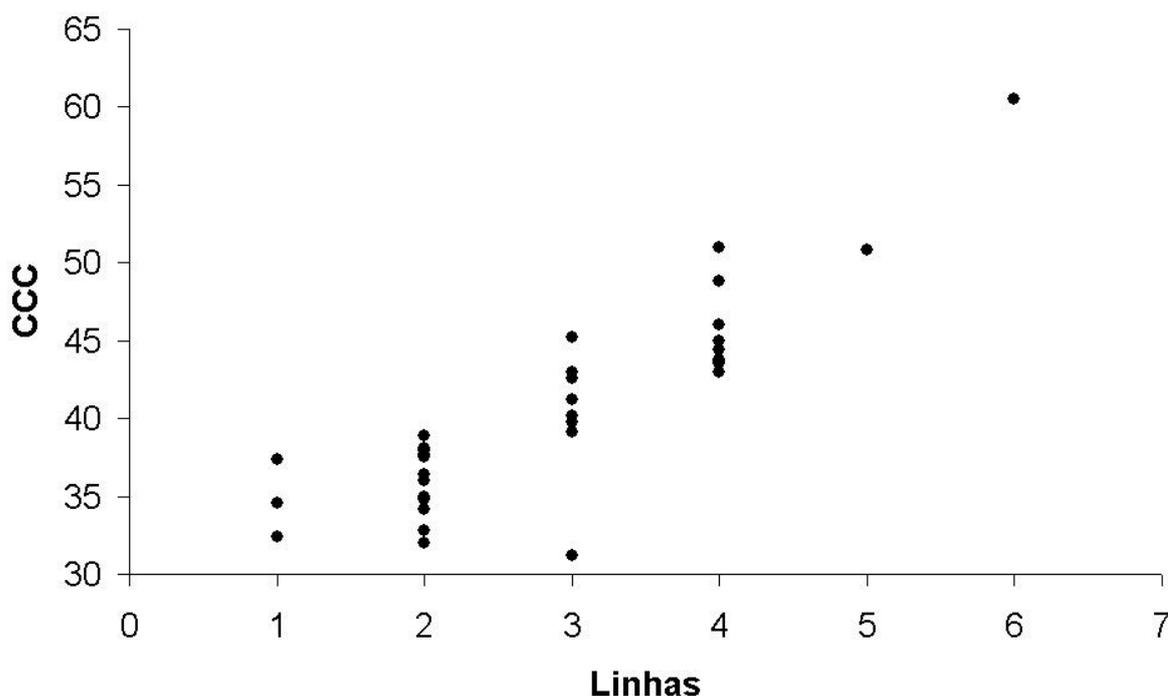


Figura 13: Distribuição de idade e comprimento curvilíneo de carapaça das tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) analisadas através de esqueletocronologia provenientes do litoral do Rio de Janeiro.

Os indivíduos CO004, CO0012, CO0017, CO0022, CO0041 e CO00 29 (Figura 13) (Apêndice II) apresentaram comprimento curvilíneo de carapaça relativamente desigual aos dados citados anteriormente. Essa disparidade pode estar relacionada ao fato de que somente anos completos podem ser estimados a partir das linhas de crescimento ósseo, sendo que na faixa etária de um indivíduo, os meses são relevantes e a partir da técnica de esqueletocronologia, a faixa de tempo relacionada aos meses de vida não é delimitada, logo, indivíduos com os mesmos comprimentos curvilíneos de carapaça podem apresentar idades diferentes.

De acordo com Trigo (2004), dois casos de disparidade foram relatados, onde dois animais possuíam apenas uma linha de crescimento ósseo e seu comprimento curvilíneo de carapaça não se encontrava equivalente, como no presente trabalho. Trigo (2004) levou em consideração os meses de vida que estavam implícitos na avaliação das linhas de crescimento.

Outro fator já descrito anteriormente são as taxas de crescimento de tartarugas-verdes que são altamente variáveis, tanto entre populações como dentro de uma mesma população, podendo ser influenciadas por genótipo, sexo, qualidade do *habitat*, temperatura da água e dieta (BJORNDAL & BOLTEN, 1988).

Em cativeiro, as tartarugas-verdes são fisiologicamente capazes de crescer rapidamente e de atingir a maturidade sexual com cerca de 8 a 11 anos (WOOD & WOOD, 1993), Enquanto o crescimento na natureza é considerado mais lento, com as estimativas de maturidade sexual variando de 18 a mais de 30 anos nas diferentes populações da espécie (LIMPUS & WALTER, 1980; FRAZER & EHRHART, 1985; FRAZER & LANDNER, 1986; EHRHART & WITHAM, 1992).

Após o nascimento, todas as tartarugas movem-se imediatamente para o mar e permanecem no ambiente pelágico por um período variável de alguns anos, quando recrutam ativamente para *habitats* de desenvolvimento neríticos em zonas temperadas ou tropicais (MUSICK & LIMPUS, 1997).

A partir de vários anos de pesquisa, Carr (1987) observou que as jovens tartarugas-verdes, ao entrarem no mar, inicialmente nadam por várias horas e, após este período de grande atividade, passam a ser carregadas por correntes que as levam para regiões em alto mar, onde são encontradas associadas a aglomerados flutuantes de algas, principalmente *Sargassum*, permanecendo ali por longos períodos de tempo. Estes emaranhados de algas agregam uma biota diversificada, propiciando tanto alimento como abrigo para as tartarugas jovens (CAAR, 1987). Segundo Witherington (1993), a abundância da fauna animal encontrada nos aglomerados de *Sargassum* proporciona às jovens tartarugas uma rica fonte de alimento através da qual o animal estoca um mínimo de recurso para a atividade, salvando, assim, grande parte deste para o crescimento. Por esse motivo, as tartarugas apresentam altas taxas de crescimento nesta fase de seu ciclo de vida. Pouco ainda é conhecido sobre o estágio de vida pelágico, tradicionalmente chamado “anos perdidos”, para a maioria das espécies de tartarugas marinhas (BOLTEN, 2003). Segundo Zug & Glor (1998), a mudança do *habitat* pelágico para o costeiro, em tartarugas-verdes na costa Atlântica da Flórida, se dá quando atingem um tamanho mínimo de 28 cm. Estes autores, através do uso da esqueletocronologia, estimaram que os animais chegam ao ambiente costeiro com idade entre 3 e 6 anos.

No presente trabalho, podemos verificar que animais entre 30 e 60 cm apresentaram idades variando de 1 a 6 anos, logo, podemos inferir que as menores tartarugas-verdes encontradas no litoral fluminense do Rio de Janeiro estão em um estágio de recrutamento do ambiente pelágico para o ambiente nerítico, o que parece ocorrer entre 2 e 6 anos ao atingirem cerca de 30–50 cm de comprimento. A

idade de recrutamento identificada neste estudo não difere da de outras áreas do Atlântico estudadas na Flórida central (3–6 anos, ZUG & GLOR, 1998), Bahamas (3–5 anos, REICH *et al.*, 2007), costa leste dos Estados Unidos (1–7 anos, GOSHE *et al.*, 2010), e população do Rio Grande do Sul no Brasil, (3 a 5 anos, TRIGO, 2004), (2-8 anos, LENZ, 2013). Contudo, no Pacífico, as tartarugas-verdes parecem recrutar um pouco mais tarde para o ambiente nerítico, aos 6–9 anos e com um tamanho maior que as tartarugas do Atlântico (Zug *et al.*, 2002).

Alguns indivíduos da população estudada aqui apresentaram idades de 1 e 2 anos, os quais não foram encontrados na população da Flórida (ZUG & GLOR, 1998), mas foram observados nos da população do Rio Grande do Sul (TRIGO, 2004), que os relacionou ao fato de possivelmente apresentarem maior taxa de crescimento nas tartarugas em seu estudo, no qual os espécimes atingiram um mesmo comprimento que as tartarugas de outra população em menos tempo.

Sabe-se que tartarugas-verdes podem mover-se ao longo de uma série de *habitats* de desenvolvimento e alimentação ao longo do seu crescimento (HIRTH, 1997), o que parece ocorrer no litoral do Brasil. Ao longo da costa brasileira existem registros de indivíduos juvenis em áreas de alimentação com um intervalo de tamanho mais amplo do que o registrado aqui (estado da Paraíba: CCC médio = 56,5 cm, variando entre 26 cm até adultos, Mascarenhas *et al.*, 2005, estado de São Paulo: média 40,6 cm, variando entre 27 e 96 cm, GALLO *et al.*, 2006).

De acordo com os dados exibidos, podemos sugerir que as áreas de alimentação da região sul e sudeste são habitadas por indivíduos menores que os encontrados na região nordeste, com a possibilidade de pequenos juvenis da costa sul, sudeste migrarem para áreas ao norte ao atingir cerca de 50 cm.

4.5 Correlação entre biometria e linhas de crescimento ósseo

A relação entre as biometrias, comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), largura curvilínea de carapaça (LCC), comprimento total (CT), e o número de linhas de crescimento dos indivíduos, foi testada com a utilização de coeficiente de correlação. Os valores obtidos revelaram-se significativos (Tabela I), indicando a existência de uma forte correlação positiva entre CCC, LCC e CT e o número de linhas de crescimento dos indivíduos. Foram utilizados somente 28 exemplares que possuíam todos os dados referentes à CCC, LCC, CT e número de linhas.

Variável	Variável	Observações	Correlação	T	Significância
CCC	LINHAS	38	0,8708	10,6	<0,0001
LCC	LINHAS	35	0,8192	8,2	<0,0001
CT	LINHAS	29	0,9200	12,2	<0,0001

Tabela 1: A relação entre as biometrias, (CCC), (LCC), (CT), e o número de linhas de crescimento dos indivíduos testados, com a utilização de coeficiente de correlação, com os resultados significativos.

A relação entre o comprimento curvilíneo de carapaça, largura curvilínea de carapaça, comprimento total e os números de linhas de crescimento ósseo foi também caracterizada pela equação de regressão linear e múltipla, que permitiu estimar o número de linhas em função das variáveis (CCC, LCC, e CT).

Equação 1

$$\hat{Y} = 0,0657834.X_1 + 0,0468411.X_2 + 0,0558545.X_3 - 4,75659$$

(R² ajustado = 88,3%; P < 0,0001; n= 28)

Sendo:

\hat{Y} = número estimado de linhas

X₁ = CCC

X₂ = LCC

X₃ = CT

A partir da equação de regressão linear múltipla (equação 1), foram obtidos os valores reais e estimados para o número de linhas de crescimento ósseo, com grau de acerto de 85,7% (Tabela II).

CCC	LCC	CT	Número de linhas			Precisão
			Real	Estimado (1 casa)	Estimado (inteiro)	
51,0	43,0	68,0	4	4,4	4	Ok
38,9	36,9	49,0	2	2,3	2	Ok
48,8	45,8	69,0	4	4,5	4	Ok
50,8	49,3	69,1	5	4,8	5	Ok

60,5	54,5	75,9	6	6,0	6	Ok
43,8	37,0	62,1	4	3,3	3	-1
39,1	38,9	53,0	3	2,6	3	Ok
39,8	43,0	53,0	3	2,8	3	Ok
39,8	35,5	55,8	3	2,6	3	Ok
37,7	35,4	52,4	2	2,3	2	Ok
34,6	32,0	44,6	1	1,5	2	1
43,5	39,5	57,6	4	3,2	3	-1
38,1	34,4	53,8	2	2,4	2	Ok
36,0	33,0	49,0	2	1,9	2	Ok
36,4	33,8	50,0	2	2,0	2	Ok
32,4	29,0	45,6	1	1,3	1	Ok
41,2	39,2	57,6	3	3,0	3	Ok
38,1	34,4	53,8	2	2,4	2	Ok
40,2	35,2	57,0	3	2,7	3	Ok
37,5	34,0	53,5	2	2,3	2	Ok
34,2	31,7	46,4	2	1,6	2	Ok
32,8	30,7	45,7	2	1,4	1	-1
42,6	37,5	57,5	3	3,0	3	Ok
34,8	38,3	53,5	2	2,3	2	Ok
43,0	32,2	62,0	3	3,0	3	Ok
38,0	34,0	53,1	2	2,3	2	Ok
45,2	42,2	54,4	3	3,2	3	Ok
35,0	35,5	48,2	2	1,9	2	Ok

Tabela 2: Resultados obtidos a partir da equação de regressão linear e múltipla, com os valores reais e estimados a partir da equação linear múltipla, com grau de acerto de 85,7%.

Cada variável (CCC, LCC e CT) foi testada separadamente para obtenção do coeficiente de correlação. A relação entre comprimento curvilíneo de carapaça, biometria com maior número de registro $n=38$ e o número de linhas de crescimento ósseo evidenciou correlação positiva, com valor de $r=0,8708$, que se apresentou significativa ($P<0,0001$, $t=10,6$), indicando a existência de forte correlação positiva. Em todos os casos a relação foi linear (figura 14).

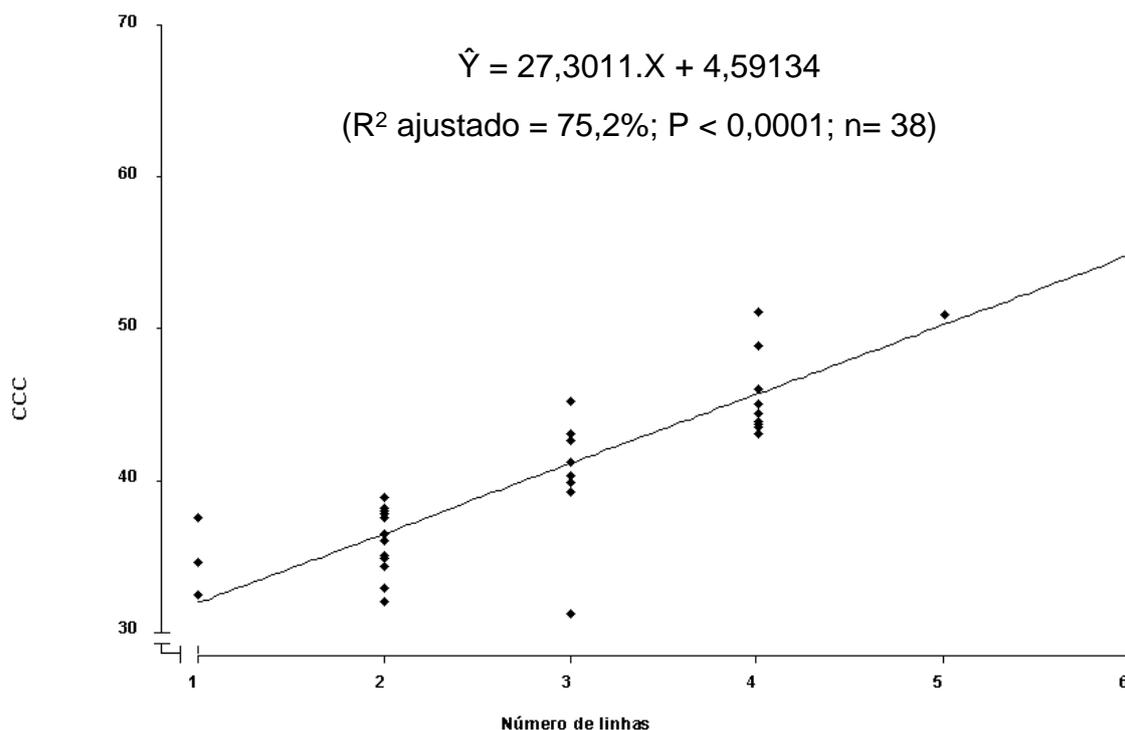


Figura 14: Correlação entre o número de linhas de crescimento no úmero e o comprimento curvilíneo da carapaça (ccc) de *Chelonia mydas* no litoral fluminense do Rio de Janeiro.

A relação entre o comprimento curvilíneo de carapaça e os números de linhas de crescimento ósseo foi também caracterizada pela equação de regressão:

Equação (2):

$$\hat{Y} = 27,3011.x + 4,59134,$$

Sendo:

\hat{Y} = CCC estimado

X_1 = número de linhas

A partir da verificação da correlação positiva, pode-se gerar uma equação (equação 2) para predição do comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) a partir do número de linhas de crescimento $r^2 = 75,2\%; p < 0,0001$.

A partir da relação entre variáveis indica que a contagem de linhas não apresenta um padrão aleatório e corrobora a hipótese do presente trabalho e as já estabelecidas (ZUG *et al.*, 1986; CASTANET *et al.*, 1982, TRIGO, 2004; LENZ, 2013; GOSHE *et al.*, 2010) de que representa uma deposição cíclica relacionada à idade em anos, e nos dá respaldo para subsequente retrocálculo do número de linhas a partir da biometria. Admitindo-se que, tanto para *Chelonia mydas* quanto

para vários grupos de anfíbios e de outros répteis já estudados, estes ciclos de crescimento nos ossos sejam anuais, é possível sugerir então que as tartarugas encontradas no litoral fluminense do Rio de Janeiro, mais especificamente, entre as praias de Paraty a Saquarema, possuem uma idade que varia de 1 a 6 anos.

5. CONCLUSÃO

A partir do presente trabalho, com análise das tartarugas marinhas de espécie *Chelonia mydas* encalhadas nas praias de Paraty a Saquarema, compreendendo o litoral fluminense do Rio de Janeiro, no período de 2016 a 2017, podem-se ter as seguintes conclusões:

Os indivíduos encalhados apresentam comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), variando de 31,2 a 60,5 centímetros, sendo o comprimento médio de 40,5 centímetros.

A população de *Chelonia mydas* que habita o litoral do Rio de Janeiro é constituída, em sua maioria, por indivíduos juvenis. Não se pode dizer na totalidade, pois outras áreas ainda devem ser estudadas.

A técnica histológica pioneira utilizada por Zug *et al.* (1986) apresentou inúmeros problemas e dificuldades de execução que não foram descritas de forma explícita em outros trabalhos que utilizaram a metodologia em questão.

Nos 39 dos 41 indivíduos analisados, foi possível observar uma variação de 1 a 6 linhas de crescimento ósseo, como todos apresentavam “annulus”, foi constatado que os exemplares de *Chelonia mydas* apresentavam idades de 1 a 6 anos de vida, o que corrobora outros trabalhos quando relacionados ao comprimento curvilíneo de carapaça (CCC).

Houve correlação entre as biometrias utilizadas para determinação de estágio de vida (CCC, LCC, CT) e as linhas de crescimento ósseo, logo, a contagem de linhas não apresenta um padrão aleatório.

A partir dos dados obtidos e citados anteriormente e com a elaboração de banco de dados formado pelas variáveis CCC, LCC, CT e linha de crescimento ósseo, foi possível a aplicação de retrocálculo para estimar o número de linhas de crescimento ósseo a partir da biometria das tartarugas-verdes.

Este foi o primeiro registro de linhas de crescimento ósseo, em fêmures de *Chelonia mydas*, assim como a primeira estimativa de idade para população para estes indivíduos no litoral fluminense do estado do Rio de Janeiro.

Populações de tartarugas juvenis estão no estágio inicial de desenvolvimento costeiro, posterior ao estágio de vida pelágico.

Pode-se sugerir que os indivíduos encontrados no litoral fluminense do Rio de Janeiro, litoral gaúcho, áreas do Atlântico Sul, migram para latitudes menores em áreas mais quentes, assim que atingem um tamanho de 50 e 60 cm.

O conhecimento sobre as tartarugas marinhas no Atlântico Sul ainda está em uma fase descritiva, muito esforço, ainda, é necessário para descrição e entendimento dos padrões encontrados, principalmente em áreas de alimentação.

Ressalta-se a necessidade de estudos visando identificar os padrões de uso de *habitat*, deslocamentos sazonais, análise da variação temporal nas taxas de crescimento e identificação da proporção sexual e maturação da população.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALMEIDA A.P., MOREIRA L.M.P., BRUNO S.C., THOMÉ J.C.A., MARTINS A.S., BOLTEN A.B. E BJORN DAL K.A. Green turtle nesting on Trindade Island, Brazil: abundance, trends, and biometrics. **Endangered Species Research** 14, 193–201. 2011.

ATM - Associação para a Proteção, Pesquisa e Conservação das Tartarugas Marinhas nos Países Lusófonos. **Tartarugas Marinhas**. Disponível em: <http://tartarugasmarinhas.pt>. Acesso em: 19 de outubro de 2017.

AVENS L. E GOSHE L.R. Comparative skeletochronological analysis of Kemp's ridley (*Lepidochelys kempii*) and loggerhead (*Caretta caretta*) humeri and scleral ossicles. **Marine Biology** 152(6), 1309–1317. 2007.

AVENS L., GOSHE L.R., HARMS C.A., ANDERSON E.T., HALL A.G., CLUSE W.M., GODFREY M.H., BRAUN-MCNEILL J., STACY B., BAILEY R. E LAMONT M.M. Population characteristics, age structure, and growth dynamics of neritic juvenile green turtles in the northeastern Gulf of Mexico. **Marine Ecology Progress Series** 458, 213–229. 2012.

AVENS L. E SNOVER M.L. Age and age estimation in sea turtles. In Wyneken J., Lohmann K.J. e Musick J.A. (eds.) **The biology of sea turtles, v III**. Boca Raton: CRC Press, pp. 97–134. 2013.

BELLINI, C.; M. A. MARCOVALDI; T.M. SANCHES; A. GROSSMAN & G. SALES. Atol das Rocas Biological Reserve: second Largest Chelonia rookery in Brazil. **Marine Turtle Newsletter**, (72): 1-2. 1995.

BOLTEN A.B. Techniques for measuring sea turtles. In Eckert K.L., Bjorndal K.A., Abreu-Grobois F.A. e Donnelly M (eds.). **Research and Management Techniques for the Conservation of sea turtles**. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication 4, pp. 3–5. 1999.

BOLTEN A.B. Variation in sea turtle life history patterns: neritic vs. oceanic developmental stages. In Lutz P.L., Musick J.A. e Wyneken J. (eds.) **The biology of sea turtles, v II**. Boca Raton: CRC Press, pp. 243–258. 2003.

BOLTEN A.B. Techniques for measuring sea turtles. In Eckert K.L., Bjorndal K.A., Abreu-Grobois F.A. e Donnelly M (eds.). **Research and Management Techniques for the Conservation of sea turtles**. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication 4, pp. 3–5. 1999.

BOULON JR., R.H. & N. B. FRAZER. Growth of wild juvenile Caribbean green turtle, *Chelonia mydas*. **Journal of Herpetology**, 24 (2): 441-445. 1990.

BJORNDAL, K. A. & A.B. BOLTEN. Growth rates of juvenile loggerheads, *Caretta caretta*, in the Southern Bahamas. **Journal of Herpetology**, 22(4): 480-482. 1988.

BRANCROFT, J.D. **Histochemical techniques**. Butterwoth & Co (Publishers) Ltd, London and Boston, 348p. 1975.

CARR, A. Some problems of sea turtle ecology. **American Zoologist**, 20. 489-498. 1980.

CARR, A. New perspectives on the pelagic stage of sea turtle development. **Conservation Biology**, 1 (2): 103-121, 1987.

CARR, A. & D. GOODMAN. Ecologic implications of size and growth in *Chelonia*. **Conservation Biology**, 1 (2): 103-121. 1970.

CASALE, P., CONTE, N., FREGGI, D., CIONI, C. e ARGANO, R. Age and growth determination by skeletochronology in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from the Mediterranean Sea. **Scientia Marina** 75(1), 197–203. 2011.

CASTANET, J. **Recherches sur la Croissance du Tissu Osseux des Reptiles**. Application: Las Methode Squelettochronologique. Doctoral dissertation, University of Paris, VII, 191 pages. 1982.

CASTANET, J. & CHEYLAN, M. Les marques de croissance des os et ecailles comme indicateur de l'age Chez *Testudo Hemanni* et *Testudo graeca* (Reptilia, Chelonia, Testudinidae). **Canadian Journal of Zoology**, 57 (8): 1649-1665. 1979.

CASTANET, J. & SMIRINA, E. Introduction to the skeletochronological method in amphibians and reptiles. **Annales des Sciences Naturelles, Zoologie** 13(11), 191–196. 1990.

CASTANET, J.; FRANCILLON-VIELLOT, H. & BRUCE R.C. Age estimation in Desmognathine salamanders assessed by skeletocronology. **Herpetologica**, 52 (2): 160-171. 1996.

CASTANET, J.; NEWMAN, D.G. & SANT GIRONS, H. Skeletochronological data on the growth, age and population structure of the tuatara, *Sphenodon punctatus*, on Stephens and Lady Alice Island, New Zealand. **Herpetologica**, 44 (1): 25-37. 1998.

COLLAZO, J.A.; BOULON JR. & T.L. TALLEVAST. Abundance and growth patterns of *Chelonia mydas* in Culebra, Puerto Rico. **Journal of Herpetology**, **26 (3): 293-300**. 1992.

CERCHIARI, E. & H.A. ANDRADE. Idade e crescimento da cabrinha *Priomotus punctatus* (Bloch 1797) do sul do Brasil, p. 563-564. *In: Anais da XIII Semana Nacional de Oceanografia*. Itajaí, SC. 2000.

CHALOUPKA, M.Y. & MUSICK, J.A. Age, growth, and population dynamics. In Lutz P.L. e Musick J.A. (eds.) ***The biology of sea turtles***. Boca Raton: **CRC Press**, pp. 233–276. 1997.

CHAN, E.H.; H.C. LIEW & A.G. MAZLAN. The incidental capture of sea turtles in fishing gear in Terengganu, Malaysia. **Biological Conservation**, (43): 1-7. 1988.

CAMARA, I.G 1982. Proposta de procedimento internacional para a conservação das tartarugas marinhas. **FBCN (17), 1982**.

CARR, A. 1952. Handbook of turtle of the United States, Canada and Baja California. Ithaca, New York. Comstock Publ. Assoc., Cornell Univ. Press, 542p.

_____. 1975. The Ascension Island green turtle colony. **Copeia**, **1975 (3): 547-555**.

_____. 1980. Some problems of sea turtle ecology. **American Zoologist**, **20 (1980): 489-498**.

_____. 1987. New Perspectives on the pelagic stage of sea turtle development. **Conservation Biology**, **1 (2): 103-121**.

COLES W.C., MUSICK J. A. E WILLIAMSON L.A. Skeletochronology validation from an adult loggerhead (*Caretta caretta*). **Copeia** 2001(1), 240–242. 2001.

DAM, R.P. Measuring sea turtle's growth, p149-151. In: ECKERT, K.L.; K.A. BJORN DAL; F.A. ABREU-GROBOIS & M. DONNELLY (Eds.) ***Research and Management Techniques for the Conservation of sea turtle***, IUCN/ Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4, 235p. 1999.

D` AMATO, A.F. 1991. Ocorrência de tartarugas marinhas (Testudines: Cheloniidae, Dermochelyidae) no Estado do Paraná (Brasil). **Acta Biologica Leopoldensia**, **13 (2): 105-110**.

DELLMANN, H. D.; BROWM, E. M. **Histologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.

EHRHARDT, N.M. & WITHAM. Analysis of growth of the green sea turtle (*Chelonia mydas*) in the western central Atlantic. **Bulletin of Marine Science**, **50 (2)**: 275-281. 1992.

ENLOW, D.H. The bone of the reptiles, p. 45-80. In: GANS, C.; T.S. PARSONS & BELLAIRS (Eds). **Biology of the Reptilia, morphology**, Volume 1. Academic Press, London, 373p. 1979.

EURELL, J.A; FRAPPIER, B. L. **Histologia veterinária de Dellman**. 6º Ed. São Paulo: Manole, 2012. 400pg.

FRAZER, J. Las tortugas marinas em el oceano Atlântico Sur Occidental. **Serie Divulgacion, Asociacion Herpetologica Argentina**, (2): 2-21. 1984.

FRAZER, N.B. & L.M. EHRHART. Preliminary growth models for green, *Chelonia mydas* and Loggerhead, *Caretta caretta*, turtles in the wild. **Copia**, **1985 (1)**: 73-79. 1985.

FRAZER, N.B. & LADNER. A growth curve for green sea turtles, *Chelonia mydas*, in the Virgin Islands, 1913-14. **Copeia**, **1986 (3)**: 798-802. 1986

GALLO, B.M.G.; S. MACEDO; B.B. GIFFONI; J. H. BECKER & P.C.R. BARATA. 2000. A base do Projeto Tamar-Ibama em Ubatuba (Estado de São Paulo, Brasil): Conservação das tartarugas marinhas em uma área de alimentação, p. 500-502. In: **Anais da XIII Semana Nacional de Oceanografia**. Itajaí, SC.

GERMANO, D.J. & R.B. BURY. Age determination in turtles: evidence of annual deposition of scute rings. **Chelonian Conservation Biology**, **3 (1)**: 123-132. 1998.

GOSHE, L.R., AVENS, L., SCHARF, F.S. & SOUTHWOOD, A.L. Estimation of age at maturation and growth of Atlantic green turtles (*Chelonia mydas*) using skeletochronology. **Marine Biology** **157(8)**, 1725–1740. 2010.

GRAHAM, T.E. Life history techniques, p. 73-95. In: HARLESS, M. & H. MORLOCK (Eds.), Turtles: perspectives and research. **Wiley Interscience**, New York, 695p. 1979

HIRTH, H.F. **Synopsis of the biological data on Green Turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758)**. U.S. Fish and Wildlife Service. 1997.

HIRAYAMA, R. Oldest Known sea turtle. **Nature**, 392:705-708. 1998.

HOHN, A. & S. FERNANDEZ. 1999. Biases in dolphin age structure due to age estimation technique. **Marine Mammal Science**, **15 (4)**: 1124-1132. 1999

IUNC Red List of Threatened Species. Disponível em <http://www.redlist.org/> Acesso em 08 de janeiro de 2018.

JUNQUEIRA, L.C; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

KLINGER, R.C. e MUSICK, J.A. Annular growth layers in juvenile loggerhead turtles (*Caretta caretta*). **Bulletin of Marine Science** **51(2)**, 224–230. 1992.

LENZ, A. J. **Estimativa de idade e crescimento de *Caretta caretta* e *Chelonia mydas* no litoral sul do Brasil através de esqueletocronologia**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 2013.

LIMPUS, C.J. & D.G. WALTER. The growth of immature green turtles (*Chelonia mydas*) under natural conditions. **Herpetologica**, **36** (2): 162-165. 1980.

MARCOVALDI, M.A.; C. BAPTISTOTTE; J.C. De CASTILHOS; B.G.M. GALLO; E.H.S.M. LIMA; T.M. SANCHES & C.F. VIEITAS. Activities by Project TAMAR in Brazilian sea turtle feeding grounds. **Marine Turtle Newsletter**, (80): 5-7. 1998.

MARCOVALDI, M.A. & G.G. MARCOVALDI. Marine turtle of Brazil: the history and structures of projeto TAMAR-IBAMA. **Biological Conservation**, **91**:35-41. 1999.

MARCOVALDI, M.A.; A.C.C.D. SILVA; B.M.G. GALLO; C. BAPTISTOTTE; C.F. VIEITAS; C. BELLINI; E.H.S.M. LIMA; J.C. De CASTILHOS; J.C.A. THOMÉ & T.M. SANCHES. Atuação do Projeto Tamar-Ibama em áreas de alimentação das tartarugas marinhas no Brasil, p. 497-499. In: **Anais da XIII Semana Nacional de Oceanografia**. Itajaí, SC. 2000.

MARQUEZ, R. M. FAO species catalogue: sea turtles of the world. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. **FAO Fisheries Synopsis**, n.125, v.11, p.1-81, 1990.

MATTOX, T. Annular Rings in the Long Bones of Turtles and Their Correlation with Size. **Transactions of the Illinois State Academy of Science**, [1935] **28(2)**: p.255-256. 1936.

MCMANUS, J.F.A. & MOWRY, R.W. **Staining methods Histologic and histotechnical**. Medical Division of Harper & Brothers, New York, USA, 423p. 1960.

MEASEY, G.J.; Growth and age of feral *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales,

U. K. **Journal of Zoology of London**, 255:1-9. 2001.

MOREIRA, L.; BAPTISTOTTE, C.; SCALFONE, J.; THOMÉ, J.C. & A.P.L.S. DE ALMEIDA. Occurrence of *Chelonia mydas* on the Island of Trindade, Brazil. **Marine Turtle Newsletter**, (70): 2. 1995.

MUSICK J.A. E LIMPUS C.J. Habitat utilization and migration in juvenile sea turtles. In Lutz P.L. e Musick J.A. (eds.) **The biology of sea turtles**. Boca Raton: CRC Press, pp. 137–164. 1997.

PANELLA, G. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. **Science**, v.173, p.1124-1127. 1971.

PARHAM, J.F. & ZUG, G.R. Age and growth of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) of coastal Georgia: na assessment of skeletochronological age-estimates. **Bulletin of Marine Science**, v. 61, n. (2), p. 287-304. 1998.

PETERS, A. & VERHOEVEN, K.J.F. Impacto of artificial lighting on the seaward orientation of hatchling loggerhead turtles. **Journal of Herpetology**, v.28, n. 1, p. 112-114, 1994.

PETITET, R. **Idade e crescimento da tartaruga cabeçuda (*Caretta caretta*) no litoral Sul do Rio Grande do Sul**. Dissertação de mestrado, Rio Grande, UFRG, 2010.

POUGH, F.H.; R.M. ANDREWS; J.E. CADLE; M.L. CRUMP; S.H. SAVITZKY & K.D. WELLS. **Herpetology**. New Jersey, USA. Prentice-Hall, inc, 577p. 1998.

PREECE, A. **A manual for histologic technicians**. Little, Brown and Company, Boston, USA, 428p. 1972.

PRITCHARD, P. C. H.. Sea Turtles of the Guianas. **Bolletin of the Florida State Museum**, 13 (2): 84-141. 1969.

_____. **Encyclopedia of tutrles**. T.H.F. Publivations, INC. Ltda, 895p. 1979.

_____. Evolution, phylogeny, and currente status, p. 1-28. In: LUTZ, P. & J.A. MUSICK, (Eds). **The biologia of sea turtles**. Boca Raton, FL., CRC Press, 432p. 1997.

LIMPUS, C.J. & WALTER, D.G. The growth of immature green turtle (*Chelonia mydas*) under natural conditions. **Herpetologica**, 36 (2): 162-165. 1980.

PRITCHARD, P.C.H. & MORTIMER, J.A. Taxonomy, external morphology, and species identification, p. 21-38. *In*: ECKERT, K.L.; BJORDNAL, K.A.; ABREUGROBOIS, F.A. & DONNELLY, M. (Eds.). Research and Management Techniques for the Conservation of sea Turtle. IUCN/SSC **Marine Turtle Specialist Group Publication** n. 4, p. 235, 1999.

PRITCHARD, P.C.H. & P. TREBBAU. The turtle of Venezuela. **Society for the Study of Amphibians and Reptiles**, 414p. 1984.

PROJETO TAMAR. **Tartarugas Marinhas**. Disponível em: <http://www.tamar.com.br>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2018.

Reich K.J., Bjorndal K.A. e Bolten A.B. The „lost years“ of green turtles: using stable isotopes to study cryptic lifestages. **Biology Letters** **3**, 712–714. 2007.

ROMER, A. S. **Osteology of the Reptiles**. Chicago: University of Chicago Press. 772 pages. 1956.

SANTOS, R L. & ALESSI, A.C. **Patologia Veterinária**. Roca: São Paulo, 2017.

SANCHES, T.M. & BELLINI, C. Juvenile *Eretmochelys imbricata* and *Chelonia mydas* in the Archipelago of Fernando de Noronha, Brazil. **Chelonia Conservation and Biology**, n.3, v. 2, p. 308-311. 1999.

SHEEHAN, D.C. & HRAPACHAK, B.B. **Theory and practice of histotechnology**. The C. V. Mosby Company, Saint Louis, USA, 218p. 1973.

SILVA, K.G. & ALMEIDA, E. Monitoramento da ocorrência de tartaruga marinhas no litoral do Rio Grande do Sul (1996), p. 264-266. *In*: **Resumo da XI Semana Nacional de Oceanografia**, Rio Grande, RS, 709p. 1998.

SNOVER, M.L., AVENS L. E HOHN A.A. Back-calculating length from skeletal growth marks in loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. **Endangered Species Research** **3**, 95–104. 2007.

SNOVER M.L. E HOHN A.A. Validation and interpretation of annual skeletal marks in loggerhead (*Caretta caretta*) and Kemp"s ridley (*Lepidochelys kempi*) sea turtles. **Fishery Bulletin** **102**(4), 682–692. 2004.

SNOVER M.L., HOHN A.A., CROWDER L.B. E MACKO S.A. Combining stable isotopes and skeletal growth marks to detect habitat shifts in juvenile loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. **Endangered Species Research** **13**, 25–31. 2010.

SUZUKI, HOWARD K. Studies on the Osseous System of the Slider Turtle. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 109(l):351-410.1963.

TOREZANI E., BAPTISTOTTE C., MENDES S.L. E BARATA P.C.R. Juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) in the effluent discharge channel of a steel plant, Espírito Santo, Brazil, 2000–2006. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** **90 (02)**, 233–246. 2009.

TRIGO, C. C. **Análise de marcas de crescimento ósseo e estimativa de idade para *Chelonia mydas* no litoral do Rio Grande do Sul**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 2004.

WILSON, D.S.; TRACY, C.R. & TRACY, C.R. Estimating age of turtle from growth rings: a critical evaluation of the technique. **Herpetologica**, **59 (2)**: 178-194. 2003.

WITHERINGTON, B.E. Some “lost-year” turtle found, p. 194-197. In: **Precedings of the Thirteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation**. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-341, 281 p. 1993.

Wood F. e Wood J. (1993) Growth curve for captive-reared green sea turtles, *Chelonia mydas*. **Herpetological Journal** **3**, 49–54.

WYNEKEN, J. **The anatomy of sea turtles**. Miami: NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470, 2001. 172p.

ZUG, G.R. & BALAZS, G.H. Skeletocronological age estimates for Hawaiian green turtles. **Marine Turtle Newsletter**, (33): 9-10. 1985.

ZUG, G.R., BALAZS, G.H., WETHERALL, J.A., PARKER, D.M. e MURAKAWA S.K.K. Age and growth of Hawaiian green seaturtles (*Chelonia mydas*): an analysis based on skeletochronology. **Fishery Bulletin** **100**, 117–127. 2002.

ZUG, G.R. e GLOR, R. E. **Estimates of age and growth in a population of green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the Indian River lagoon system**. 1998.

ZUG, G.R. & PARHAM, J.F. Age and growth in leatherback turtles, *Dermochelys coriacea* (Testudines: Dermochelyidae): a skeletochronological analysis. **Chelonias Conservation and Biology**, **2 (2)**: 244-249. 1996.

ZUG, G.R., WYNN A.H. e RUCKDESCHEL C. Age determination of loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, by incremental growth marks in the skeleton. **Smithsonian** **427**, 44 pp. 1986.

Apêndice I- Medidas realizadas para 3 úmeros de *Chelonia mydas* utilizados para análise das marcas de crescimento. A identificação de cada indivíduo através do número de registro no Laboratório de Patologia e Morfologia animal (LMPA). Comprimento curvilíneo de carapaça (ccc) expresso em centímetros e medidas (1 a 12) expressas em milímetros (descrição de realização das medidas no item 3.2).

Nº	úmero	CCC (cm)	1)CM (cm)	2)CL (cm)	3)CPU (cm)	4)CP (cm)	5)LP (cm)	6)CPR (cm)	7)LCDp (cm)	8)LM (cm)	9) LD (cm)	10) Max dc(cm)	11) Min dc(cm)	12) E (cm)
CO003	Esquerdo	43,0	9,7	9,6	1,5	3,5	4,3	1,7	2,9	2,0	3,2	3,1	2,2	0,9
CO004	Esquerdo	31,2	11	10,1	2,0	2,7	4,9	2,1	3,0	2,1	3,8	3,0	2,5	1,0
CO005	Esquerdo	38,9	7,4	7,0	1,4	1,2	3,0	1,1	1,9	1,4	2,6	2,1	1,4	0,6
CO006	Esquerdo	48,80	8,0	8,5	1,3	3,4	3,5	2,0	2,5	1,8	3,0	2,5	1,7	0,7
CO007	Esquerdo	50,80	9,3	8,8	1,4	3,2	4,4	1,7	2,7	1,9	3,3	2,8	2,2	0,9
CO008	Esquerdo	32,0	5,8	5,6	0,8	1,3	2,5	1,0	1,5	1,1	2,2	1,7	1,2	0,5
CO008	Direito	32,0	5,8	5,6	0,7	1,7	2,5	1,0	1,5	1,1	2,1	1,7	1,2	0,5
CO009	Esquerdo	43,0	8,3	7,7	1,4	2,3	3,5	1,9	2,2	1,5	2,9	2,3	1,9	0,7
CO0010	Esquerdo	44,40	9,0	8,4	1,5	2,9	4,0	1,7	2,4	1,7	3,3	2,5	1,9	0,8
CO0011	Esquerdo	60,5	8,3	7,9	1,9	7,9	3,7	1,1	2,3	1,7	3,0	2,3	1,7	0,8
CO0012	Direito	43,80	7,3	7,5	1,1	1,4	3,6	1,1	2,3	1,1	2,7	2,2	2,0	0,9
CO0013	Direito	39,1	7,9	7,4	1,5	1,4	3,4	1,1	2,1	1,5	2,7	2,3	2,5	0,7

CO0014	Direita	43,60	8,3	7,9	1,9	7,9	3,7	1,2	2,3	1,7	3,0	2,3	1,7	0,8
CO0015	Direito	43,60	8,6	8,3	1,4	1,3	3,3	1,1	2,4	1,7	9,3	2,5	1,7	1,0
CO0016	Esquerdo	46,00	9,0	8,4	1,6	2,2	3,9	1,8	2,5	1,7	3,1	2,5	1,9	0,8
CO0017	Esquerdo		-	-	1,4	1,7	3,2	1,4	2,2	1,5	-	2,1	1,7	0,9
CO0018	Esquerdo	39,80	8,8	8,0	1,5	2,1	3,7	1,6	2,9	1,6	3,0	2,0	1,7	0,8
CO0019	Esquerdo		7,7	7,2	1,3	1,8	3,2	1,4	2,2	1,1	2,9	2,2	1,5	0,8
CO0020	Esquerdo	37,90	6,7	6,4	1,1	1,3	3,0	1,1	1,8	1,3	2,5	2,0	1,4	0,7
CO0021	Esquerdo	36,70	6,9	6,4	1,2	1,4	3,0	1,8	1,9	1,9	2,2	1,9	1,5	0,7
CO0022	Esquerdo	34,60	6,5	6,2	1,1	1,2	2,9	1,3	1,8	1,9	2,5	1,9	1,9	0,6
CO0023	Esquerdo	43,50	8,1	7,6	1,8	1,7	3,9	1,6	2,3	1,7	3,2	2,4	2,1	0,8
CO0024	Esquerdo	38,10	6,8	6,5	1,1	1,4	2,8	1,3	2,0	1,4	2,4	1,8	1,4	0,6
CO0025	Esquerdo	45,00	9,5	9,1	1,5	2,0	4,4	1,8	2,9	2,0	3,3	2,6	2,2	1,1
CO0026	Esquerdo	Osso queb.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CO0027	Esquerdo		6,7	6,3	1,1	1,4	2,7	1,1	1,9	1,4	2,3	1,7	1,5	0,6
CO0028	Esquerdo	36,40	6,7	6,4	1,0	1,2	2,9	1,1	1,9	1,4	2,4	1,9	1,4	0,6
CO0029	Direito	32,40	6,1	5,8	1,0	1,0	2,7	1,0	1,7	1,3	2,3	1,8	1,3	0,6
CO0029	Esquerdo	32,40	6,3	5,9	1,0	1,2	2,7	1,2	1,8	1,4	2,3	1,8	0,9	0,6
CO0030	Esquerdo	41,20	7,9	7,5	1,2	1,4	3,4	1,5	2,2	1,6	2,9	2,2	1,6	0,9
CO0031	Direito	38,10	8,1	7,6	1,7	1,7	3,7	1,9	2,3	1,7	3,0	2,2	1,7	0,8

CO0032	Esquerdo	40,20	7,5	7,1	1,1	1,1	3,1	1,4	2,1	1,5	2,8	2,1	1,5	0,7
CO0033	Esquerdo		7,5	7,3	1,4	2,1	3,1	1,5	2,2	1,6	2,6	2,3	1,7	0,8
CO0034	Esquerdo	37,50	6,5	6,2	1,1	1,2	2,9	1,2	2,0	1,9	2,4	2,0	1,5	0,7
CO0035	Esquerdo	34,20	6,2	6,0	1,0	1,4	2,9	1,1	1,8	1,3	2,4	1,9	1,4	0,5
CO0036	Esquerdo	32,80	5,9	5,8	1,0	1,0	2,7	1,1	1,7	1,2	2,2	1,8	1,4	0,6
CO0037	Esquerdo	42,6	8,0	7,5	1,5	1,5	3,6	1,5	2,4	1,6	2,9	2,4	1,7	0,7
CO0038	Esquerdo	34,80	7,2	7,0	1,2	2,3	3,2	1,3	2,1	1,5	2,8	2,1	1,6	0,6
CO0039	Esquerdo	43,00	8,2	7,8	1,8	1,7	3,9	1,5	2,3	1,5	3,1	2,6	2,1	0,8
CO0040	Esquerdo	38,00	6,9	6,6	1,2	1,2	3,1	1,2	1,9	1,5	2,7	2,1	1,5	0,7
CO0041	Esquerdo	45,2	8,6	8,1	1,2	1,7	3,6	1,2	2,4	1,7	2,9	2,5	1,6	0,9
CO0042	Esquerdo	35	6,4	6,0	1,2	1,3	3,0	1,0	1,9	1,3	2,5	2,0	0,8	0,6

Apêndice II - A identificação de cada indivíduo através do número de registro no Laboratório de Patologia e Morfologia animal (LMPA). Comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), largura curvilínea de carapaça (LCC) e comprimento total de carapaça (CT), expresso em centímetros. Marcas de crescimento ósseo, representado a idade de cada indivíduo.

Nº	úmero	CCC (cm)	1)LCC (cm)	2)CT (cm)	3)Nº Linhas	Kg	MATURIDADE SEXUAL	SEXO
CO003	Esquerdo	51,0	43,0	68,0	4	4,6	Juvenil	Macho
CO004	Esquerdo	31,20	29,00	-	3	6,25	Juvenil	Indefinido
CO005	Esquerdo	38,90	36,90	49	2	4,6	Juvenil	Fêmea
CO006	Esquerdo	48,80	45,80	69,0	4	13	Juvenil	Fêmea
CO007	Esquerdo	50,80	49,30	69,10	5	4,05	Juvenil	Fêmea
CO008	Esquerdo	32,0	28,0	-	2	3	Juvenil	Fêmea
CO008	Direito	32,0	28,0	-	2	3	Juvenil	Fêmea
CO009	Esquerdo	43,0	42,0	-	4	3	Juvenil	Fêmea
CO0010	Esquerdo	44,40	41,20	-	4	6,1	Juvenil	Fêmea
CO0011	Esquerdo	60,5	54,5	75,9	6	22,75	Juvenil	Fêmea

CO0012	Direito	43,80	37,0	62,1	4	8,7	Juvenil	Indefinido
CO0013	Direito	39,1	38,9	53	3	6,1	Indeterminado	Fêmea
CO0014	Direito	43,60		-	4	5,25	Juvenil	Indefinido
CO0015	Direito	43,60			4	9,5	Juvenil	Fêmea
CO0016	Esquerdo	46,00	39,50	-	4	7,1	Juvenil	Fêmea
CO0017	Esquerdo	37,40	34,30	47,25	1 *	6,25	Juvenil	Fêmea
CO0018	Esquerdo	39,80	43,00	53,00	3	5,45	Juvenil	Fêmea
CO0019	Esquerdo	39,80	35,50	55,80	3	7,75	Juvenil	Fêmea
CO0020	Esquerdo	37,90	-	-	2	4	Juvenil	Fêmea
CO0021	Esquerdo	37,70	35,40	52,40	2	3,95	Juvenil	Fêmea
CO0022	Esquerdo	34,60	32,00	44,60	1	4	Juvenil	Macho
CO0023	Esquerdo	43,50	39,50	57,60	4	8,68	Juvenil	Fêmea
CO0024	Esquerdo	38,10	34,40	53,80	2	6,3	Juvenil	Fêmea
CO0025	Esquerdo	45,00	48,10	-	4	10,65	Juvenil	Indefinido
CO0027	Esquerdo	36,00	33,00	49,00	2	5,15	Juvenil	Fêmea

CO0028	Esquerdo	36,40	33,80	50,0	2	5,45	Juvenil	Fêmea
CO0029	Esquerdo	32,40	29,00	45,60	1	3,2	Juvenil	Fêmea
CO0030	Esquerdo	41,20	39,20	57,60	3	8,8	Juvenil	Fêmea
CO0031	Direito	38,10	34,40	53,80	2	6,55	Juvenil	Fêmea
CO0032	Esquerdo	40,20	35,20	57,00	3	6,95	Juvenil	Macho
CO0034	Esquerdo	37,50	34,00	53,50	2	5,25	Juvenil	Fêmea
CO0035	Esquerdo	34,20	31,70	46,40	2	4,65	Juvenil	Fêmea
CO0036	Esquerdo	32,80	30,70	45,70	2	4,05	Juvenil	Fêmea
CO0037	Esquerdo					6,95	Juvenil	Fêmea
CO0038	Esquerdo	34,80	38,30	53,50	?	8,8	Juvenil	Fêmea
CO0039	Esquerdo	43,00	32,20	62,00	3	8,05	Juvenil	Macho
CO0040	Esquerdo	38,00	34,00	53,10	2	4,45	Juvenil	Macho
CO0041	Esquerdo	45,2	42,2	54,4	3	6,15	Juvenil	Macho
CO0042	Esquerdo	35,00	35,50	48,20	2	5	Juvenil	Macho

