



Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Biociências  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal  
Curso de Especialização em  
Diversidade e Conservação da Fauna

**Análise da proporção sexual e do  
desenvolvimento gonadal da tartaruga-verde,  
*Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), no litoral norte e  
médio do Rio Grande do Sul**

**Halina Campos Kondak**

Porto Alegre  
2012

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Biociências  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

**Análise da proporção sexual e do desenvolvimento gonadal da tartaruga-verde, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), no litoral norte e médio do Rio Grande do Sul**

**Halina Campos Kondak**  
Dr. Márcio Borges Martins  
Me. Cariane Campos Trigo

Trabalho apresentado no Departamento de Zoologia da UFRGS como pré-requisito para a obtenção de Certificado de Conclusão de Curso Pós-graduação *Lato Sensu*, na área de Especialização em Diversidade e Conservação da Fauna

Porto Alegre  
2012

**Halina Campos Kondak**

**Análise da proporção sexual e do desenvolvimento gonadal da tartaruga-verde, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), no litoral norte e médio do Rio Grande do Sul.**

Trabalho apresentado no Departamento de Zoologia da UFRGS como pré-requisito para a obtenção de Certificado de Conclusão de Curso Pós-graduação *Lato Sensu*, na área de Diversidade e Conservação da Fauna  
Orientador: Dr. Márcio Borges Martins  
Co-orientador: Me. Cariane Campos Trigo

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Clóvis de Souza Bujes  
UFRGS

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Laura Verrastro  
UFRGS

## Resumo

### **Análise da proporção sexual e do desenvolvimento gonadal da tartaruga-verde, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), no litoral norte e médio do Rio Grande do Sul**

No Rio Grande do Sul são encontradas cinco espécies de tartarugas marinhas, todas consideradas ameaçadas de extinção global e regionalmente. O litoral do Estado não apresenta áreas próprias para a desova de tartarugas marinhas, mas é utilizado regularmente por algumas espécies como área de alimentação em certa etapa de seu desenvolvimento. Estudos envolvendo biologia reprodutiva de tartarugas marinhas raramente são realizados com animais juvenis e em áreas de alimentação. Como resultado pouco se sabe a respeito do desenvolvimento gonadal e proporção sexual nestas populações. As tartarugas marinhas, tal como outros répteis, são dependentes da temperatura para a determinação do sexo. Como indivíduos jovens não possuem características externas que possam ser usadas para distinguir o sexo, a sua identificação só pode ser feita a partir de estudos histológicos. Este estudo visa identificar a proporção sexual da população de *Chelonia mydas*, do litoral norte e médio do RS e o estágio de desenvolvimento gonadal, através de análise histológica. Além da análise histológica, as gônadas foram analisadas visualmente quanto a suas características macro morfológicas, com objetivo de testar sua validade na identificação do sexo dos indivíduos. Foram coletadas 23 tartarugas-verdes no período de janeiro de 2011 a abril de 2012. Os indivíduos utilizados nas análises são oriundos do Centro de Reabilitação do CECLIMAR e dos monitoramentos de praia realizados pelo GEMARS. As tartarugas amostradas apresentaram comprimento curvilíneo de carapaça variando de 28.2 a 52.5 cm, com média de 36,8 cm. Com relação à proporção sexual foram identificados 13 fêmeas e 10 machos. As características macro morfológicas das gônadas não se mostraram eficientes na identificação dos sexos, inviabilizando vários dos critérios comumente utilizados. A gametogênese apresentou-se na fase de proliferação e crescimento, com presença inicial de ductos seminíferos em machos e ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento em fêmeas. Foi possível estabelecer três estágios de desenvolvimento dos ovócitos com base na estrutura do citoplasma, sendo o desenvolvimento gonadal considerado concomitante com o crescimento do animal. Os resultados devem ser analisados com cautela, pois o tamanho da amostra se apresenta insuficiente para a realização de algumas relações. Entretanto, os resultados são relevantes para futuros trabalhos de identificação de sexo e proporção sexual.

**Palavras-chave:** Reprodução, área de alimentação, proporção sexual e análise histológica.

# Sumário

<b>Agradecimentos</b> .....	vi
<b>Lista de Figuras</b> .....	vii
<b>Lista de Tabelas</b> .....	viii
<b>Apresentação</b> .....	ix
<b>1 - Introdução</b> .....	10
<b>2 - Materiais e Métodos</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1 – Área de estudo</b> .....	14
<b>2.2 – Material</b> .....	15
<b>2.3 – Metodologia de campo</b> .....	17
<b>2.4 – Análise gonadal</b> .....	17
<b>3 - Resultados</b> .....	19
<b>4 - Discussão</b> .....	27
<b>5 - Referências Bibliográficas</b> .....	31
<b>6 - Anexos</b> .....	37

## Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu orientador Márcio Borges Martins, pela orientação e atenção.

A minha co-orientadora Cariane Campos Trigo, por tornar este trabalho possível, por toda a paciência e dedicação sempre me auxiliando independente da hora que fosse, e pela amiga que se tornou.

A Circe Machado, do laboratório de histologia do departamento de zoologia da UFRGS, pela ajuda na confecção das laminas e pela amizade, fazendo as minhas tardes no laboratório muito divertidas.

A Camila Rigon, do CECLIMAR pela ajuda nas dissecações das tartarugas.

As colegas do laboratório de herpetologia, que me receberam sempre muito bem, em especial a Ana Julia Lenz e a Lidia Martins, pela ajuda e amizade.

A todos os colegas de aula do curso de especialização em Conservação e Diversidade de Fauna, pelos bons momentos das sextas e sábados de aula.

As minhas colegas e acima de tudo amigas Fabiana Müller, Vanessa Scalco, Veridiana Betat e Karen dos Santos, pelo companheirismo não só durante as aulas, mas sempre que precisei.

Aos meus pais, Silvio Kondak e Eliane Campos Kondak, um agradecimento mais que especial, por sempre me apoiarem minhas decisões, por me auxiliarem sempre que precisei, e por serem pessoas maravilhosas.

Ao meu namorado Eduardo de Lima Coelho, que mais do que ninguém teve muita paciência com as minhas reclamações, lamentações, sempre me incentivando a não desistir, pelas nossas conversas sobre as tartarugas que me ajudaram muito e pelo companheirismo durante todo esse trabalho. Muito obrigado!

Aqui vai meu sincero agradecimento a todos que me ajudaram, de alguma forma, nesta conquista.

E por fim que sem elas nada disso seria possível, as tartarugas marinhas por serem seres incríveis que me fascinam.

## Lista de figuras

Figura 1 – Exemplar de <i>Chelonia mydas</i> encalhado no litoral do Rio Grande do Sul. Foto: Rodrigo Baleia.....	11
Figura 2 – Mapa da área de estudo, apresentando o trecho do litoral do Rio Grande do Sul onde foram coletados os indivíduos de <i>Chelonia mydas</i> .....	14
Figura 3 – Distribuição por classes de tamanho dos indivíduos de <i>Chelonia mydas</i> provenientes do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos (CERAM) do CECLIMAR/IB/UFRGS e dos monitoramentos de praia do Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS) entre janeiro de 2011 e abril de 2012.....	19
Figura 4 – Categorias de textura das gônadas de <i>Chelonia mydas</i> analisadas. (A) gônada com textura lisa observada no espécime de nº 2463; (B) gônada com textura granulosa observada no espécime de nº 2845; (C) gônada com textura mista observada no espécime de nº 2292. Fotos: Camila Rigon e Halina Kondak.....	20
Figura 5 – Ducto paramesonéfrico (A) em evidência, na cavidade abdominal do espécime nº 2845. Foto: Halina Kondak.....	21
Figura 6 – Corte histológico de gônada masculina de <i>Chelonia mydas</i> referente ao espécime nº 2463, corado com H/E. (A) túbulos seminíferos. Aumento: 100x. Foto: Halina Kondak.....	22
Figura 7 – Corte histológico de gônada masculina de <i>Chelonia mydas</i> referente ao espécime nº 2463, corado com H/E. (A) túbulos seminíferos. Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.....	22
Figura 8 – Corte histológico de gônada feminina de <i>Chelonia mydas</i> referente ao espécime nº 2464, com presença de ovócitos com citoplasma aumentado. (A) ovócitos homogêneos; (B) vesículas centrais. Aumento: 40x. Foto: Halina Kondak.....	23
Figura 9 – Corte histológico de gônada feminina de <i>Chelonia mydas</i> referente ao espécime nº 2464, com presença de ovócitos com vesículas periféricas (A). Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.....	23
Figura 10 – Corte histológico de gônada feminina de <i>Chelonia mydas</i> referente ao espécime nº 2181. (A) ovócitos homogêneos. Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.....	25
Figura 11 – Corte histológico de gônada feminina de <i>Chelonia mydas</i> referente ao espécime nº 2464. (A) Ovócitos homogêneos com presença inicial de vesículas. Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.....	25
Figura 12 – Corte histológico de gônada feminina de <i>Chelonia mydas</i> referente ao espécime nº 2845. (A) Vesículas periféricas, presença inicial de grânulos. Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.....	26

## Lista de tabelas

Tabela 1 – Caracterização da amostra de <i>Chelonia mydas</i> utilizada neste trabalho. Número de registro nos catálogos de campo do Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS) e Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos (CERAM) do Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CECLIMAR/IB/UFRGS) para cada indivíduo; data de coleta e dados biométricos: comprimento curvilíneo da carapaça (ccc) e largura curvilínea da carapaça (lcc), ambos expressos em centímetros.....	16
Tabela 2 – Categorias de textura gonadal registradas nos 23 indivíduos de <i>Chelonia mydas</i> analisados, divididos em machos e fêmeas.....	20
Tabela 3 – Fase de desenvolvimento das gônadas femininas de <i>Chelonia mydas</i> analisadas, com a descrição do estágio de desenvolvimento gonadal e frequência de ocorrência destas na amostra, relacionada à média do comprimento curvilíneo da carapaça com desvio padrão (ccc - em centímetros).....	24

## **Apresentação**

A apresentação desta monografia segue as regras propostas no Manual de Elaboração de Monografia do Curso de Especialização em Diversidade e Conservação de Fauna. A maneira como os autores são citados no texto, bem como a lista de referências bibliográficas, seguem a Revista Brasileira de Zoologia, estando suas normas de submissão anexadas ao final deste trabalho.

## 1 – Introdução

Atualmente são reconhecidas no mundo sete espécies de tartarugas marinhas, agrupadas em duas famílias (LUTZ 1997): Dermochelyidae e Cheloniidae. Destas, cinco apresentam distribuição circunglobal e ocorrem na costa brasileira: *Dermochelys coriacea* (Linneaus, 1758) da família Dermochelyidae, e *Chelonia mydas* (Linneaus, 1758), *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829), *Caretta caretta* (Linneaus, 1758) e *Eretmochelys imbricata* (Linneaus, 1766) pertencentes à família Cheloniidae (MARCOVALDI & MARCOVALDI 1999).

*Chelonia mydas*, popularmente conhecida como tartaruga-verde (Figura 1), possui carapaça com quatro pares de placas laterais justapostas. Sua coloração é verde-acinzentada e o ventre é branco nas populações do Atlântico; os filhotes possuem o dorso negro e o ventre branco. A cabeça possui um par de placas (ou escudos) pré-frontais e quatro pares de escudos pós-orbitais (MARQUEZ 1990). A carapaça dos animais adultos do Brasil tem medida curvilínea em média de 115,6 cm de comprimento (GROSSMAN 2001; MOREIRA 2003). Os exemplares encontrados no Atlântico e no Pacífico Oriental podem atingir em torno de 230 kg, sendo mais leves aqueles do oceano Índico e do Caribe (PRITCHARD & MORTIMER 1999).

*Chelonia mydas*, assim como as demais tartarugas marinhas, utiliza diferentes tipos de ambientes ao longo de sua vida. Após o nascimento, passam por uma fase pelágica, posteriormente migrando para regiões costeiras ou insulares, onde se alimentam e se desenvolvem até alcançarem a maturidade sexual (CHACON 2004). Os indivíduos desta espécie, quando adultos, percorrem mais de dois mil quilômetros entre áreas de forrageio e reprodução (LOHMAN *et al.* 1996).

Dentre as espécies de tartarugas marinhas, *Chelonia mydas* tem maior distribuição devido ao seu hábito alimentar que tende a herbivoria (MARQUEZ 1990).



Figura 1 – Exemplar de *Chelonia mydas* encalhado no litoral do Rio Grande do Sul. Foto: Rodrigo Baleia.

No Brasil, os principais sítios de reprodução desta espécie situam-se no Arquipélago de Fernando de Noronha (PE), Atol das Rocas (RN) e Ilha de Trindade (ES) (MARCOVALDI & MARCOVALDI 1999), sendo este último o maior no Atlântico Sul onde desovam em média 3.000 fêmeas por ano (SPOTILA 2004). Entretanto, existem registros de desovas esporádicas em alguns pontos no litoral dos Estados do Rio Grande do Norte, Bahia, Sergipe e Espírito Santo (MARCOVALDI & MARCOVALDI 1999). As fêmeas apresentam fidelidade ao local de desova, elas retornam para desovar em locais próximos aonde nasceram (MEYLAN *et al.* 1990).

A tartaruga-verde pode ser encontrada em áreas de alimentação ao longo da costa brasileira até a região Sudeste, e nas Ilhas de Fernando de Noronha e Atol das Rocas (GALLO *et al.* 2000). No Rio Grande do Sul existem registros para toda a costa baseados, principalmente, em encalhes de animais mortos nas praias (LEMA & FERREIRA 1990; MARTINS *et al.* 1996; PINEDO *et al.* 1996; SILVA & ALMEIDA 1998; BUGONI & KRAUSE 2001; MORENO *et al.* 2003). Um registro indica também a ocorrência da espécie no interior da Laguna dos Patos, até a região do Saco de Tapes (SOTO & BEHEREGARAY 1997b).

Atualmente, todas as espécies de tartarugas marinhas estão incluídas nas listas de espécies ameaçadas de extinção em escala mundial. No Brasil estão classificadas como ameaçadas (categorias "Vulnerável" ou "Em Perigo" ou " criticamente em Perigo") na lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN 2001).

Segundo Eckert e colaboradores (1999), a interferência humana em escala global é a causa do colapso das populações destas espécies. As ameaças das atividades humanas impactam todos os estágios do ciclo de vida das tartarugas, desde a perda de áreas de desova e dos habitats de alimentação até a mortalidade na costa e em alto mar pela prática intensa da pesca, tanto artesanal quanto industrial. Estas espécies também são ameaçadas pela carga de resíduos não biodegradáveis e poluentes que os oceanos e zonas costeiras recebem, bem como, pelas mudanças climáticas.

Aspectos relacionados à identificação da proporção sexual constituem importantes parâmetros populacionais. Em se tratando de espécies ameaçadas de extinção, a identificação destes parâmetros torna-se essencial à elaboração de planos de manejo e conservação.

As tartarugas marinhas, assim como muitos outros répteis, não possuem cromossomos sexuais, o que dificulta a identificação do sexo dos indivíduos (GODFREY 2000). Nestes animais, a determinação sexual é dependente da temperatura de incubação (TSD) foi descrita pela primeira vez em lagartos (WIBBELS 2003). Desde então foi demonstrada em uma grande variedade de répteis (KAMEL & MROSOVSKY 2006a; ZBINDEN *et al.* 2007). Em tartarugas marinhas, a TSD foi documentada pela primeira vez em *Caretta Caretta* (YNTEMA *et al.* 1980).

A teoria evolutiva sugere que a proporção sexual deve ser de 1:1, se o investimento parental em ambos os sexos (entre outros fatores) for igual (CHARNOV *et al.* 1989). No entanto, a TSD tem o potencial de produzir uma grande variedade de “sex-ratio” (WIBBELS 2003).

No caso do padrão macho/fêmea de tartarugas marinhas, temperaturas altas produzirão predominantemente fêmeas, enquanto temperaturas baixas produzirão machos (MOROSOVKY *et al.* 1990). Sendo a temperatura pivotal, a qual irá produzir uma proporção equilibrada entre os sexos (KAMEL & MROSOVSKY 2006a; ZBINDEN *et al.* 2007). A temperatura pivotal pode variar entre as espécies e, na mesma espécie, entre populações (GODLEY *et al.* 2002a; WIBBELS 2003). Em geral, temperaturas maiores (acima de 31°C) produzem mais fêmeas, em contrapartida, em temperaturas menores (entre 28 e 30°C) há maior produção de machos (MROSOVSKY *et al.* 1999). As diferenças genéticas entre as diferentes populações de tartarugas e as diferentes condições ambientais das praias, localizadas a latitudes distintas, significam que sejam esperadas diferenças na temperatura pivotal das tartarugas da mesma espécie (WIBBELS 2003).

Nas espécies de tartarugas marinhas, as mudanças de temperatura afetam a determinação do sexo apenas durante certo período da incubação, que decorre durante o segundo terço do período de incubação (WIBBELS 2003). Este é chamado de período termo-sensível, e foi definido como o intervalo de tempo em que qualquer tipo de variação de temperatura mostra ter algum

efeito significativo na proporção entre os dois sexos (MERCHANT-LARIOS *et al.* 1997), tornando-se depois esta determinação irreversível (WIBBELS 2003).

Estando as tartarugas marinhas tão dependentes da temperatura para a determinação do sexo existem alguns fatores já descritos que afetam a temperatura do ninho e, por conseguinte a proporção sexual destes animais: latitude, mudanças sazonais da temperatura, sombreamento dos ninhos, cor da areia, tipo de sedimento, pluviosidade, tamanho da postura (por aquecimento metabólico dos ovos localizados mais interiormente) e profundidade a que esta se encontra (BRODERICK *et al.* 2000; GODLEY *et al.* 2002a; KASKA, *et al.* 2006; HOUGHTON *et al.* 2007; FUENTES *et al.* 2010).

A temperatura do globo tem aumentado nos últimos anos e, com isso, pode produzir um impacto nas populações de tartarugas marinhas. Nos últimos 20 anos tem sido observada uma maior tendência de fêmeas de tartarugas-verdes filhotes no Suriname (MROSOVSKY *et al.* 1984; GODFREY *et al.* 1996), na Costa Rica (SPOTILA *et al.* 1987) e na ilha Cíprus (KASKA *et al.* 1998; BRODERICK *et al.* 2000) e entre imaturos e adultos na Austrália (FUENTES *et al.* 2010).

Tartarugas marinhas juvenis e sub-adultas não possuem características externas que possam ser utilizadas para a diferenciação sexual. Assim, o modo mais eficiente para a identificação sexual é a realização de estudos histológicos (WIBBELS 2003 e WYNEKEN *et al.* 2007). As gônadas são morfologicamente definidas assim que as tartarugas marinhas eclodem, constituindo uma estrutura esbranquiçada e alargada na superfície ventral do rim, sendo impossível distinguir a olho nu se tratar de um ovário ou de um testículo (MILLER & LIMPUS 2003).

Estudos envolvendo a biologia reprodutiva de tartarugas marinhas nos estágios iniciais de desenvolvimento são de grande importância, entretanto, raramente têm sido realizados (Rosa 2009). No Brasil o status da *Chelonia mydas* é definido como “Vulnerável” (ALMEIDA *et al.* 2011a), o que reforça a necessidade de realização deste estudo.

A distribuição das classes de tamanho observadas para a população do Rio Grande do Sul indica que esta é composta por indivíduos juvenis (TRIGO & BORGES-MARTINS 2001). O tamanho dos animais da população condiz com aquele no qual estes aparecem na costa pela primeira vez desde sua entrada no mar, logo após o nascimento (BJORNDAI & BOLTEN 1988; BALAZS 1995). Muito pouco se sabe ainda sobre diversos aspectos biológicos destes animais mais jovens. Assim, este trabalho visa identificar a proporção sexual e o estágio de desenvolvimento gonadal de tartarugas-verdes no litoral norte do Rio Grande do Sul, a fim de colaborar com futuras formulações de propostas para a conservação da espécie.

## 2 - Materiais e Métodos

### 2.1 – Área de estudo

Este estudo foi realizado no litoral norte e médio do Rio Grande do Sul entre a barra do Rio Mampituba, em Torres (29°19'S, 49°43'W), e a barra da Lagoa do Peixe, em Mostardas (31°22'S, 51°02'W), compreendendo 271 km de praia (Figura 2).

A área de estudo possui o clima subtropical úmido, com verões quentes e precipitação regularmente distribuída ao longo do ano. (FERRARO & HASENACK 2009).

A região apresenta a influência de duas correntes: a Corrente do Brasil e a Corrente das Malvinas. Durante o período do verão, esta região é influenciada por águas tropicais de maior temperatura (>20°C) e salinidade (36,00‰) proveniente da Corrente do Brasil. Nos meses de inverno, a plataforma continental é dominada pelas águas continentais do Rio da Prata e da Lagoa dos Patos, bem como pelas águas frias (4 a 15°C) e de baixa salinidade (33,70‰ a 34,15‰) da Corrente das Malvinas (GARCIA 1997). Os ventos possuem influencia em relação ao nível do mar, baixando-o com ventos de nordeste e norte e levantando-o com os de sul. As marés possuem uma amplitude de cerca de 50 cm (FERRARO & HASENACK 2009).

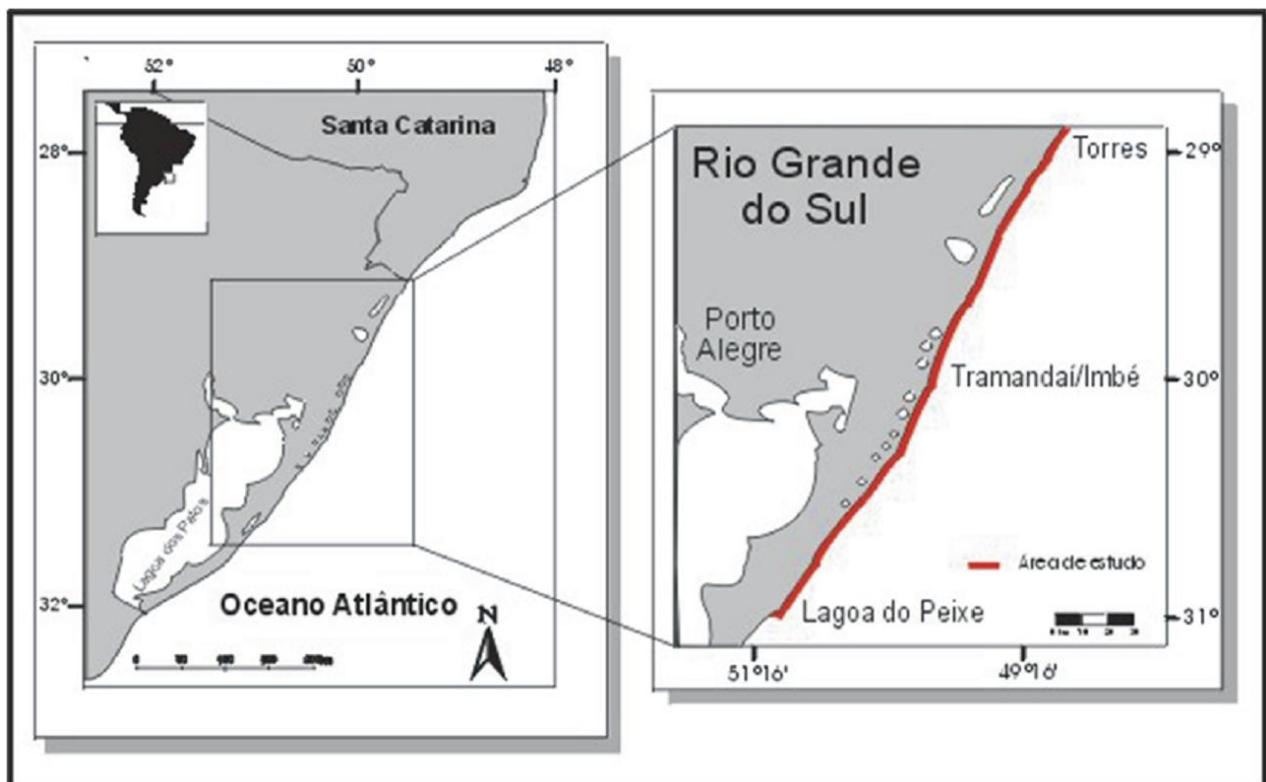


Figura 2 – Mapa da área de estudo, apresentando o trecho do litoral do Rio Grande do Sul onde

foram coletados os indivíduos de *Chelonia mydas*.

## **2.2 – Material**

Os indivíduos de *Chelonia mydas* utilizados neste estudo são provenientes de um trabalho em parceria com o Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS) e com o Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos (CERAM) do Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CECLIMAR/IB/UFRGS).

O GEMARS desenvolve pesquisas com mamíferos marinhos no litoral norte e médio do Rio Grande do Sul desde 1991 e, em 1994, iniciou também o estudo das tartarugas marinhas através do monitoramento de encalhes nas praias desta região do Estado.

O CERAM recebe anualmente uma grande quantidade de tartarugas marinhas que são encaminhadas debilitadas a fim de serem recuperadas, reabilitadas e reintroduzidas ao seu hábitat natural. Muitas das tartarugas-verdes recebidas no Centro de Reabilitação vão a óbito, o que viabilizou a utilização das mesmas neste trabalho.

Um total de vinte e três exemplares de *Chelonia mydas* foi utilizado no presente estudo, sendo dois deles provenientes dos monitoramentos de praia realizados pelo GEMARS, enquanto os outros vinte e um, procedentes do CERAM, no período de fevereiro de 2011 a abril de 2012 (Tabela 1).

Tabela 1 – Caracterização da amostra de *Chelonia mydas* utilizada neste trabalho. Número de registro nos catálogos de campo do Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS) e Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos (CERAM) do Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CECLIMAR/IB/UFRGS) para cada indivíduo; data de coleta e dados biométricos: comprimento curvilíneo da carapaça (ccc) e largura curvilínea da carapaça (lcc), ambos expressos em centímetros.

<b>GEMARS nº</b>	<b>CERAM nº</b>	<b>Data</b>	<b>ccc (cm)</b>	<b>lcc (cm)</b>
TM 567		Jul/2011	34.5	32.6
TM 593		2012	-	-
	2181	Jul/2011	29.4	27
	2196	Jul/2011	33.8	29.5
	2292	Fev/2011	33.5	30.7
	2343	Fev/2011	-	-
	2397	Jan/2011	35.5	34
	2402	Jan/2011	33.1	20.1
	2437	Fev/2011	34.2	32
	2447	Fev/2011	36	35
	2453	Mar/2011	-	-
	2462	Jul/2011	36.9	33.5
	2463	Mar/2011	28.2	25.2
	2464	Mar/2011	34.5	31.5
	2512	Mai/2011	32.2	27.7
	2698	Set/2011	41.7	37.1
	2700	Set/2011	36	33.8
	2705	Set/2011	34.4	31.4
	2829	Jan/2012	36.8	33.2
	2835	Jan/2012	45.2	41.2
	2840	Jan/2012	38.5	34.1

### **2.3 – Metodologia de campo**

Os exemplares cedidos pelo GEMARS foram coletados durante monitoramentos de praia com frequência aproximadamente mensal, ao longo dos 271 km da área de estudo. Os monitoramentos ocorreram mensalmente, em dois dias, sendo um dia destinado ao percurso do trecho Tramandaí/Mostardas, e o outro, ao trecho Imbé/Torres.

Os animais encontrados mortos foram identificados, fotografados, medidos e, quando possível, pesados. As medidas básicas tomadas para cada animal foram o comprimento curvilíneo da carapaça (ccc) e a largura curvilínea máxima da carapaça (lcc). O comprimento curvilíneo é medido na linha mediana da carapaça, desde o ponto médio anterior (escudo nugal) até a porção mais distal das escamas supracaudais. Já a largura curvilínea é medida no ponto mais largo da carapaça. As medidas foram realizadas com uma fita métrica flexível com precisão de 0,5 centímetros.

Os crânios das tartarugas provenientes dos monitoramentos de praia foram limpos no CECLIMAR e, posteriormente, tombados como material testemunho na Coleção Científica do GEMARS.

Os animais provenientes do CERAM também são procedentes do litoral norte e médio. Estes indivíduos passaram pelos mesmos procedimentos que aqueles encontrados nos monitoramentos, entretanto, todos foram realizados nas dependências do CECLIMAR. Todos os exemplares oriundos do CERAM foram tombados na Coleção Didática do CECLIMAR.

### **2.4 – Análise gonadal**

Para a realização da análise das gônadas, primeiramente foi realizada a necropsia dos exemplares, conforme Wyneken (2001). As gônadas foram coletadas integralmente e analisadas visualmente quanto a suas características macro morfológicas (textura e evidência de ducto paramesonéfrico). A classificação da textura dividiu-se em granulosa, lisa ou mista (ROSA 2005).

As gônadas foram, então, fixadas em formol a 10% e conservadas em álcool a 70% para posteriormente serem submetidas à preparação histológica. Do material gonadal fixado foram retirados cortes com padrão transversal medial com relação ao comprimento máximo da gônada, apresentando espessura de cinco centímetros. Os cortes foram desidratados, diafinizados,

impregnados, cortados em micrótomo, corados com Hematoxilina e Eosina e montados em lâminas permanentes, conforme protocolo em anexo (anexo 1). A preparação histológica foi realizada no Laboratório de Histologia do Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências da UFRGS.

As lâminas foram analisadas em microscópio ótico, a fim de identificar o sexo e estágio de desenvolvimento gonadal, com base na presença de células germinativas. Para a caracterização de machos e fêmeas foram considerados critérios adotados por Miller & Limpus (2003). A análise da classificação do estágio de desenvolvimento gonadal seguiu o proposto por Rosa (2005).

A proporção sexual foi definida através da utilização do teste  $\chi^2$ , realizado no programa Bioestat 5.0.

### 3 - Resultados

Dos 23 espécimes de *Chelonia mydas* analisados, apenas três não foram aferidas as medidas morfométricas. Os demais indivíduos apresentaram comprimento curvilíneo de carapaça (ccc) variando de 28.2 a 52.5 cm, com média de 36,8 cm ( $\pm 4,97$ ) (Figura 3), sendo considerados juvenis.

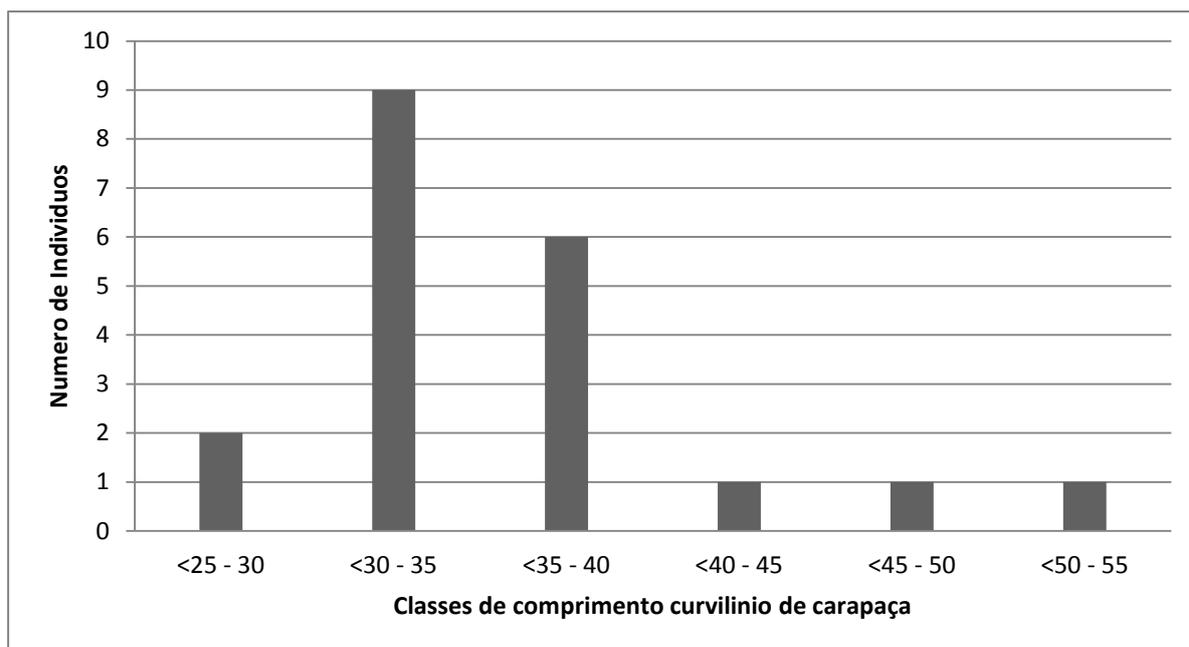


Figura 3 – Distribuição por classes de tamanho dos indivíduos de *Chelonia mydas* provenientes do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos (CERAM) do CECLIMAR/IB/UFRGS e dos monitoramentos de praia do Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS) entre janeiro de 2011 e abril de 2012.

Dos 23 indivíduos analisados, 10 eram machos e 13 fêmeas, sendo obtida uma proporção sexual de uma fêmea para 0,76 machos. Essa proporção não difere significativamente da proporção esperada de uma fêmea por macho 1: 0,76 ( $\chi^2 = 0,391$ ; g.l.=1; P = 0,5316).

Em relação à textura, as gônadas puderam ser divididas em três categorias: granulosa, lisa e mista (Figura 4). As gônadas de textura granulosa foram registradas apenas em fêmeas e, as gônadas com textura lisa, foram observadas em apenas 71% dos machos (Tabela 2). Contudo, as gônadas mistas foram registradas tanto em machos quanto em fêmeas. Assim, a determinação sexual através da textura gonadal não pode ser efetuada, visto que a correspondência entre a textura granulosa para fêmeas e, lisa para machos, não foi totalmente validada.

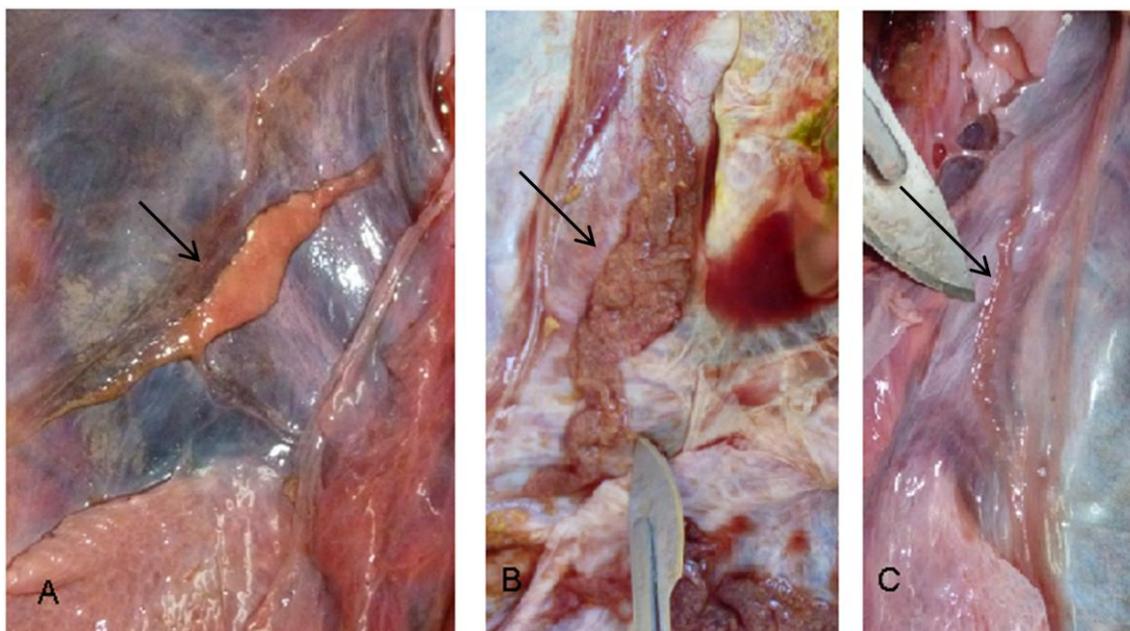


Figura 4 – Categorias de textura das gônadas de *Chelonia mydas* analisadas. (A) gônada com textura lisa observada no espécime de nº 2463; (B) gônada com textura granulosa observada no espécime de nº 2845; (C) gônada com textura mista observada no espécime de nº 2292. Fotos: Camila Rigon e Halina Kondak.

Tabela 2 – Categorias de textura gonadal registradas nos 23 indivíduos de *Chelonia mydas* analisados, divididos em machos e fêmeas.

	FEMEA	MACHO	TOTAL
<b>GRANULOSA</b>	4	0	4
<b>LISA</b>	2	5	7
<b>MISTA</b>	7	5	12

A presença de ducto paramesonefrico (Figura 5) não se constituiu em uma característica válida para separação dos sexos, visto que a estrutura estava evidente em 82% da amostra.

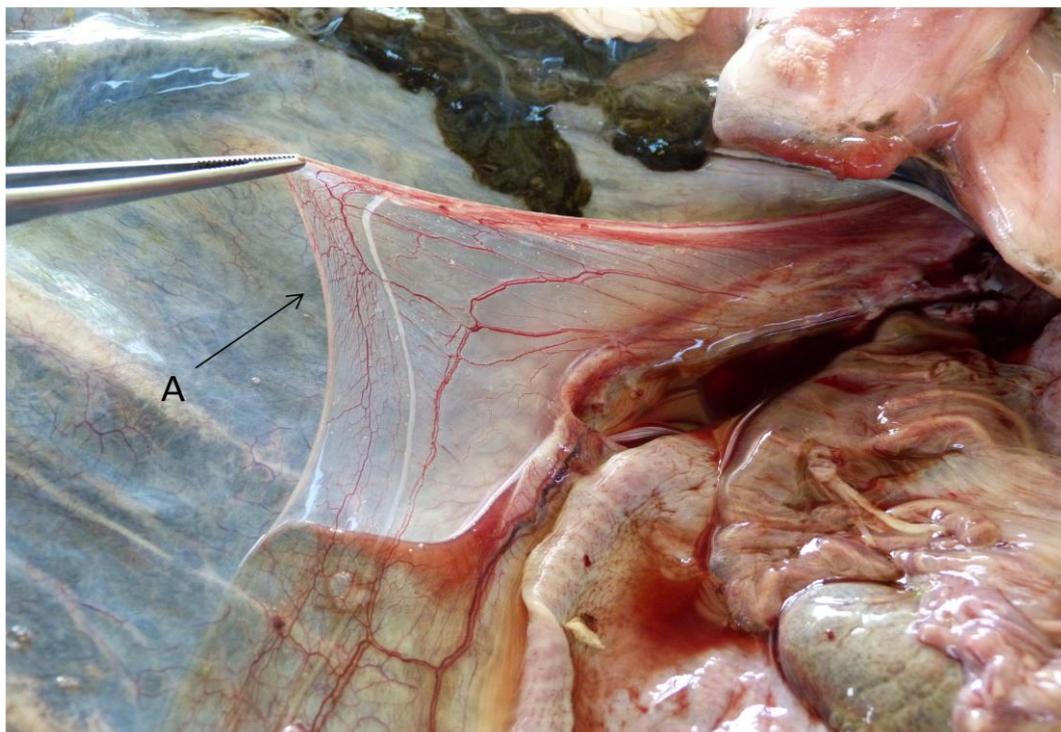


Figura 5 – Ducto paramesonefrico (A) em evidência, na cavidade abdominal do espécime nº 2845. Foto: Halina Kondak.

As gônadas identificadas como pertencentes a fêmeas apresentaram um tecido bem condensado, com células germinativas bem aparentes (presença de ovócitos maiores que células adjacentes das membranas envoltórias). Os ovários apresentaram ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento, sendo caracterizados como mais desenvolvidos os que apresentaram vesículas ou grânulos citoplasmáticos. As gônadas pertencentes a machos apresentaram por um tecido menos condensado, com muitos ductos aparentes (túbulos seminíferos) e células com tamanho homogêneo, da linhagem espermiática.

Quanto à classificação da gametogênese, as gônadas dos 23 indivíduos analisados se encontravam em fase de crescimento e proliferação. Nos 10 machos analisados não foram encontrados espermatozoides, mas os ductos espermáticos iniciais apresentaram-se bem evidentes (Figuras 6 e 7). Todas as 13 fêmeas analisadas apresentaram ovócitos com o citoplasma aumentado (Figura 8), o que indica uma fase de crescimento, visto que as vesículas e grânulos presentes nos ovócitos indicam o desenvolvimento dos mesmos (Figura 9).

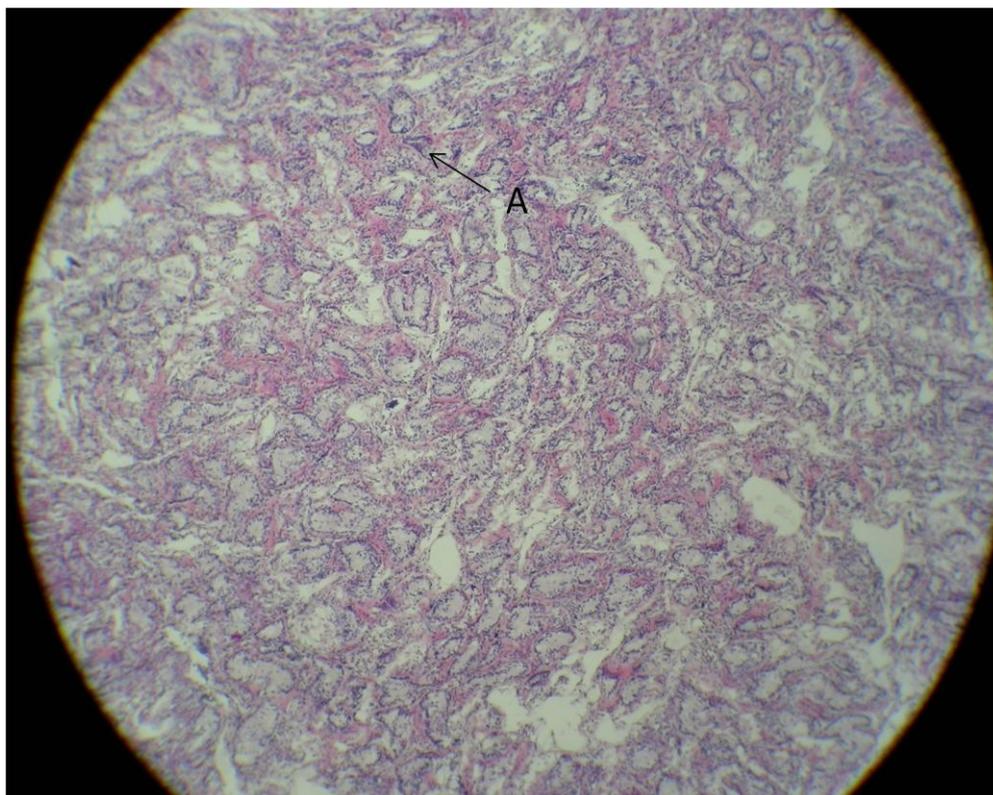


Figura 6 – Corte histológico de gônada masculina de *Chelonia mydas* referente ao espécime nº 2463, corado com H/E. (A) túbulos seminíferos. Aumento: 100x. Foto: Halina Kondak.

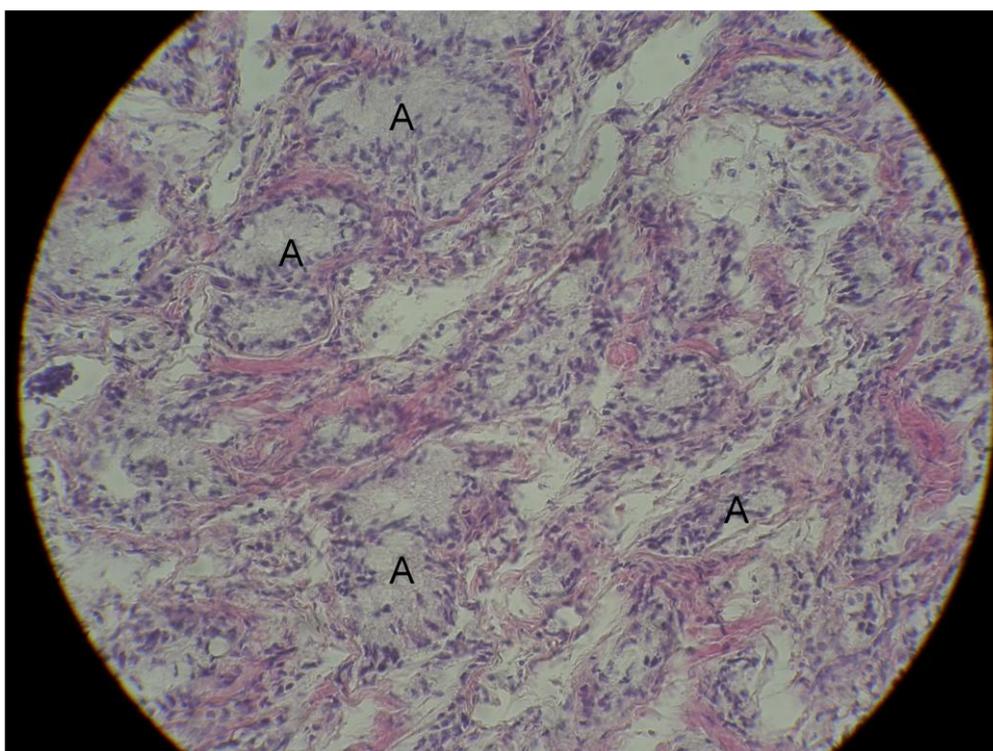


Figura 7 – Corte histológico de gônada masculina de *Chelonia mydas* referente ao espécime nº 2463, corado com H/E. (A) túbulos seminíferos. Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.

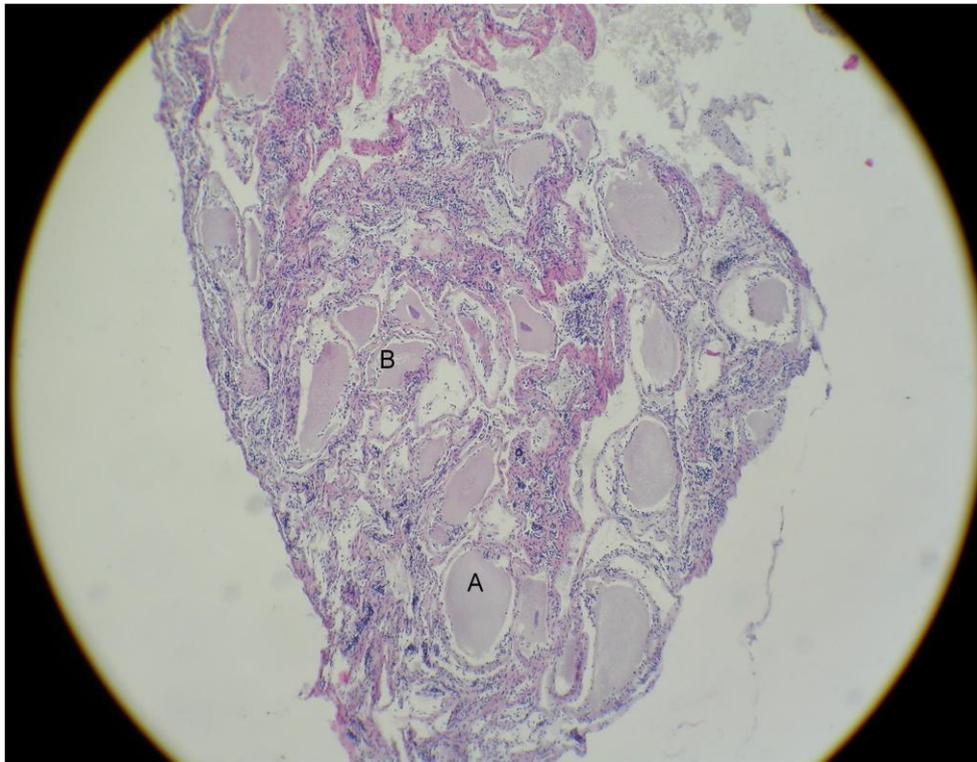


Figura 8 – Corte histológico de gônada feminina de *Chelonia mydas* referente ao espécime n° 2464, com presença de ovócitos com citoplasma aumentado. (A) ovócitos homogêneos; (B) vesículas centrais. Aumento: 40x. Foto: Halina Kondak.

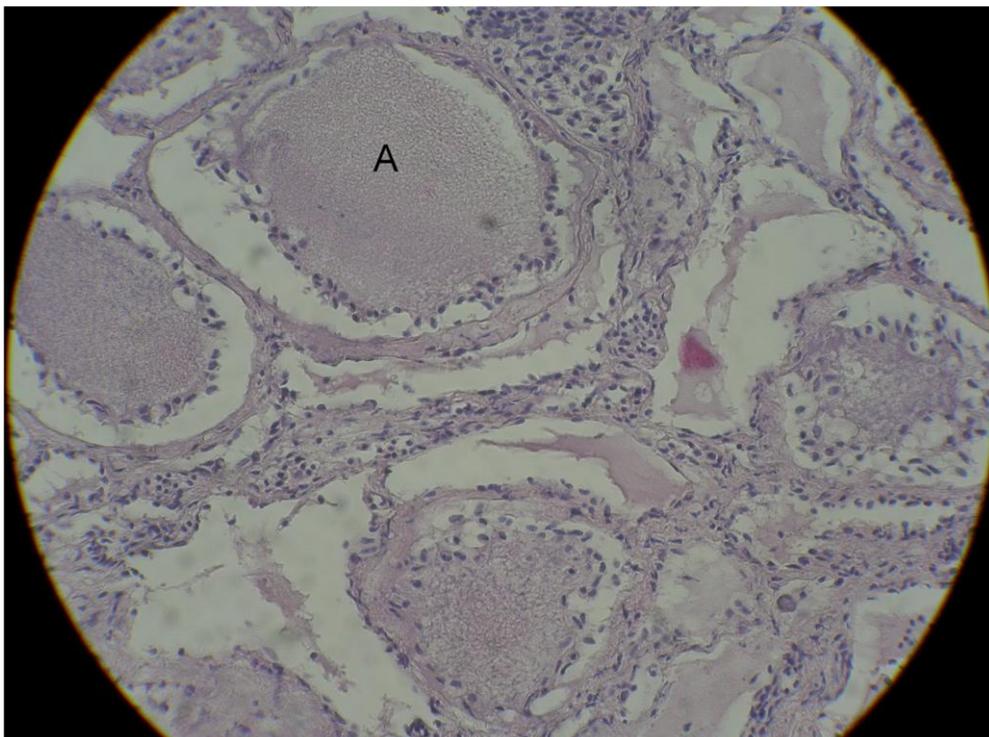


Figura 9 – Corte histológico de gônada feminina de *Chelonia mydas* referente ao espécime n° 2464, com presença de ovócitos com vesículas periféricas (A). Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.

Com base na análise do tecido gonadal dos indivíduos identificados como fêmeas foram

estabelecidos três estágios de desenvolvimento dos ovócitos. A definição dos estágios foi estabelecida pela característica da maioria dos ovócitos encontrados nos cortes histológicos analisados (Tabela 3). O estágio inicial (Ho) (Figura 10) caracterizou-se pela homogeneidade do citoplasma. Nesta fase as células têm seu citoplasma aumentado, mas a síntese de material de reserva não é evidente. A segunda fase (Vc) (Figura 11) caracterizou-se pela presença de vesículas no citoplasma, porém com uma distribuição não uniforme e grânulos não evidentes. A próxima fase de desenvolvimento (Vp) (Figura 12) apresentou ovócitos com vesículas no córtex do citoplasma e grânulos aparentes. O último estágio de desenvolvimento (Gr) proposto por Rosa (2005), que é caracterizado por ovócitos granulosos e com maior aumento de citoplasma (com maior produção de material de reserva caracterizando uma vitelogênese inicial), não foi registrado em nenhum animal analisado neste trabalho.

Tabela 3 – Fase de desenvolvimento das gônadas femininas de *Chelonia mydas* analisadas, com a descrição do estágio de desenvolvimento gonadal e frequência de ocorrência destas na amostra, relacionada à média do comprimento curvilíneo da carapaça com desvio padrão (ccc - em centímetros).

<b>Fase</b>	<b>Estágio de desenvolvimento</b>	<b>Média ccc (cm)</b>	<b>Frequência</b>
<b>Ho</b>	Ovócitos homogêneos	31,8 ( $\pm 2,63$ )	3
<b>Vc</b>	Ovócitos homogêneos e presença inicial de vesículas	35,1 ( $\pm 0,80$ )	7
<b>Vp</b>	Vesículas periféricas, presença inicial de grânulos	48,85 ( $\pm 3,50$ )	3

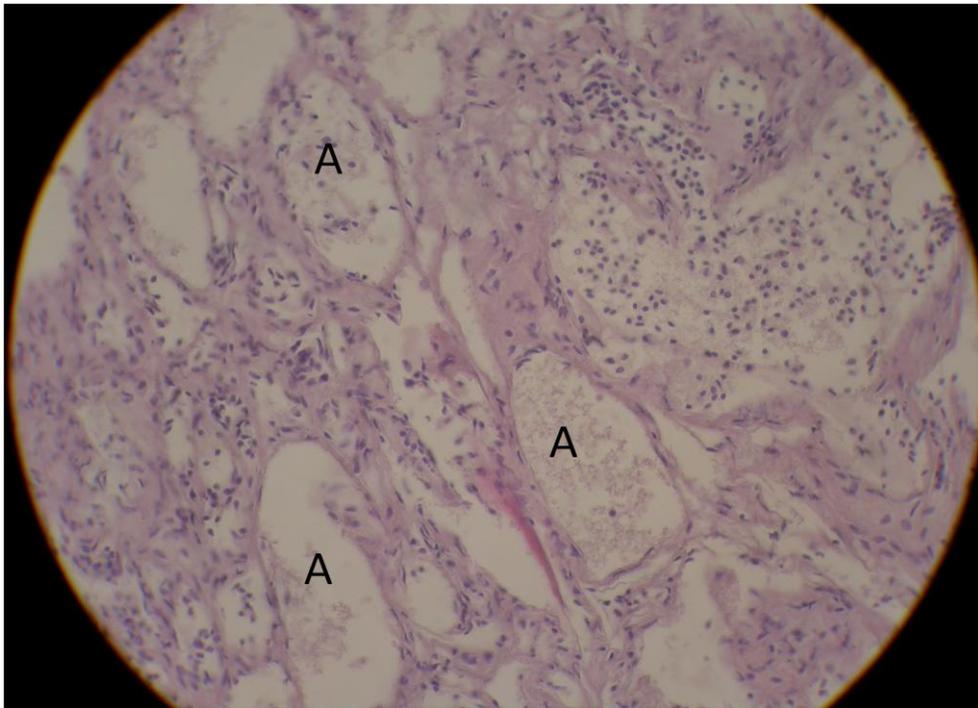


Figura 10 – Corte histológico de gônada feminina de *Chelonia mydas* referente ao espécime nº 2181. (A) ovócitos homogêneos. Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.

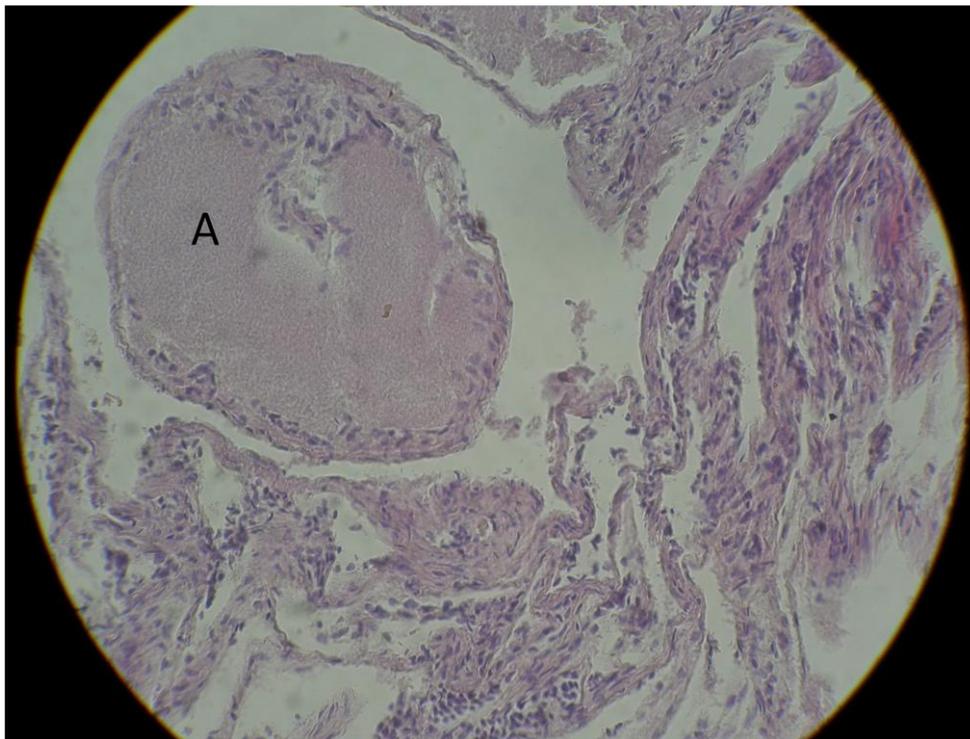


Figura 11 – Corte histológico de gônada feminina de *Chelonia mydas* referente ao espécime nº 2464. (A) Ovócitos homogêneos com presença inicial de vesículas. Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak

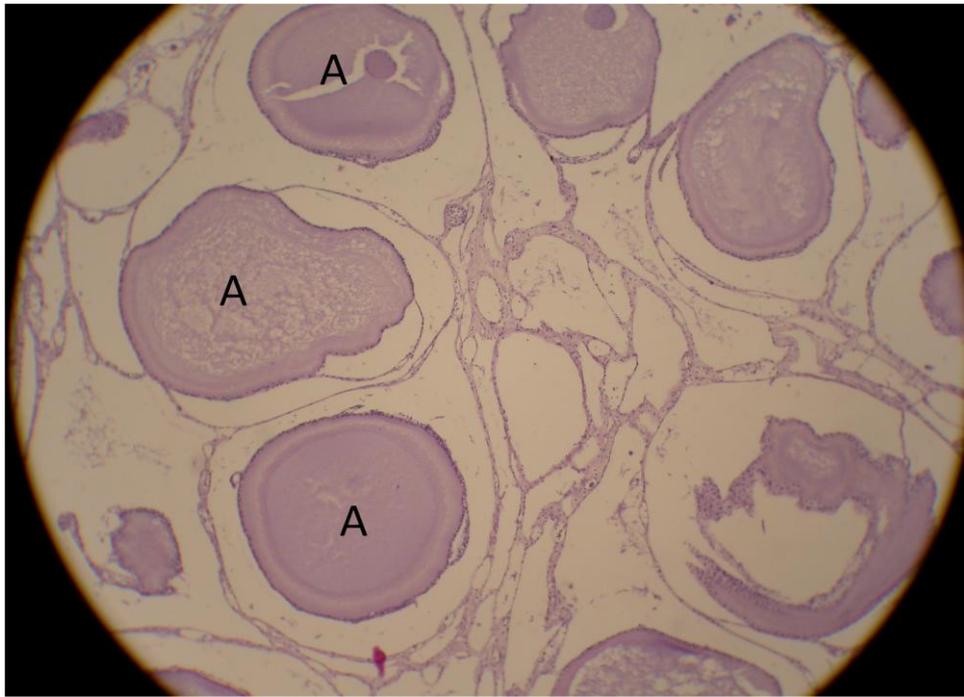


Figura 12 – Corte histológico de gônada feminina de *Chelonia mydas* referente ao espécime nº 2845. (A) Vesículas periféricas, presença inicial de grânulos. Aumento: 400x. Foto: Halina Kondak.

## 4 – Discussão

A conservação das espécies de tartarugas marinhas deve ser baseada em informações biológicas básicas e no conhecimento dos padrões demográficos das diferentes populações. Assim, a determinação das proporções sexuais deve ser identificada para todos os estágios de vida (DELGADO *et al.* 2010).

O conhecimento das proporções sexuais de indivíduos adultos é limitado, pois envolve elevados custos (WIBBELS 2003). Estes estudos também são dificultados pelas diferenças nos padrões de migração de machos e fêmeas, visto que os primeiros normalmente tendem a uma maior distribuição e se concentram em áreas de reprodução em determinados períodos (GODLEY *et al.* 2003). Estudos envolvendo a biologia reprodutiva de indivíduos imaturos podem fornecer estimativas mais precisas sobre as relações sexuais, pois não envolvem variáveis como migração (WIBBELS 2003). Estes estudos são de suma importância, pois nos levam a compreender os possíveis reflexos sobre as futuras populações de adultos, permitindo a detecção de problemas e a proposição de soluções (BJORNDAL *et al.* 2005), entretanto, são raramente realizados. Segundo Balazs e Chaloupka (2004) a tartaruga-verde atinge a maturidade sexual com, no mínimo, 80 centímetros de comprimento, sendo assim, os indivíduos analisados neste estudo foram considerados juvenis.

Muitas técnicas são utilizadas por diferentes autores na identificação do sexo destes animais, mas poucas são válidas para a fase juvenil (MERCHANT *et al.* 1999). Um método muito utilizado para determinar o sexo dos espécimes é a videolaparoscopia, que analisa a textura das gônadas (LIMPUS 1992; 1994; MEYLAN 1994). No presente estudo, a análise da textura das gônadas não nos permitiu a determinação segura dos sexos, já que os machos apresentaram gônadas com textura lisa e mista, enquanto para as fêmeas foram registradas gônadas que se enquadraram nas três categorias de textura. Assim, a determinação sexual da população em questão não poderia ser aferida por esta técnica.

Wyneken (2007) utiliza como característica para diagnose do sexo de tartarugas marinhas, a presença de ductos paramesonéfricos. Esta característica não pode ser utilizada como diagnóstica no presente trabalho, visto que 82% dos indivíduos analisados apresentaram esta estrutura em evidência. Resultado semelhante foi obtido por Rosa (2009), que registrou a presença destes ductos em 97% dos indivíduos analisados na população de tartarugas-verdes juvenis do Paraná.

No presente estudo, o método utilizado para a determinação do sexo foi a análise da histologia gonadal. Muitos autores consideram este, o método mais seguro para a determinação

do sexo em tartarugas marinhas (YNTEMA & MROSOVSKY, 1980; MROSOVSKY & BENABIB, 1990; MROSOVSKY & GODFREY, 1995; MERCHANT-LARIOS, 1999; WYNEKEN *et al.*, 2007). Isso se deve à grande confiabilidade na identificação, pois tem como base a presença de células germinativas.

Rosa (2005), ao estudar a população de *Chelonia mydas* do Paraná, propôs quatro estágios de desenvolvimento gonadal, baseada no desenvolvimento de vertebrados em geral, já que estudos específicos para tartarugas-verdes juvenis ainda não foram suficientes para estabelecer um padrão para a espécie. Rosa (2009), ao analisar a população de juvenis do PR, com comprimentos curvilíneo de carapaça (ccc) entre 27,5 e 68 cm, registrou quatro estágios de desenvolvimento. Para as tartarugas-verdes do RS registramos os três primeiros estágios, visto que a população em questão apresentou ccc entre 28,2 e 52,5 cm.

A grande maioria de trabalhos sobre proporção sexual, utilizando filhotes recém-eclodidos, não confirma a teoria evolutiva de 1:1 (fêmeas e machos), reportando uma quantidade maior de fêmeas do que de machos em diferentes regiões (WIBBELS, 2003). Já em se tratando da proporção sexual em adultos, este mesmo autor lembra que as fêmeas podem apresentar maiores taxas de mortalidade nesta fase da vida, devido à energia que desprendem na produção de ovos e no processo de desova.

Delgado e colaboradores (2010) ressaltam que filhotes nascidos em regiões mais frias (que produzem mais machos) tendem a ter sua capacidade natatória reduzida e, assim, um menor sucesso para escapar de predadores. Estes mesmos autores lembram que animais nascidos em regiões muito quentes tendem a desenvolver mais anormalidades morfológicas, o que aumentaria as chances de mortalidade das fêmeas originadas nestas áreas. Estas colocações sugerem uma proporção igualitária de ambos os sexos na fase de vida juvenil. Entretanto, estudos que relacionam a proporção sexual de indivíduos juvenis, também, apresentam um maior número de fêmeas (DELGADO *et al.* 2010; WIBBELS 1991; STABENAU *et al.* 1996).

Bolten (1992), ao analisar a população juvenil de tartarugas-verdes das ilhas Bermudas, registrou uma razão sexual de 1,4:1. Já Lahanas *et al.* (1998), na Costa Rica, registraram uma proporção de 2:1.

Em áreas de alimentação como, por exemplo, o litoral do Paraná, Rosa (2009), registrou uma razão sexual de 1:0,95 para *Chelonia mydas*. Este resultado corrobora com o registrado no presente estudo, onde a proporção sexual foi de 1:0,76. Já na porção sul do litoral do RS, entre a Lagoa do Peixe e a Barra do Chuí, a razão sexual encontrada foi de 2,8:1 (DUARTE *et al.* 2011).

As proporções sexuais de juvenis registradas em determinadas regiões podem estar

relacionadas aos locais de origem dos indivíduos. A fidelidade ao sítio de desova resulta em uma estruturação das espécies em diversas populações reprodutivas, pelo menos em relação às fêmeas (BOWEN & AVISE 1994). As áreas de forrageio, entretanto, podem ser compartilhadas por diferentes populações oriundas de diversas áreas de desova (PRITCHARD 1969; CARR 1975; MORTIMER & CARR 1987; BOWEN & AVISE 1995; MEYLAN 1995; LAHANAS *et al.* 1998; BASS & WITZELL 2000). Fato este, registrado por Duarte *et al.* (2011) para a espécie *Caretta caretta* no RS, onde a proporção sexual observada foi de 2,5:1 e, assim, relacionada ao maior número de fêmeas nascidas nas áreas de desova do Brasil.

As proporções sexuais desviadas para um maior número de fêmeas podem, também, estar relacionadas a diferenças comportamentais associadas aos diferentes sexos. Delgado e colaboradores (2010) especulam que as fêmeas de *Caretta caretta* iniciem a transição de regiões pelágicas para costeiras antes dos machos, o que poderia influenciar no registro de proporções sexuais desequilibradas em populações juvenis.

Outro fator que pode estar relacionado a razões sexuais em desequilíbrio é a distribuição temporal dos indivíduos, visto que a diferença no número de machos e fêmeas pode flutuar ao longo do tempo, bem como, variar amplamente dependendo da época do ano (GODLEY *et al.* 2002).

Fischer (1930) apud Wibbels (2002) propôs que as proporções sexuais não estão em desequilíbrio, e sim, representam apenas uma amostra de toda a população e, assim, os resultados podem ser afetados pelo viés da amostragem. A proporção sexual pode variar dentro de uma mesma população nas diferentes classes de tamanho (BOLTEN 1992), mas as proporções não diferem significativamente do esperado, mostrando que com o tempo as proporções se equilibram.

Já que uma mudança de 1-2°C na temperatura de incubação dos ninhos pode provocar uma considerável diferença na proporção sexual de filhotes (MROSOVSKY & YNTEMA 1995), o aquecimento global é um dos grandes problemas que pode afetar espécies com determinação sexual por temperatura (DELGADO *et al.* 2010). Este fenômeno poderia ocasionar um colapso demográfico nas populações (KAMEL & MROSOVSKY 2006), o que pode ser ainda mais preocupante para as espécies de tartarugas marinhas, por tratarem-se de animais ameaçados de extinção.

Pode-se observar que as tartarugas-verdes do Rio Grande do Sul analisadas neste estudo apresentam uma proporção sexual equilibrada. No entanto, tais resultados deverão ser analisados com cautela, pois o tamanho da amostra é insuficiente para a realização de algumas relações,

como as relacionadas a diferenças sazonais e entre diferentes anos. Associações destes parâmetros às diferentes classes de tamanho ou idade dos animais também poderão ser elucidadas com o aumento do número amostral. Avaliações genéticas deverão ser igualmente realizadas, visto que a elucidação dos padrões migratórios contribui diretamente no entendimento das diferenças nas razões sexuais encontradas para as populações de diferentes regiões. Contudo, estes resultados são relevantes para futuros trabalhos de determinação de proporções sexuais e de desenvolvimento gonadal. Estudos deste tipo podem, ainda, contribuir para que técnicas de manejo, que influenciam o número de nascimentos de machos e fêmeas, sejam mais bem elaboradas.

## 5 - Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, DE P.A.; A.J.B. SANTOS.; J.C.A. THOMÉ.; C. BELINI.; C. BAPTISTOTTE.; M.A. MARCOVALDI; A.S. DOS SANTOS. & M. LOPEZ. 2011a. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Revista Biodiversidade Brasileira** (1): 12-19.
- BALAZS, G.H. 1995. Growth rates of immature green turtles in the Hawaiian Archipelago, p. 117-125. In: BJORN DAL, K.A. (Ed.). **Biology and Conservation of Sea Turtles**. Smithsonian Institution Press: Washington, D.C, 615p.
- BALAZS, G.H. & M. CHALOUPKA. 2004. Spatial and temporal variability in somatic growth of green sea turtles (*Chelonia mydas*) resident in the Hawaiian Archipelago. **Marine Biology International Journal on Life in Oceans and Coastal Waters**.
- BASS, A.L. & W.N. WITZELL. 2000. Demographic composition of immature green turtles (*Chelonia mydas*) from the east central Florida coast: evidence from mtDNA markers. **Herpetologica**, **56** (3): 357-367.
- BRODERICK, A.C.; B. J. GODLEY; S. REECE & J.R. DOWNIE. 2000. Incubation periods and sex ratios of green turtles: highly female biased hatchling production in the eastern Mediterranean. **Marine Ecology Progress Series** 202: 273-281.
- BUGONI, L.; L. KRAUSE & M.V. PETRY. 2001. Marine debris and human impacts on sea turtles in southern Brazil. **Marine Pollution Bulletin** **42** (12): 1330-1334.
- BJORN DAL, K.A. & A.B. BOLTEN, 1988. Growth rates of juvenile loggerheads, *Caretta caretta*, in the Southern Bahamas. **Journal of Herpetology** **22** (4): 480-482.
- BJORN DAL, K.A.; A.B. BOLTEN & S. TROENG. 2005. Population structure and genetic diversity in green turtles nesting at Tortuguero, Costa Rica, based on mitochondrial DNA control region sequences. **Marine Biology**, 147: 1449-1457.
- BOWEN, B.W. & J.C. AVISE. 1994. Tracking turtles through time. **Natural History**, **12**: 36-42.
- \_\_\_\_\_. 1995. Conservation genetics of marine turtles, p. 190-237. In: AVISE, J.C. & J.L. HAMRICK (Eds.). **Conservation**.
- CHACON, D. 2004. La Tortuga Carey Del Caribe – Introducción a su biología e estado de conservación. **WWF** – Programa Regional para América Latina y el Caribe, San José, Costa Rica. Disponível na Word Wide Web em: [http://assets.panda.org/downloads/tortuga\\_carey\\_1.pdf](http://assets.panda.org/downloads/tortuga_carey_1.pdf) [01/07/2009].

- CHARNOV, E.L. & J.J. BULL. 1989. The primary sex ratio under environmental sex determination. **J. Theor. Biol.** 139, 431–436.
- CARR, A. 1975. The Ascension Island green turtle colony. **Copeia**, **1975** (3): 547-555.
- DELGADO, C.; A. V. M. CANARIO & T. DELLINGER. 2010. Sex ratios of loggerhead sea turtles *Caretta caretta* during the juvenile pelagic stage. **Mar Biol.** DOI 10.1007/s00227-009-1378-8
- ECKERT, K.L.; K.A. BJORN DAL; F.A. ABREU-GROBOIS. & M. DONNELLY. 1999. *Pesquisa e Técnicas de Gestão para a Conservação das Tartarugas Marinhas*. IUCN / SSC Tartaruga Marinha **Specialist Group 4**. Washington, DC: 235 pp
- FERRARO & HOSENACK. 2009. Clima. (Org.). *Ecosistemas e Biodiversidade do Litoral Norte do RS*. Porto Alegre: **Editora Nova Prova**, p. 236-257.
- FUENTES, M.M.; M. HAMANN. & C.J. LIMPUS. 2010. Past, current and future thermal profiles of green turtle nesting grounds: Implications from climate change. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 383:56-64.
- 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.
- GARCIA, C.A.E. 1997. Physical Oceanography, p. 94-96. In: Seelieger, U.; C. Odebrecht & J.P. Castello (Eds.). *Subtropical Convergence Environments. The coast and sea in the southwestern Atlantic*. Springer-Verlag Berlin Germany.
- GODFREY, M.H.; R. BARRETO. & N. MROSOVSKY. 1996. Estimating past and present sex ratios of sea turtles in Suriname. **Canadian Journal of Zoology** 74, 267-277.
- GODFREY, M.H.; A.F. D'AMATO.; M.Â. MARCOVALDI. & N. MROSOVSKY. 2000. Sex ratios of hatchling hawksbill turtles from Bahia, Brazil. 2000. In: **Proceedings of 19<sup>o</sup> Annual Symposium on sea turtle Conservation and biology**. Miami: U. S. Department of Commerce. pag.19. [NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-443].
- GODLEY, B. J.; A.C. BRODERIK; F. GLEN. & G.C. HAYS. 2002. Temperature-dependent sex determination of Ascension Island green turtles. **Marine Ecology Progress Series** 226:115-124.
- GODLEY, B. J.; E.H.S.M. LIMA; S. AKESSON; A.C. BRODERICK; F. GLEN; M.H. GODFREY; P. LUSCHI. & G.C. HAYS. 2003. Movement patterns of green turtles in Brazilian coastal waters described by satellite tracking and flipper tagging. **Marine Ecology Progress Series**, 253: 279-288.

- GROSSMAN, A. 2001. Biologia reprodutiva de *Chelonia mydas* (Reptilia), na Reserva Biológica do Atol das Rocas. 43p. (Dissertação) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
- HOUGHTON, J. D; A.E. MYERS; C. LLOYD; R.S. KING; C. ISAACS. & G.C. HAYS. 2007. Protracted rainfall decreases temperature within leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) clutches in Grenada, West Indies: ecological implication for a species displaying temperature dependent sex determination. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 345:71-77.
- IUCN. 2001. **Red List Categories and Criteria**: Version 3.1. IUCN Species Survival Commission, Gland, Suíça e Cambridge, Reino Unido. ii + 30p.
- KAMEL, S.J. & N. MROSOVSKY, 2006. Repeatability of nesting preferences in the hawksbill turtles, *Eretmochelys imbricata*, and their fitness consequences. **Animal Behaviour**, 70: 819-828.
- KASKA, Y.; R. DOWNIE; R. TIPPETT; & R.W. FURNESS. 1998. Natural temperature regimes for loggerhead and green turtle nests in the eastern Mediterranean. **Canadian Journal of Zoology**, 76:723-729.
- KASKA, Y.; Ç. ILGAZ; A. ÖZDEMİR; E. BASKALE; O. TÜRKOZAN; I. BARAN. & M. STACHOWITSCH. 2006. Sex ratio estimations of loggerhead sea turtle hatchlings by histological examination and nest temperatures at Fethiyes beach, Turkey. **Naturwissenschaften** 93:338-343.
- LAHANAS, P.N.; K.A. BJORN DAL; A.B. BOLTEN; S.E. ENCALADA; N.M. MIYAMOTO; R.A. VALVERDE & B.W. BOWEN. 1998. Genetic composition of a green turtle (*Chelonia mydas*) feeding ground population: evidence for multiple origins. **Marine Biology**, 130: 345-352.
- LEMA, T. & M.T.S. FERREIRA. 1990. Contribuição ao conhecimento dos Testudines do Rio Grande do Sul (Brasil) - Lista sistemática comentada (Reptilia). **Acta Biologica Leopoldensia**, 12 (1): 125-164.
- LIMPUS, C. J. 1992. The hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in Queensland: Population structure within a southern Great Barrier Reef feeding ground. **Wildlife Research** 19:489-506.
- LOHMAN, K.; B.E. WITHERINGTON.; C. LOHMAN. & M. SALMON. 1996. Orientation, navigation and natal beach homing in sea turtles. p. 107-136. In: Lutz, P. & Musick, J. A (Eds). **The biology of sea turtles**. CRC. Press, Boca Raton, FL, EUA.
- LUTZ, P. L. 1997. Salt, water, and pH balance in the sea turtle. In: Lutz, P. L. and Musick, J. A. (eds.). **The Biology of Sea Turtles**. Boca Raton, FL: **CRC Press**, p. 343-361.
- MARCOVALDI, M.Â & G.G.D. MARCOVALDI. 1999. Marine turtles of Brasil: the history and structure of Projeto TAMAR – IBAMA. **Biological Conservation**, 91: 1-41.

- MARTINS, M.B.; M.E.M. SILVEIRA. & M.A. DA SILVA. 1996. A ocorrência de tartarugas marinhas no estado do Rio Grande do Sul, p. 189-190. In: Resumos do **XXI Congresso Brasileiro de Zoologia**. Porto Alegre, RS.
- MÁRQUEZ, R. M. 1990. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. **Fao fisheries Synopsis** n. 125, v. 11. Rome, fAo. 81 p.
- MEYLAN, A.B.; B.W. BOWEN & J.C. AVISE. 1990. A genetic test of the natal homing versus social facilitation models for green turtle migration. **Science**, 248 (2): 724- 727.
- MEYLAN, A.B. 1995. Sea turtle migration – evidence from tag returns, p. 91-100. In: K.A. BJORN DAL (Ed.). **Biology and Conservation of Sea Turtles**. Washington DC, Smithsonian Institution Press, 615p.
- MEYLAN, P.A.; K. DAVIS. & A.B. MEYLAN. 1994. Predicting sexual maturity of male green turtles from morphological characters. In: **Proceedings of 13<sup>o</sup> Annual Symposium on sea turtle biology and conservation**. (NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-341).
- MERCHANT-LARIOS, H.; S. RUIZ-RAMIREZ; N. MORENO-MENDOZA. & A. MARMOLEJO-VALENCIA. 1997. Correlation among thermosensitive period, estradiol response, and gonad differentiation in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*. **General and Comparative Endocrinology** 107:373-385.
- MERCHANT-LARIOS, H. 1999. Determining hatchling sex. In: Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. Eckert, K.L. et al., Eds., IUCN/SSC **Marine Turtle Specialist Group Publication** No. 4, pp. 130–135.
- MILLER, J.D. & C. J. LIMPUS. 2003. Ontogeny of Marine Turtle Gonads. P. 199– 224. In P. L. Lutz, J. A. Musick, and J. Wyneken (Eds.), **The Biology of Sea Turtles**, Volume II. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A.
- MOREIRA, M. P. 2003. Ecologia reprodutiva e estimativa de ninhos da tartaruga verde-auranã – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) (Testudines, reptilia) na ilha da Trindade – Espírito Santo – Brasil. 63f. Dissertação (mestrado em biologia Animal) – Programa de Pós-graduação em ciências biológicas, universidade federal do Espírito Santo, ES.
- MROSOVSKY, N.; C. BAPTISTOTTE; & M.H. GODFREY. 1999. Validation of incubation duration as an index of the sex ratio of hatchling sea turtles. **Canadian Journal of Zoology** 77, 831-835.
- MORTIMER, J.A. & A. CARR. 1987. Reproduction and migrations of the Ascension Island green turtle (*Chelonia mydas*). **Copeia**, 1987 (1): 103-113.
- MROSOVSKY, N. & M. BENABIB. 1990. Na assessment of two methods of sexing hatchling sea turtles. **Copeia**, 1990: 589-591.

- MROSOVSKY, N & M.H. GODFREY. 1995. Manipulating sex ratios: turtle speed ahead! **Chelonian Conservation Biology**, 1: 238-240.
- PINEDO, M.C.; R. CAPITOLI; A.S. BARRETO & A.L.V. ANDRADE. 1996. Occurrence and feeding of sea turtles in southern Brazil, p. 117-118. In: **Proceedings of the Sixteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation**. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-412, 158p.
- PRITCHARD P.C.H. 1969. Sea turtles of the Guianas. **Bulletin of the Florida State Museum**, 13 (2): 84-141.
- PRITCHARD, P.C.H. & J.A. MORTIMER. 1999. Taxonomy, external morphology and species identification. In: Eckert, K.L.; K.A. Bjorndal.; F.A. Abreu-Grobois.; M. Donnelly. (eds), Research and management Techniques for the conservation of Sea Turtles. IUCN/SSc **Marine Turtle Specialist Group Publication** n. 4. p. 21-38.
- ROSA, L. 2005. Biologia reprodutiva da tartaruga marinha *Chelonia mydas* no litoral paranaense. 30 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.
- ROSA, L. 2009. Biologia reprodutiva da tartaruga marinha *Chelonia mydas* no litoral paranaense. 30 f. Monografia (Mestrado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.
- SILVA, K.G. & E. ALMEIDA. 1998. Monitoramento da ocorrência de tartarugas marinhas no litoral do Rio Grande do Sul (1996), p. 264-266. In: Resumos da **XI Semana Nacional de Oceanografia**. Rio Grande, RS, 709p.
- SPOTILA, J.R. 1987. Temperature dependent sex determination in the green turtle (*Chelonia mydas*): effects on the sex ratio on a natural nesting beach. **Herpetologica** 43, 74-81.
- SPOTILA, J. R. 2004. Sea turtles: a complete guide to their biology, behavior and conservation. **The Johns Hopkins University Press**, Baltimore, EUA. 228 p.
- SOTO, J.M.R. & R.C.P. BEHEREGARAY. 1997a. New records of *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) and *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766) in the southwest Atlantic. **Marine Turtle Newsletter**, (77): 8-10.
- \_\_\_\_\_. 1997b. *Chelonia mydas* in the northern region of the Patos Lagoon, South Brazil. **Marine Turtle Newsletter**, (77): 10-11.
- STABENAU, E.K.; K.S. SANLEY; AND A.M. JR. LANDRY. 1996. Sex ratios of sea turtles on the upper Texas coast. **J. Herpetol.** 30, 427-430.

- TRIGO, C.T. & M. BORGES-MARTINS. 2001. Padrões de ocorrência da tartaruga marinha *Chelonia mydas* no litoral norte do Rio Grande do Sul e verificação da presença de marcas de crescimento em ossos longos, p. 11. In: Resumos do **I Simpósio da Sociedade Brasileira de Herpetologia**. São Paulo, SP.
- WYNEKEN, J. 2001. **The Anatomy of Sea Turtles**. Miami, FL, USA. 181p.
- WYNEKEN, J.; EPPERLY, S. P.; CROWDER, L. B.; VAUGHAN, J. & ESPER, K. B. 2007. Determining sex in posthatchling loggerhead sea turtles using multiple gonadal and accessory duct characteristics. **Herpetologica**, 63 (1): 19-30.
- WIBBELS, T. 1991. Female-biased sex ratio of immature loggerhead sea turtles inhabiting the Atlantic coastal waters of Florida. **Canadian Journal of Zoology** 69, 2973-2977.
- WIBBELS, T. 2003. Critical approaches to sex determination in sea turtles. P. 103-134. In: P. L. Lutz, J. A. Musick e J. Wyneken (eds.). **The Biology of Sea Turtles**. Volume II. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, IV + 472 p.
- YNTEMA, C.L. & N. MROSOVSKY. 1980. Sexual differentiation in hatchling loggerheads (*Caretta caretta*) incubated at different controlled temperatures. **Herpetologica** 36, 33-36.
- ZBINDEN, J.A.; D. CHRISTINA; D. MARGARITOU LIS & R. ARLETTAZ. 2007. Large spatial variation and female bias in the estimated sex ratio of loggerhead sea turtle hatchlings of a Mediterranean rookery. **Endangered Species Research** 3:305-312.

## 6 - Anexos

### 6.1 -Protocolo para Inclusão de Gônadas em Parafina

- 1) Retirar do álcool 70%
- 2) Corar com eosina - 1 min.(até ficar rosa claro)
- 3) **Desidratação e Diafanização**

**Obs.:** Nunca trocar a peça, mas sim os líquidos.

- a) Álcool 70 % - 30 min.
- b) Álcool 80% - 30 min.
- c) Álcool 90% - 30 min.
- d) Álcool 100 % I - 30 min.
- e) Álcool 100% II - 30 min.
- f) Xilol I - 15 min. (retira o álcool existente na peça)
- g) Xilol II - 15 min.
- h) Xilol III - 15 min.

#### 4) **Banhos de Parafina – Estufa 63° C**

Obs.: Se tiver que parar a técnica, colocar o material na Parafina I por 15 min., retirar o material e deixar em temperatura ambiente, podendo assim ficar por alguns dias. Quando o material retornar a estufa deixar primeiro derreter a parafina para depois começar a contar o tempo.

- I) Parafina I - 1 hora
- II) Parafina II -1 hora
- III) Parafina III - 1 hora

#### 5) **Bloqueamento**

Montar o bloco em forma de papel

#### 6) **Corte**

- Colar o bloco de parafina em tacos de madeira apropriados
- O bloco será cortado no micrótomo e após colocados em Banho Maria
- Depois de colocados em lâminas deixar na estufa a 40°, por 48 hs

#### 7) **Montagem das Lâminas: Desparafinar e Corar**

Retirar as lâminas da estufa e iniciar a desparafinação

- a) Xilol I - 20 min.
- b) Xilol II - 20 min.
- c) Álcool 100% I - 3 min.
- d) Álcool 100% II - 3 min.
- e) Álcool 96 % - 3 min.
- f) Álcool 90 % - 3 min.
- g) Álcool 80 % - 3 min.
- h) Álcool 70% I - 3 min.
- i) Hematoxilina-30s a 1 min. (cora a cromatina nuclear, o núcleo é basófilo)
- j) H<sub>2</sub>O corrente - 20 min
- k) Eosina - 30s (cora o citoplasma, citoplasma e o nucléolo são acidófilos)
- l) Álcool 70% - 1 min.

- m) Álcool 80 %- 1 min.
- n) Álcool 96 %- 1 min.
- o) Álcool 100% I-1 min.
- p) Álcool 100% II-1 min.
- q) Xilol I- 5 min.
- r) Xilol II- 5 min.
- s) Iniciar a montagem da lamínula imediatamente.

### **8) Montagem da Lâmina**

Colocar um filete de Bálsamo do Canadá ou de Entelam ao longo da lâmina e colocar a lamínula. Incliná-la para evitar a formação de bolhas.

Obs.: Examinar a lâmina contra a claridade se houve formação de bolhas.

- Guardar as lâminas prontas deitadas para secar em temperatura ambiente.

## **6.2 - Forma e preparação de manuscritos para a Revista Brasileira de Zoologia**

### MANUSCRITOS

Devem ser acompanhados por carta de concessão de direitos autorais e anuência, modelo disponível no [site da SBZ](#), assinada por todos os autores. Os artigos devem ser enviados em três vias impressas e em mídia digital, disquete ou CD, em um único arquivo no formato PDF, incluindo as figuras e tabelas. O texto deverá ser digitado em espaço duplo, com margens esquerda e direita de 3 cm, alinhado à esquerda e suas páginas devidamente numeradas. A página de rosto deve conter: 1) título do artigo, mencionando o(s) nome(s) da(s) categoria(s) superior(es) à qual o(s) animal(ais) pertence(m); 2) nome(s) do(s) autor(es) com endereço(s) completo(s), exclusivo para recebimento de correspondências, e com respectivos algarismos arábicos para remissões; 3) resumo em inglês, incluindo o título do artigo se o mesmo for em outro idioma; 4) palavras-chave em inglês, no máximo cinco, em ordem alfabética e diferentes daquelas utilizadas no título; 5) resumo e palavras-chave na mesma língua do artigo, ou em português se o artigo for em inglês, e equivalentes às do resumo em inglês. O conjunto de informações dos itens 1 a 5 não deve exceder a 3500 caracteres considerando-se espaços.

Os nomes de gênero(s) e espécie(s) são os únicos do texto em itálico. A primeira citação de um taxa no texto, deve vir acompanhada do nome científico por extenso, com autor e data, e família.

Citações bibliográficas devem ser feitas em caixa alta reduzida (Versalete) e da seguinte forma: Smith (1990), Smith (1990: 128), Lent & Jurberg (1965), Guimarães *et al.* (1983), artigos de um mesmo autor ou seqüências de citações devem ser arrolados em ordem cronológica.

## **ILUSTRAÇÕES E TABELAS**

Fotografias, desenhos, gráficos e mapas serão denominados figuras. Desenhos e mapas devem ser feitos a traço de nanquim ou similar. Fotografias devem ser nítidas e contrastadas e não misturadas com desenhos. A relação de tamanho da figura, quando necessária, deve ser apresentada em escala vertical ou horizontal.

As figuras devem estar numeradas com algarismos arábicos, no canto inferior direito e chamadas no texto em ordem crescente, devidamente identificadas no verso, obedecendo a proporcionalidade do espelho (17,0 x 21,0 cm) ou da coluna (8,3 x 21,0 cm) com reserva para a legenda.

Legendas de figuras devem ser digitadas logo após à última referência bibliográfica da seção Referências Bibliográficas, sendo para cada conjunto um parágrafo distinto.

Gráficos gerados por programas de computador, devem ser inseridos como figura no final do texto, após as tabelas, ou enviados em arquivo em separado. Na composição dos gráficos usar fonte Arial. Não utilizar caixas de texto.

Figuras em formato digital devem ser enviadas em arquivos separados, no formato TIF com compactação LZW. No momento da digitalização utilizar as seguintes definições mínimas de resolução: 300 ppp para fotos coloridas ou em tons de cinza; 600 ppp para desenhos a traço. Não enviar desenhos e fotos originais quando da submissão do manuscrito.

Tabelas devem ser geradas a partir dos recursos de tabela do editor de texto utilizado, numeradas com algarismos romanos e inseridas após a última legenda de figura. O cabeçalho de cada tabela deve constar junto à respectiva tabela.

Figuras coloridas poderão ser publicadas com a diferença dos encargos custeada pelo(s) autor(es).

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecimentos, indicações de financiamento e menções de vínculos institucionais devem ser relacionados antes do item Referências Bibliográficas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

*Literatura Citada.* Citações são ordenadas alfabeticamente. Todas as referências citadas no texto devem ser incluídas na seção Literatura Citada e todos os itens nesta seção devem ser citados no texto. Citação de estudos não publicados ou relatórios não são permitidas. Volume e número de páginas devem estar disponíveis para periódicos. Cidade, editora e paginação total para livros. Resumos não submetidos ao processo de avaliação por pares não devem ser citados. Trabalhos podem ser citados excepcionalmente como "no prelo" somente até o estágio de revisão de texto, quando a referência deverá ser completada ou suprimida caso não ainda tenha sido publicada. Se absolutamente necessário, um relato pode ser documentado no texto do manuscrito como "pers. comm.", alertando a pessoa citada que sua comunicação pessoal será transcrita em seu artigo. Comunicações pessoais não deverão ser incluídas na seção Literatura Citada. As referências citadas no texto devem ser listadas no final do manuscrito, de acordo com os exemplos abaixo. O título de cada periódico deve ser completo e sem abreviações.

### *Periódicos*

Sempre que disponível, inclua o DOI (Digital Object Identifier) como demonstrado abaixo.

GUEDES, D.; R.J. YOUNG & K.B. STRIER. 2008. Energetic costs of reproduction in female northern muriquis, *Brachyteles hypoxanthus* (Primates: Platyrrhini: Atelidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **25** (4): 587-593. doi: 10.1590/S0101-81752008000400002.

LENT, H. & J. JURBERG. 1980. Comentários sobre a genitália externa masculina em *Triatoma Laporte, 1832* (Hemiptera, Reduviidae). **Revista Brasileira de Biologia** **40** (3): 611-627.

SMITH, D.R. 1990. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphita) of America South of the United States: Pergidae. **Revista Brasileira de Entomologia** **34** (1): 7-200.

### *Livros*

HENNING, W. 1981. **Insect phylogeny**. Chichester, John Wiley, XX+514p.

### *Capítulo de livro*

HULL, D.L. 1974. Darwinism and historiography, p. 388-402. In: T.F. Glick (Ed.). **The comparative reception of Darwinism**. Austin, University of Texas, IV+505p.

#### *Páginas eletrônicas*

MARINONI, L. 1997. Sciomyzidae. In: A. Solis (Ed.). **Las Familias de insectos de Costa Rica**. Available online at: <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/texto630.html> [Accessed: date of access].

### **ENCAMINHAMENTO**

Os artigos enviados à RBZ serão protocolados e encaminhados para consultores. As cópias do artigo, com os pareceres emitidos serão devolvidos ao autor correspondente para considerar as sugestões. Estas cópias juntamente com a versão corrigida do artigo impressa e o respectivo disquete, devidamente identificado, deverão retornar à RBZ. Alterações ou acréscimos aos artigos após esta fase poderão ser recusados. Provas serão enviadas eletronicamente ao autor correspondente.

### **SEPARATAS**

Todos os artigos serão reproduzidos em 50 separatas, e enviadas gratuitamente ao autor correspondente. Tiragem maior poderá ser atendida, mediante prévio acerto de custos com o editor.

### **EXEMPLARES TESTEMUNHA**

Quando apropriado, o manuscrito deve mencionar a coleção da instituição onde podem ser encontrados os exemplares que documentam a identificação taxonômica.

### **RESPONSABILIDADE**

O teor gramatical, independente de idioma, e científico dos artigos é de inteira responsabilidade do(s) autor(es).