

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ**

**JULIEDE NONATO NEVES**

**CARACTERIZAÇÃO REPRODUTIVA DE TARTARUGAS MARINHAS  
E AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE EMBRIÕES E  
NATIMORTOS EM BELMONTE – BA**

**ILHÉUS – BAHIA**

**2018**

**JULIEDE NONATO NEVES**

**CARACTERIZAÇÃO REPRODUTIVA DE TARTARUGAS MARINHAS  
E AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE EMBRIÕES E  
NATIMORTOS EM BELMONTE – BA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Clínica e Sanidade Animal

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Fabiana Lessa Silva

**ILHÉUS – BAHIA**

**2018**

N513

Neves, Juliede Nonato

Caracterização reprodutiva de tartarugas marinhas e avaliação anatomopatológica de embriões natimortos em Belmonte – Ba / Juliede Nonato Neves. – Ilhéus, BA: UESC, 2018.  
vii, 45f. : il.

Orientadora: Fabiana Lessa Silva  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.  
Inclui referências.

1. Tartarugas. 2. Mortalidade embrionária animal. 3. Controle de temperatura. 4. Histopatologia. I. Título.

CDD 597.92

**JULIEDE NONATO NEVES**

**CARACTERIZAÇÃO REPRODUTIVA DE TARTARUGAS MARINHAS  
E AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE EMBRIÕES E  
NATIMORTOS EM BELMONTE – BA**

Ilhéus – BA, 28 de fevereiro de 2018.

---

DSc. Fabiana Lessa Silva

UESC-DCAA  
(Orientadora)

---

DSc. Fábio Flores Lopes

UESC/DCB

---

DSc. Cecília Baptistotte

Centro TAMAR/ICMBio

**ILHÉUS – BAHIA**

**2018**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UESC pela oportunidade oferecida e à CAPES pela bolsa de pesquisa concedida.

À Fabiana Lessa, por aceitar o desafio de conduzir uma pesquisa no ramo da patologia de animais silvestres, pelo conhecimento transmitido e pela compreensão diante de inúmeras situações vividas ao longo dos meses do mestrado.

Gostaria de aproveitar a oportunidade para expressar minha gratidão aos colegas: Paula Guedes, Glaucia Maciel, William Morais, Ana Paula Calazans, Renan Albuquerque, Jeane Martinha, Rafael Bitencourt, Thyara Simões, Jennifer Bombonatti, entre outros que de alguma forma contribuíram para deixar os meus dias mais felizes.

Agradeço os professores pelos ensinamentos, Dra. Roueda Said, Dr. Ivan Allamam, Dra. Soraia Matarazzo, Dr. Alexandre Munhoz e Dra. Poliana Melo.

Ao professor Dr. Gil Marcelo Reuss Strenzel gostaria de expressar minha gratidão por apoiar minhas ideias desde a graduação, por ajudar a discutir os resultados desse trabalho e na confecção dos mapas.

Ao PAT Ecosmar, instituição que me acolheu ao longo da graduação e que possibilitou que essa pesquisa fosse realizada. Da equipe PAT Ecosmar eu gostaria de destacar e agradecer ao Paolo Botticeli e a Maruza Ribeiro, pessoas extremamente comprometidas na proteção das espécies de tartarugas marinhas no extremo sul da Bahia. Ao Alberto Viana pelo apoio e auxílio em campo.

Agradeço ainda ao João Carlos Thomé, coordenador nacional do Centro Tamar/ICMBio, por todo apoio desde as questões técnicas à ajuda para resolver conflitos locais de sobreposições de licenças e também por contribuir com a pesquisa com os termômetros dentro dos ninhos.

Aos pesquisadores da University Of Exeter na Inglaterra, em especial a Liliane Colman por confiar em mim e emprestar termômetros que seriam utilizados no seu campo de pesquisa com as *Dermochelys coriacea* naquele mesmo período em Regência, Espírito Santo.

À Dra. Cecília Baptistotte e ao professor Dr. Fábio Lopes por aceitarem participar da banca examinadora e pelas contribuições com a pesquisa.

Para finalizar, quero agradecer à minha família pelo carinho e apoio e ao meu Deus por me dar a oportunidade de viver e conhecer todas essas pessoas especiais.

# CARACTERIZAÇÃO REPRODUTIVA DE TARTARUGAS MARINHAS E AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE EMBRIÕES E NATIMORTOS EM BELMONTE – BA

## RESUMO

As tartarugas marinhas nidificam em locais selecionados pela fêmea, onde dezenas de ovos permanecem agrupados durante o período de incubação. Os genitores não protegem sua prole durante o desenvolvimento embrionário. Desta forma, a qualidade dos ovos e o ambiente de incubação determinarão o sucesso de eclosão. O ambiente de incubação com seus fatores bióticos e abióticos é comumente relacionado à mortalidade de filhotes. Contudo, existe uma escassez de informações na literatura sobre as alterações teciduais relacionadas a essa mortalidade, da mesma maneira, as desovas no sul da Bahia são pouco conhecidas. Objetiva-se caracterizar o perfil das desovas das tartarugas marinhas em Belmonte, Bahia e identificar as alterações patológicas presentes nos embriões e natimortos de quatro espécies. A pesquisa ocorreu entre setembro de 2016 e março de 2017 através do monitoramento de praia realizado pelo PAT Ecosmar. Neste período, foram registradas 415 ocorrências reprodutivas em 29 km de praia. Foram colocados termômetros nos ninhos de *Lepidochelys olivacea* e observou-se que a média de temperatura foi de 32,6 °C. Para análise anatomopatológica coletou-se o coração, fígado, pulmões, rins e musculatura esquelética de natimortos e embriões grandes mortos oriundos de 40 ninhos. Os tecidos foram processados pela técnica convencional para inclusão em parafina e os cortes histológicos obtidos foram corados pela hematoxilina e eosina no laboratório de Histopatologia do HV-UESC. À microscopia as alterações comuns às espécies foram degeneração vacuolar hepática, degeneração vacuolar nos túbulos renais e alterações circulatórias. Sugere-se que a degeneração vacuolar hepática seja normal durante a fase neonatal e que nos túbulos renais pode estar relacionada a episódios de privação de oxigênio dentro do ninho. Não foram observadas alterações significativas nos demais órgãos. Este é o primeiro estudo no Brasil sobre histopatologia dos principais órgãos dos embriões e natimortos de *C. caretta*, *E. imbricata*, *C. mydas* e *L. olivacea*. São necessários estudos considerando outras variáveis com o intuito de investigar a neomortalidade de tartarugas marinhas. Possibilitando conhecer o *status* sanitário da população e propor medidas de mitigação.

**Palavras-chave:** Quelônios marinhos. Mortalidade embrionária. Temperatura. Histopatologia.

# REPRODUCTIVE CHARACTERIZATION OF MARINE TURTLES AND ANATOMOPATHOLOGICAL EVALUATION OF EMBRYOS AND NATITIES IN BELMONTE - BA

## ABSTRACT

Sea turtles nest in locations selected by the female, where dozens of eggs remain grouped during the incubation period. The parents do not protect their offspring during embryonic development. In this way, egg quality and incubation environment will determine hatching success. The incubation environment with its biotic and abiotic factors is commonly related to pup mortality. However, there is a scarcity of information in the literature about tissue changes related to this mortality, in the same way, the spawnings in the south of Bahia are little known. The objective of this study was to characterize the spawning profile of sea turtles in Belmonte, Bahia and to identify the pathological changes present in the embryos and stillbirths of four species. The survey took place between September 2016 and March 2017 through the monitoring of the beach conducted by PAT Ecosmar. During this period, 415 reproductive occurrences were registered in 29 km of beach. Thermometers were placed in the nests of *Lepidochelys olivacea* and it was observed that the average temperature was 32.6 ° C. The heart, liver, lungs, kidneys and skeletal musculature of stillborns and large dead embryos from 40 nests were collected for anatomopathological analysis. The tissues were processed by the conventional technique for paraffin inclusion and the histological sections obtained were stained by hematoxylin and eosin in the HV-UESC Histopathology laboratory. Under microscopy the common alterations to the species were hepatic vacuolar degeneration, vacuolar degeneration in the renal tubules and circulatory changes. It is suggested that hepatic vacuolar degeneration is normal during the neonatal phase and that in renal tubules may be related to episodes of oxygen deprivation within the nest. No significant changes were observed in the other organs. This is the first study in Brazil on the histopathology of the main organs of the embryos and stillbirths of *C. caretta*, *E. imbricata*, *C. mydas* and *L. olivacea*. Studies are necessary considering other variables with the purpose of investigating the neonatal mortality of sea turtles. Making it possible to know the health status of the population and to propose mitigation measures.

**Keywords:** Marine chelonians. Embryonic mortality. Temperature. Histopathology.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 OBJETIVOS.....	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3.1 ANATOMIA.....	12
3.2 REPRODUÇÃO E OVIPOSIÇÃO.....	14
3.3 DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO.....	16
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1 AREA DE ESTUDO.....	19
4.2 COLETA DE DADOS.....	20
4.3 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA MÉDIA DE INCUBAÇÃO... ..	21
4.4 DETERMINAÇÃO DO SUCESSO DE ECLOSÃO E MORTALIDADE EMBRIONÁRIA.....	22
4.5 NECROPSIA, COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA HISTOPATOLOGIA.....	23
4.6 ANÁLISE DOS DADOS.....	24
5 RESULTADOS.....	26
6 DISCUSSÃO.....	33
7 CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

## 1 INTRODUÇÃO

Tartarugas marinhas são animais ameaçados de extinção e constam na lista vermelha da IUCN e na Lista Brasileira de espécies Ameaçadas, em classificação para as distintas espécies. As ações com o enfoque na conservação se baseiam em garantir o sucesso reprodutivo das espécies. Este está atrelado a diversos fatores como a qualidade do ambiente de incubação, proteção das áreas de nidificação e a sanidade animal, por exemplo.

O ambiente de incubação é altamente complexo. Fatores bióticos e abióticos atuam no desenvolvimento dos embriões, prolongando ou diminuindo o tempo de incubação, determinando o sexo dos animais e influenciando a taxa de sucesso de eclosão. Desta forma, discutir sobre mortalidade embrionária e neomortalidade faz-se necessário para identificar os fatores envolvidos nesta delicada fase.

Natimortos e embriões grandes em perfeito estado de conservação comumente são encontrados sem vida dentro dos ninhos e pouco se sabe sobre as alterações que culminaram com a morte.

O município de Belmonte está localizado na costa do Descobrimento, extremo sul da Bahia. Belmonte no passado foi um importante polo financeiro para a comercialização de amêndoas de cacau na Bahia. Passada a crise da vassoura de bruxa, hoje é conhecida como a "terra do guaiamum" (*Cardisoma guaiumi*). Por ser banhado pelas águas do rio Jequitinhonha, exibe um vasto manguezal que abriga espécies de diversos táxons.

Em Belmonte encontra-se um importante sítio de desovas de tartarugas marinhas, no qual o Projeto Amiga Tartaruga (PAT Ecosmar) realiza atividades de pesquisa, proteção dos ninhos e educação ambiental, desde a assinatura do Protocolo para Proteção das Tartarugas Marinhas em 1998 com o Centro TAMAR/ICMBIo do Protocolo para Proteção das Tartarugas Marinhas

De acordo com o PAT Ecosmar, foram registradas desovas de cinco espécies em Belmonte, a saber, *Dermochelys coriacea*, *Eretmochelys imbricata*, *Lepidochelys olivacea*, *Chelonia mydas* e *Caretta caretta*. Além disso, observou-se que, ao longo dos anos, o número de ocorrências reprodutivas no município aumentou. As cidades vizinhas Santa Cruz Cabralia e Porto Seguro também fazem parte da área de atuação da ONG, contudo possuem um número menor de desovas por quilometro de praia.

Pesquisadores de vários países compartilham o desejo de agregar mais informações sobre tartarugas marinhas para propor estratégias para a conservação das espécies. No Brasil, as ações de conservação são regularizadas pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Tartarugas Marinhas e da Biodiversidade Marinha do Leste - Centro TAMAR/ICMBio, tendo como ferramenta para gestão, por exemplo, o Plano de Ação Nacional Para a Conservação das Tartarugas Marinhas e a plataforma de processamento de dados do Sistema de informação do Projeto TAMAR (SITAMAR/ICMBio). Dentro do território nacional, alguns fóruns discutem a pesquisa e conservação destas espécies, como a reunião de Pesquisa e Conservação de Tartarugas Marinhas do Nordeste (RETAMANE), do qual o PAT Ecosmar é membro. Desde 2003 os pesquisadores do Brasil, Argentina e do Uruguai se reúnem para discutir sobre conservação durante a reunião da Rede Atlântico Sul Ocidental - ASO Tartarugas, as instituições que compõem a RETAMANE também estão inseridas na rede ASO.

Considerando-se a importância das ações de conservação para as espécies de tartarugas marinhas, objetiva-se caracterizar o sitio reprodutivo de Belmonte. Da mesma forma, objetiva-se realizar avaliação anatomopatológica de tecidos de embriões grandes e de natimortos de *C. caretta*, *E. imbricata*, *C. mydas* e *L. olivacea*.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Caracterizar o perfil das ocorrências reprodutivas das espécies *Caretta caretta*, *Lepidochelys olivacea*, *Eretmochelys imbricata* e *Chelonia mydas* durante a temporada reprodutiva de quelônios marinhos 2016/2017 no sítio reprodutivo de Belmonte – BA.

### **2.2. Objetivos específicos**

1. Verificar quais as espécies de tartarugas marinhas que nidificam em Belmonte;
2. Verificar a abundância dos ninhos de cada espécie;
3. Estimar o período de incubação de cada espécie e o tamanho da ninhada;
4. Monitorar os ninhos até o momento da eclosão, para estimar o sucesso de eclosão;
5. Quantificar as taxas de mortalidade de acordo com o estágio embrionário;
6. Indicar a temperatura média de incubação para a espécie *L. olivacea*;
7. Identificar as alterações patológicas macroscópicas e microscópicas presentes em embriões mortos e natimortos.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

As tartarugas marinhas pertencem à ordem Testudines, a qual é dividida nas subordens Pleurodira e Cryptodira. A subordem Cryptodira representa os quelônios marinhos e contém sete espécies alocadas em duas famílias: Cheloniidae e Dermochelyidae (BOWEN, 1997; PRITCHARD, 1997).

Segundo a classificação taxonômica vigente, são reconhecidas seis espécies na família Cheloniidae: (1) *Caretta caretta*, (2) *Chelonia mydas*, (3) *Eretmochelys imbricata*, (4) *Lepdochelys olivacea*, (5) *Lepdochelys kempii* e (6) *Natator depressus* (WYNEKEN et al., 1956). As chaves de identificação das espécies dessa família tomam como base principalmente o número de placas córneas (PRITCHARD; MORTIMER 1999; WYNEKEN, 2001), por exemplo, a *C. caretta* apresenta cinco placas costais, *L. olivacea* em torno de sete a 11 costais, enquanto *C. mydas* e *E. imbricata* possuem quatro placas costais.

A família Dermochelyidae possui apenas a espécie *Dermochelys coriacea*, pois os demais membros dessa família foram extintos. A espécie se destaca das demais por apresentar características exclusivas de tamanho, coloração e casco (ALMEIDA et al., 2011b).

De acordo com Marcovaldi e Marcovaldi (1999), a população de tartarugas marinhas que frequentam a costa brasileira é considerada uma das maiores do mundo e geneticamente distinta das demais populações (REIS et al., 2010). Dentre as sete espécies catalogadas no mundo, cinco ocorrem no Brasil em pelo menos um período do seu ciclo de vida.

Segundo a Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção vigente no país, as tartarugas marinhas estão classificadas nas seguintes categorias: “vulnerável”: *C. mydas* (ALMEIDA et al., 2011a; BRASIL, 2014), “Em Perigo”: *C. caretta* (BRASIL, 2014; SANTOS et al., 2011) e *L. olivacea* (BRASIL, 2014; CASTILHOS et al., 2011) e “criticamente ameaçada”: *E. imbricata* (BRASIL, 2014; MARCOVALDI et al., 2011) e *D. coriacea* (ALMEIDA et al., 2011b; BRASIL, 2014).

No Brasil, atualmente são conhecidos muitos sítios de desovas de tartarugas marinhas, desde o norte do Rio de Janeiro até o Rio Grande do Norte.

Sabe-se que as desovas ocorrem de setembro a abril, no continente, e de dezembro a junho nas ilhas oceânicas (DA SILVA et al., 2007; SANTOS et al., 2011). Durante esse período, a fêmea pode realizar várias posturas na mesma praia ou em praias próximas (MILLER, 1997).

### 3.1. Anatomia

As tartarugas possuem um esqueleto axial modificado composto pela carapaça dorsal e carapaça ventral, revestidas por tecido córneo (composto por camadas de queratina) ou coriáceo (dérmico) (SNOVER; RHODIN, 2008; WYNEKEN, 2001). A família Cheloniidae representa os animais com o casco rígido sobreposto por placas córneas no dorso, enquanto a família Dermochelyidae distingue-se por suas características exclusivas, tais como ausência de carapaça rígida, coloração do corpo e comprimento da carapaça (WYNEKEN et al., 1956).

A carapaça constitui-se como uma estratégia evolutiva, conferindo-lhes proteção, hidrodinâmica e homeostasia. Diferentemente dos mamíferos, as tartarugas não possuem diafragma, suas vísceras são alojadas dentro da cavidade celomática (WYNEKEN et al., 2008).

O coração apresenta quatro divisões macroscópicas, contudo, são observados cinco ou até mesmo seis divisões funcionais (WYNEKEN, 2001; WYNEKEN et al., 2008). Dois átrios (direito e esquerdo), o *sinus venosus*, na região correspondente ao ventrículo direito nos mamíferos e o ventrículo (verdadeiro), que internamente é dividido em *cavum venosum*, *cavum arteriosum* e *cavum pulmonale* (WYNEKEN et al., 2008).

O suprimento sanguíneo arterial após a passagem pelo coração é realizado através dos três grandes vasos: aorta direita, tronco pulmonar e aorta esquerda. O sangue da aorta direita é distribuído para a cabeça e membros enquanto a aorta esquerda distribui o sangue para as vísceras; no terço médio da cavidade celomática as aortas se anastomosam formando a aorta dorsal (WYNEKEN, 2001; WYNEKEN et al., 2008).

Existem notáveis diferenças anatômicas no sistema respiratório em comparação com os mamíferos. Tartarugas apresentam anéis completos na

traqueia, os brônquios direito e esquerdo se estendem por quase todo o comprimento do pulmão, não existem bronquíolos e somente os brônquios são compostos por tecido cartilágneo (WYNEKEN, 2001; WYNEKEN et al., 2008). Contudo Perry (1989) observou em *Caretta caretta* que as trabéculas (septos entre as porções respiratórias) também possuem cartilagem hialina.

De forma análoga aos alvéolos pulmonares em mamíferos, as tartarugas possuem as edículas (*ediculi*) ou faveolos (*faveoli*) (FLEETWOOD; MUNNELL, 1996; MURRAY, 2006; PERRY et al., 1989; WYNEKEN, 2001). O epitélio que os recobre é do tipo glandular ciliado e cubico (PERRY, 1989), sendo pouco eficiente na remoção de corpos estranhos (MCARTHUR et al., 2004).

Dos brônquios esquerdo e direito formam-se os vários lobos divididos apenas internamente. Esses são verdadeiras câmaras subdivididas onde ocorrem as trocas gasosas. Macroscopicamente, o parênquima pulmonar tem aspecto esponjoso e coloração avermelhada (WYNEKEN, 2001). Os lobos pulmonares em *Caretta caretta* ocupam entre 50 e 78% do comprimento da cavidade celomática (WYNEKEN et al., 2008).

A inspiração e a expiração nas tartarugas ocorrem de maneira ativa. O diafragma está ausente e são os músculos peitorais e abdominais que se contraem para a passagem ou saída de ar (MURRAY, 2006; WYNEKEN et al., 2008). Estes animais passam mais tempo em hipoxia do que respirando, e isso ocorre em função de ajustes fisiológicos e moleculares (HOCHSCHEID; BENTIVEGNA; SPEAKMAN, 2003). A demanda de energia de determinadas regiões do corpo é reduzida de forma a se ajustar a oferta de glicose oriunda da produção anaeróbica (WYNEKEN et al., 2008).

Dentre os órgãos do sistema digestório, o fígado se destaca pelo tamanho e complexidade. Durante a avaliação macroscópica, são vistos dois lobos de coloração castanho-avermelhada; no lobo direito aloja-se a vesícula biliar (WYNEKEN, 2001). O parênquima é constituído por cordões de hepatócitos produtores de bile, capilares sinusoides, vasos sanguíneos e ductos biliares. A bile produzida passa pelos ductos, vesícula biliar e chega ao duodeno para

emulsificar as gorduras oriundas da dieta (CULLEN; STALKER, 2016; WYNEKEN, 2001).

O sistema urinário é formado pelos rins, ureteres, bexiga e cloaca. Nos rins, a relação córtex medula comumente avaliada em mamíferos (CIANCIOLO; MOHR, 2016) não existe, pois os glomérulos estão dispostos próximos à periferia e também no interior do órgão. Os néfrons (unidade funcional) não possuem alça de Henle (WYNEKEN, 2001). Constatou-se que indivíduos da espécie *C. mydas* conseguem desenvolver novos néfrons funcionais (SOLOMON, 1985). As tartarugas possuem bexiga urinária para o armazenamento como nos mamíferos e também como reservatório de água, uma vez que a osmolaridade da urina e do plasma são iguais (BRAUN, 1998).

O sistema reprodutivo é composto pelos ovários, oviduto e cloaca nas fêmeas. De acordo com Gist e Jones (1989), o oviduto é dividido anatomicamente nas regiões do albúmem, istmo, útero e vagina. Contudo, Wyneken (2001) divide funcionalmente em cinco regiões: *infundibulum*, segmento - não glandular, *magnum*, segmento glandular e vagina.

### **3.2. Reprodução e oviposição**

Durante o início da estação reprodutiva machos e fêmeas migram para os sítios de nidificação. Machos com níveis séricos elevados de testosterona apresentarão maior vigor para acasalar com o maior número de fêmeas e interagir com mais machos, disputando-as (MILLER, 1997). As fêmeas podem acasalar com vários machos de forma a aumentar a variabilidade genética em uma ninhada (GIRLING, 2002).

Nas tartarugas marinhas, os espermatozoides comumente são armazenados nas criptas da mucosa do oviduto (GIRLING, 2002), mais especificamente na porção posterior das glândulas secretoras de albúmem (GIST; CONGDON, 1998; GIST; JONES, 1989), localizadas na região da tuba uterina (GIRLING, 2002), que também é chamada de *magnum* por Wyneken (2001).

Gist e Jones (1989) examinaram o oviduto de 11 espécies de quelônios, incluindo *Lepidochelys olivacea*, e notaram que os gametas masculinos permaneceram no oviduto nos meses do outono até o verão. Estocar

espermatozoides garante a oferta de gametas durante o período de pouca atividade sexual de forma a estender a estação reprodutiva e evita que a fêmea fique vulnerável à predação animal, uma vez que o número de cópulas é reduzido, além de promover a variabilidade genética (GIRLING, 2002). Desta forma, estocar gametas parece uma eficiente estratégia reprodutiva. Em termos de conservação é ainda mais interessante, visto que nascem mais fêmeas do que machos no Brasil (MARCOVALDI et al., 1996; MARCOVALDI et al., 2016).

Existem lacunas na literatura em relação aos componentes secretados no oviduto para armazenar e garantir a viabilidade dos gametas masculinos nas fêmeas, bem como sobre o local de fertilização (*infundibulum* ou tuba uterina) (GIRLING, 2002). Ainda pouco se sabe se existem diferenças interespecíficas (GIST; JONES, 1989).

O estímulo à desova inicia-se após a completa formação dos componentes externos e internos do ovo dentro do trato reprodutivo da fêmea (MILLER, 1997). Nesta fase, as fêmeas que estão nos sítios de desova recebem estímulos bioquímicos para se deslocarem do mar para a terra (FIGLER et al., 1989). Em terra, percorrem alguns metros até iniciarem a escavação do ninho (MILLER, 1997). A distância percorrida depende do tipo de praia - reflexiva ou dissipativa - (WOOD; BJORNDAL, 2000).

O ninho é cuidadosamente escavado em formato ovalado utilizando as nadadeiras posteriores para remoção da areia (MILLER, 1997). Cada ninho abriga em média 120 ovos (SANTOS et al., 2011). Com o fim da postura, o ninho é fechado com areia e a fêmea utiliza seu peso corporal e as nadadeiras para compactá-lo (MILLER, 1997; WYNEKEN et al., 2007).

Em um estudo realizado por Figler et al. (1989) com *Caretta caretta* e *Lepidochelys olivacea*, no qual foi mensurada a concentração de hormônios neurohipofisários envolvidos na contração do oviduto durante a desova nas fêmeas em vida livre, observou-se que os níveis séricos de arginina vasotocina e neurofisisina aumentavam à medida que a fêmea iniciava a confecção do ninho e diminuían ou se mantinham no nível basal após o retorno ao mar. Neste estudo,

observou-se ainda que, durante o pico de arginina vasotocina, as fêmeas apresentaram pouca ou nenhuma sensibilidade aos estímulos externos.

Dentro do ninho, os ovos ficam agrupados durante todo o período de incubação e este tempo varia de acordo com as características da espécie e com o microambiente de incubação (ACKERMAN, 1977; MILLER, 1999). No geral, para a população de tartarugas que nidificam no Brasil, o tempo de incubação é em média de 50 dias (SANTOS et al., 2011).

### **3.3. Desenvolvimento embrionário**

A embriogênese tem início no oviduto (WYNEKEN, 2001). Os embriões em estágio inicial do desenvolvimento permanecem retidos na região da vagina até a postura. Durante esse período, o ambiente nesta região se mantém livre de oxigênio (hipóxico), o que faz com que os embriões não se desenvolvam (WILLIAMSON et al, 2017). O estímulo para o retorno ao desenvolvimento dos embriões é a exposição a um ambiente saturado de oxigênio (normoxia), o que ocorre naturalmente a partir das 12 horas iniciais de incubação na areia da praia (WILLIAMSON et al, 2017).

Todo o período do desenvolvimento embrionário é dependente principalmente da mobilização de nutrientes presentes na gema (lecitotrofia) (THOMPSON; SPEAKE, 2002). Estão presentes em maiores quantidades os lipídios e proteínas (CRAVEN et al., 2008), que são importantes fontes de energia e fornecem componentes para a organização estrutural dos tecidos (ACKERMAN, 1977; THOMPSON; SPEAKE, 2002).

O crescimento dos embriões não é linear. Durante a primeira metade do período de incubação, apresenta-se lento, acelerando a medida que ultrapassa a segunda metade do período de incubação (ACKERMAN, 1981). Quando o fluxo de oxigênio diminui dentro do ninho, os embriões se desenvolvem mais lentamente, o que pode influenciar a taxa de sucesso de eclosão (ACKERMAN, 1981).

O desenvolvimento embrionário pode ser afetado por um ou pela associação de alguns fatores, tais como temperatura, umidade, concentração de gases (ACKERMAN, 1977; ACKERMAN, 1981), presença de bactérias

(WYNEKEN et al., 1988), fungos (NEVES et al., 2015; PHILLOTT et al., 2006), predação animal, crescimento de raízes dentro da câmara, erosão da praia de nidificação (MILLER, 1999; TRULLAS, 2007), mobilização de cálcio para osteogênese (PHILLOTT et al., 2006), mobilização de nutrientes (CRAVEN et al., 2008; THOMPSON; SPEAKE, 2002) e característica do sedimento.

A temperatura é uma variável que influencia a sexagem do embrião, por estimular a produção de enzimas específicas para a maturação das gônadas masculinas ou femininas (PIEAU, 1996). É capaz de influenciar os níveis de oxigênio e a mobilização de nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho dos filhotes nas primeiras horas de natação (BOOTH; ASTILL, 2001; BOOTH et al., 2004).

A temperatura influenciará também o tempo de incubação, visto que temperaturas baixas (26° C) provocam um desenvolvimento embrionário lento que expõe os animais às variações no ambiente de incubação por mais tempo, tendo como resultado a redução do número de filhotes vivos (BOOTH; ASTILL, 2001). Temperaturas elevadas (acima de 35°C) interferem na taxa de eclosão, pois são letais para os embriões (ACKERMAN, 1997; HOWARD et al., 2014; VALVERDE et al., 2010).

A casca do ovo de tartarugas marinhas é mais permeável às trocas de gases e umidade em relação à casca de ovos de galinha (ACKERMAN; PRANCE, 1972). Neste contexto, as trocas gasosas no ninho influenciam o desenvolvimento dos embriões, sobretudo na segunda metade do período de incubação (ACKERMAN, 1997; TRULLAS, 2007).

Além disso, os ovos de tartarugas marinhas possuem a casca mais fina no momento da eclosão. Isso acontece devido à mobilização do cálcio presente na casca do ovo para o embrião durante seu desenvolvimento (ACKERMAN, 1972; BUSTARD et al., 1969; PHILLOTT et al., 2006; SAHOO et al., 1998), o que pode contribuir para o aumento da permeabilidade da casca.

Ackerman e Prance (1972), mensurando a concentração de gases dentro do ninho das espécies *C. mydas* e *C. caretta*, observaram que há diminuição da concentração de oxigênio (O<sub>2</sub>) e aumento da concentração de dióxido de carbono

(CO<sub>2</sub>) durante o período de incubação. Esses autores atribuíram esses resultados ao metabolismo embrionário e difusão de gases pela areia ao redor do ninho.

Trullas et al. (2007) atribuem o aumento da temperatura e concentração de CO<sub>2</sub> durante o início do período de incubação à carga bacteriana presente no ninho. Então, é possível que o microambiente do ninho se torne tão saturado de CO<sub>2</sub> a ponto dos animais sofrerem insuficiência respiratória, conforme Ackerman (1981) sugeriu.

De maneira isolada ou interdependente, outros agentes podem comprometer o desenvolvimento embrionário. A infecção por fungos da espécie *Fusarium solani* foi identificada em diferentes estágios de desenvolvimento dos embriões, desde a segunda semana de incubação até estágios avançados, com micélio evidente no interior do ovo (SARMIENTO-RAMÍREZ et al., 2014). Phillott et al. (2006) relataram que estes fungos degradam o cálcio da casca dos ovos, o que facilita a penetração das hifas. No Brasil, Neves et al. (2015) correlacionaram a infecção pelo *F. Solani* à mortalidade embrionária, corroborando com estudos anteriores.

Para os quelônios de água doce a característica do sedimento da praia influenciará a taxa de sucesso de eclosão através da temperatura retida em função do tamanho e da coloração do sedimento (FERREIRA JÚNIOR, 2009). Contudo para tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta*, Ferreira Júnior et al. (2003) ao analisarem em Anchieta - ES a composição do sedimento em relação ao tempo de incubação não encontraram correlação significativa.

A qualidade dos ovos e o ambiente de incubação determinarão o sucesso de eclosão, que implica diretamente no *status* de conservação dessas espécies, uma vez que, as tartarugas não são capazes de proteger a prole durante o desenvolvimento embrionário (ACKERMAN, 1997).

A descoberta das alterações morfológicas dos principais órgãos dos natimortos e embriões mortos das tartarugas fornecerá informações básicas para a compreensão dos eventos bióticos e abióticos do ninho que culminam com a morte dos animais neste estágio.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Área de estudo**

O estudo ocorreu no município de Belmonte (latitude  $-15^{\circ} 51'$  e longitude  $-38^{\circ} 51'$ ), uma cidade baiana que desde 2013 integra a costa do descobrimento. O município está inserido na área de preservação ambiental APA de Santo Antônio.

A pesquisa foi realizada em parceria com o PAT Ecosmar (Projeto Amiga Tartaruga), uma organização não governamental (ONG) que desde 1998 move seus esforços em prol do monitoramento das ocorrências reprodutivas (desovas) e não reprodutivas (encalhes) de tartarugas marinhas ao longo da costa do descobrimento (Belmonte, Santa Cruz Cabralia, Porto Seguro e Prado). A ONG possui uma base em Belmonte e realiza atividades de pesquisa nas praias todos os anos, durante os principais meses de desovas de tartarugas marinhas.

Belmonte possui um terminal marítimo para escoamento de fardos de celulose de uma empresa e, como cumprimento de uma condicionante federal, executa um programa de monitoramento de quelônios marinhos em algumas praias do município de Belmonte e em Santa Cruz Cabralia. Durante a temporada de 2016/2017, terceirizou os serviços contratando uma empresa de consultoria ambiental capixaba e o monitoramento de desovas seguiu com duas equipes em campo, com licenças específicas para cada instituição.

A área de amostragem incluiu 29 km de praia, abrangendo a foz do rio Jequitinhonha ( $-15^{\circ} 51'$  sul e  $-38^{\circ} 51'$  oeste) até a foz do rio Preto em Mogiquiçaba, distrito de Belmonte ( $-16^{\circ} 05'$  sul e  $-38^{\circ} 56'$  oeste). Esta área apresenta praias sem ocupação urbana, o que as torna um local ideal para desovas de tartarugas marinhas. Resumidamente, as praias de Belmonte apresentam estados intermediários entre praias reflexivas e praias dissipativas ao longo de 29 quilômetros, levando em consideração a classificação da Escola Australiana de Geomorfologia Costeira (CALLIARI et al., 2003).

## 4.2. Coleta de dados

A coleta de dados foi autorizada pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO (protocolo nº 55.115) e pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA (protocolo 013/17).

A pesquisa foi realizada entre os meses de setembro de 2016 a março de 2017, período que corresponde à temporada reprodutiva de tartarugas marinhas no Brasil. De outubro a março foram percorridos 58 quilômetros de praia (29 km de ida + 29 km de retorno) todos os dias da semana, utilizando um quadriciclo do PAT Ecosmar modelo Honda TRX 420 FM.

Durante o percurso de praia, foram registradas todas as ocorrências reprodutivas, que se resumem basicamente em “com desova”, “sem desova”, “meia-lua” e “não determinada” (SANTOS et al., 2011). Registravam-se informações indispensáveis como: data da ocorrência, quilometragem e coordenadas geográficas da ocorrência; espécie de tartaruga marinha; situação do ninho (*in situ* ou transferido); número de ovos transferidos; quilometragem e coordenadas geográficas do local da transferência; data da eclosão; tempo de incubação; número total de ovos; número total de animais vivos; número de natimortos; número de ovos não eclodidos e taxa de sucessão de eclosão. Os ovos não eclodidos foram abertos para quantificar o número de embriões pequenos, médios e grandes.

Os ninhos foram monitorados desde o dia da desova até o dia da saída dos filhotes. Eram identificados com estacas em um raio de três metros de distância, com o intuito de disfarçar o local exato da câmara para evitar a predação humana. A cada 500 metros de praia havia uma estaca de madeira numerada sinalizando a quilometragem do trecho de praia.

Cada ocorrência foi fotografada no primeiro dia de incubação, durante a incubação (quando necessário) e no dia da abertura total do ninho. Uma escala em centímetros era utilizada ao fotografar ovos e embriões.

Os ninhos incubaram naturalmente no local original da postura, com exceção apenas daqueles ameaçados pela maré alta, em locais com risco de

erosão. Nestes casos, foram realizadas transferências dos mesmos respeitando as dimensões e profundidades dos ninhos naturais, conforme a metodologia padrão do Projeto TAMAR-ICMBio. Dessa forma, os ovos foram colocados cuidadosamente em uma caixa térmica e transportados imediatamente para incubar naturalmente em local seguro na mesma quilometragem ou em local seguro mais próximo ao longo dos 29 quilômetros de praia.

A abertura total do ninho ocorreu no máximo dois dias após a saída dos primeiros filhotes, evento constatado pelos pequenos rastros e pela depressão da areia no espaço entre a câmara do ninho e a superfície externa. Em seguida, foram contadas todas as cascas, ovos não eclodidos e natimortos. As cascas representam filhotes vivos, os ovos não eclodidos correspondem à morte embrionária/ ovos não fecundados e os natimortos correspondem aos filhotes que romperam a casca dos ovos e morreram dentro do ninho, segundo descrito por Miller (1999).

As variáveis de interesse como tempo de incubação, tamanho da ninhada, taxa de eclosão, mortalidade embrionária foram avaliadas em 65 ninhos, sendo 24 de *C. caretta*, 13 de *E. imbricata*, 27 de *L. olivacea* e dois de *C. mydas*.

#### **4.3. Determinação da temperatura média de incubação para a espécie *L. olivacea***

Em parceria com pesquisadores do Centro de Ecologia e Conservação da Universidade de Exeter no Reino Unido e com o Centro de Pesquisa e Conservação de Tartarugas Marinhas e da Biodiversidade Marinha do Leste (Centro TAMAR/ICMBio), foram concedidos sete termômetros da marca Tinytag Explorer. Cada aparelho foi configurado para registrar a cada 30 minutos a temperatura local. Determinou-se que dois termômetros seriam utilizados como controle e cinco deveriam aferir a temperatura dentro do ninho (calor metabólico).

Os termômetros foram inseridos dentro da câmara de incubação no momento em que a fêmea realizava a postura, imediatamente após a deposição dos primeiros ovos e permaneceram *in situ* até o nascimento dos filhotes. Os

termômetros controles foram enterrados numa profundidade de 50 cm no quilômetro 10 (trecho com distribuição espacial de desovas significativa); entre eles havia uma distância de um metro. A temperatura foi mensurada de dezembro a março durante a temporada reprodutiva de 2016/2017, contabilizando 91 dias de esforço. Os dados de temperatura registrados foram transferidos para o computador através de um software da marca Tinytag Explorer.

Os termômetros deveriam ser colocados em ninhos *in situ* em um lugar na praia seguro e livre de erosão. A espécie alvo da análise era a *C. caretta*, com o passar dos dias e com ausência de flagrantos em situação ideal para a colocação dos termômetros dessa espécie e presença de flagrantos de *L. olivacea*, optou-se pela troca da espécie alvo.

#### **4.4. Determinação do sucesso de eclosão e mortalidade embrionária**

Com o objetivo de determinar a mortalidade embrionária de cada ninho, computou-se o número de ovos totais para estimar a porcentagem de ovos eclodidos e não eclodidos. Dentre os ovos não eclodidos, foram computados os ovos com embriões mortos e aqueles em que não foi possível definir se houve fecundação ou se a morte embrionária ocorreu no período inicial do desenvolvimento. Dos ovos com embriões mortos, foram classificados e contabilizados os embriões pequenos, médios e grandes, tomando como base a classificação dos embriões descritos por Crastz (1982) para a espécie *L. olivacea*.

Utilizando os dados quantitativos de cada ninho, foi possível estimar a taxa de sucesso de eclosão de acordo com Miller (1999) (figura 1). Para analisar as categorias com maior número de embriões mortos, calculou-se a média dos estágios embrionários de cada espécie.

$$\text{Taxa de Sucesso de Eclosão (\%)} = \frac{\text{Vivos}}{\text{Ovos Totais}} \times 100$$

Figura 1. Expressão numérica para estimar a taxa de sucesso de eclosão dos ninhos de tartaruga marinha.

#### **4.5. Necropsia, coleta e processamento das amostras para histopatologia**

Os embriões grandes mortos e os natimortos foram examinados macroscopicamente para identificação de deformidades anatômicas e lesões, bem como para selecionar os animais em menor estado de decomposição. Após a seleção inicial, os animais foram necropsiados tomando como base na técnica descrita por Wyneken (2001), sendo feitas algumas adaptações em função do tamanho (animais com menos de oito centímetros). Procedia-se uma incisão na linha media ventral do pescoço e incisões laterais paralelas ao plastrão e o casco, progredindo até a cauda. Em seguida, a musculatura peitoral e o saco vitelino (figura 2b) foram removidos para examinar e coletar as vísceras: coração, pulmões, fígado, rins e musculatura esquelética dos membros anteriores. Para evitar o comprometimento a qualidade das amostras, primeiramente era realizada a fixação do conjunto de órgãos em solução de formol a 10% (figura 2c) por 48 horas e posteriormente procedia-se a separação dos mesmos.

Os tecidos foram armazenados em recipientes de plástico com tampa rosqueada, contendo solução de formalina tamponada a 10% e transportados semanalmente para o laboratório de Histopatologia situado no Hospital Veterinário (HV) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Após a fixação, as amostras de tecidos foram submetidas ao processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. De forma simplificada, os tecidos foram submetidos a concentrações crescentes de álcool, diafanizados em xilol, embebidos e incluídos em parafina. Foram obtidas secções histológicas de 4-5µm de espessura com o auxílio do micrótomo rotativo, as quais foram coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina (H&E). Após a secagem das lâminas, os cortes

histológicos foram avaliados ao microscópio óptico para investigação das alterações microscópicas presentes.

Para análise anatomopatológica, foram necropsiados 119 animais (43 embriões grandes, 70 natimortos e seis filhotes mortos) provenientes de 40 ninhos, a saber, indivíduos de *C. caretta* (n= 43), indivíduos de *E. imbricata* (n= 26), indivíduos de *L. olivacea* (n= 45) e indivíduos de *C. mydas* (n= 05). Observa-se na tabela 1 o número de ninhos das espécies coletadas para análise, o número de indivíduos de cada espécie e o tipo de incubação (incubação *in situ* ou transferido).

Tabela 1. Número de ninhos amostrados (transferidos, *in situ* e total) e total indivíduos em relação à cada espécie de tartaruga marinha.

Espécie	Ninhos transferidos	Ninhos <i>in situ</i>	Total coletado	Total de Indivíduos
<i>Caretta caretta</i>	11	04	15	43
<i>Eretmochelys imbricata</i>	03	06	09	26
<i>Lepidochelys olivacea</i>	05	10	15	45
<i>Chelonia mydas</i>	0	01	01	05



Figura 2. Avaliação macroscópica interna realizada em indivíduos de *Caretta caretta*. a) abertura da cavidade celomática após a incisão lateral com exposição da musculatura peitoral e saco vitelino; b) exposição das vísceras da cavidade; c) remoção das vísceras em conjunto da laringe ao intestino grosso.

#### 4.6. Análise dos dados

Foi feito um censo no litoral do município de Belmonte com o intuito de avaliar as ocorrências reprodutivas das tartarugas marinhas. A pesquisa foi conduzida com base nas observações de cada ninho. Com isto, as variáveis de

interesse de cada espécie, como tempo de incubação, tamanho da ninhada, taxa de eclosão, mortalidade embrionária não foram controladas ou sofreram modificações *in situ*, apenas foram computadas ao fim do período de incubação de cada ninho.

Para extrair as informações observadas a partir dos ninhos, realizou-se uma análise exploratória dos dados no intuito de conhecer as características dos mesmos. As ocorrências reprodutivas que apresentassem dados incompletos foram excluídas da análise. Posteriormente confeccionaram-se mapas utilizando as coordenadas das ocorrências, para permitir analisar os padrões de distribuição das espécies e o perfil da taxa de sucesso de eclosão ao longo das praias de Belmonte. A análise dos dados de temperatura foi realizada utilizando o software da marca Tinytag Explorer.

Em relação aos dados obtidos na análise histológica foi feito uma avaliação descritiva das alterações encontradas sendo atribuídos escores para o grau de intensidade (1 - discreto, 2 - moderado, 3 - intenso). A distribuição das lesões foi classificada em focal, multifocal e difuso de acordo com Maxie e Miller (2016).

## 5 RESULTADOS

Foram registradas durante a temporada reprodutiva de quelônios marinhos 2016/2017 em Belmonte 415 ocorrências reprodutivas de quatro espécies de tartarugas marinhas: *Caretta caretta*, *Lepidochelys olivacea*, *Eretmochelys imbricata* e *Chelonia mydas*. Dezembro foi o mês com maior número de ocorrências reprodutivas, em média 3,3 ocorrências por dia (figura 3).

A espécie de tartaruga marinha que mais desovou em Belmonte foi a *C. caretta*, totalizando 101 ninhos, seguido pela *L. olivacea* com 92 ninhos, *E. imbricata* com 22 ninhos e pela *C. mydas* com apenas dois ninhos. Em 125 ninhos a espécie não pode ser identificada e 73 ninhos não foram monitorados porque o PAT Ecosmar finalizou a coleta de dados antes da eclosão destes. Os quilômetros quatro a nove concentraram o maior número de desovas para as espécies *L. olivacea* e *C. caretta* (figura 4).

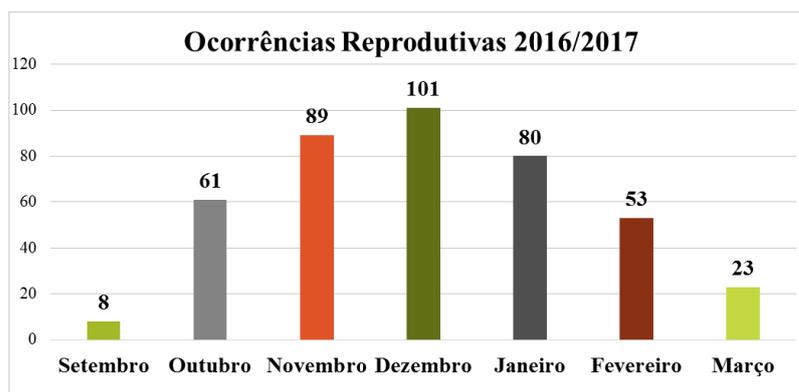


Figura 3. Ocorrências reprodutivas registradas entre os meses de setembro de 2016 e março de 2017 em Belmonte-BA.

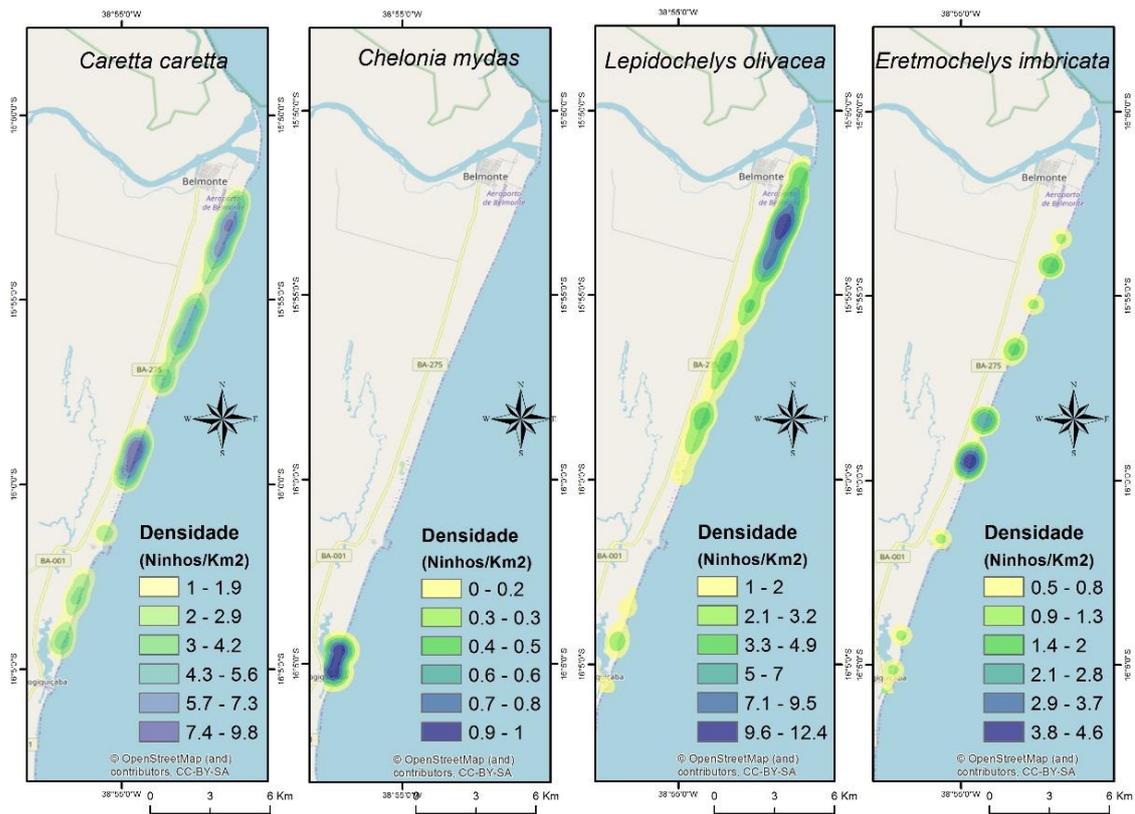


Figura 4. Densidade dos ninhos de *C. caretta*, *L. olivacea*, *E. imbricata* e *C. mydas* ao longo dos 29 quilômetros de praia monitorados em Belmonte durante a temporada reprodutiva de quelônios marinhos 2016/2017.

O tamanho da ninhada (número de ovos totais) e o número de animais mortos em cada categoria do desenvolvimento estão dispostos na tabela 2. O tempo de incubação dos ninhos *in situ* de *C. caretta* variou de 49 a 64 dias com a média de 52 dias, 48 a 64 dias para *E. imbricata* com média de 55 dias, 47 a 59 dias para *L. olivacea* com média de 50 dias e 51 a 53 dias para *C. mydas* com a média de 52 dias (tabela 3).

Tabela 2. Número de ninhos, média de ovos totais e número de embriões mortos em relação à categoria do desenvolvimento embrionário das espécies de tartarugas marinhas *C. caretta*, *L. olivacea*, *E. imbricata* e *C. mydas* durante a temporada reprodutiva 2016/2017 no município de Belmonte - BA.

<b>Espécie</b>	<b>Número amostral</b>	<b>Ovos Totais</b>	<b>Embriões pequenos</b>	<b>Embriões médios</b>	<b>Embriões grandes</b>
<i>Caretta caretta</i>	24	120 ± 27,89	01 ± 3,02	0 ± 1,79	02 ± 3,23
<i>Eretmochelys imbricata</i>	13	138 ± 27,0	2,5 ± 3,42	2,5 ± 2,39	01 ± 5,33
<i>Lepidochelys olivacea</i>	27	96,5 ± 24,91	0 ± 2,44	0 ± 2,20	01 ± 2,91
<i>Chelonia mydas</i>	02	107 ± 11,31	01 ± 1,41	0 ± 0,71	02 ± 0,41

Tabela 3. Caracterização dos ninhos quanto ao tempo de incubação, taxa de sucesso de eclosão em ninhos *in situ* e ninhos transferidos das espécies de tartarugas marinhas *C. caretta*, *L. olivacea*, *E. imbricata* e *C. mydas* durante a temporada reprodutiva 2016/2017 no município de Belmonte - BA.

<b>Espécie</b>	<b>Tempo incubação <i>in situ</i></b>	<b>Tempo incubação transferido</b>	<b>Taxa de sucesso <i>in situ</i></b>	<b>Taxa de sucesso transferido</b>
<i>Caretta caretta</i>	52 ± 17,45	51,50 ± 19,19	80,50 ± 26,85	78,06 ± 28,58
<i>Eretmochelys imbricata</i>	55 ± 4,70	52 ± 6,70	81,75 ± 27,04	68,10 ± 39,20
<i>Lepidochelys olivacea</i>	50 ± 3,35	50,50 ± 4,60	84,62 ± 28,15	84,11 ± 27,53
<i>Chelonia mydas</i>	52 ± 1,41	-	92,62 ± 1,86	-

A temperatura de incubação foi aferida em três ninhos de *L. olivacea* (figura 5), pois um termômetro descarregou a bateria impossibilitando a leitura e um foi retirado do ninho por uma pessoa curiosa cinco dias após a colocação. Havia também um prazo para devolução dos equipamentos tornando inviável utilizar os termômetros em novos ninhos. Os termômetros controle funcionaram corretamente. A tabela 4 mostra os registros das leituras referentes aos cinco termômetros utilizados durante a temporada reprodutiva.

Tabela 4. Resumo das leituras de temperatura realizadas pelos equipamentos Tinytag explorer em Belmonte durante a temporada reprodutiva de tartarugas marinhas 2016/2017 em Belmonte, Bahia.

Data inicial	Data final	Mínima	Máxima	Média	ID	Dias
02/12/2016	03/03/2017	28.8 °C	35.2 °C	31.8 °C	controle	91
02/12/2016	03/03/2017	28.7 °C	34.1 °C	31.7 °C	controle	91
30/12/2016	15/02/2017	24.1 °C	34.7 °C	32.7 °C	BE 256	47
09/01/2017	27/02/2017	27.8 °C	33.6 °C	32.6 °C	BE 282	49
11/01/2017	02/03/2017	27.8 °C	35.6 °C	32.6 °C	BE 290	50



Figura 5. Fêmea de *L. olivacea* com um *data logger* inserido dentro do ninho no momento da desova.

Houve muita predação por animais (domésticos e selvagens) nos ninhos ao longo dos 29 quilômetros de praia monitorados, havendo na superfície da areia alguns filhotes mortos. Desta forma, seis filhotes com sinais de morte recente foram coletados para serem utilizados como referência na comparação com os natimortos e embriões mortos (cinco da espécie *L. olivacea* e um da espécie *C. caretta*).

Observou-se que os embriões e os natimortos apresentavam a carcaça preservada. Macroscopicamente, foram observadas alterações *post mortem* discretas. As alterações patológicas macroscópicas observadas nos indivíduos foram: aplasia pulmonar em embrião grande (n=1), alteração na pigmentação do

tipo leucoderma (n=13 animais), má formação embrionária (n= 9 animais) e dois embriões gêmeos univitelinos (figura 6).



Figura 6. Alterações macroscópicas externas observadas nas tartarugas marinhas: a) leucoderma em *C. caretta*; b) má formação embrionária em *C. caretta* à esquerda e embrião normal à direita; c) gêmeos univitelinos de *L. olivacea*.

Após a análise das lâminas dos tecidos observou-se nos pulmões atelectasia parcial em 26 embriões grandes e em 51 natimortos (figura 7). A atelectasia total foi observada em 13 embriões grandes e em 13 natimortos (tabela 5). Não foram observadas alterações microscópicas significativas nas amostras de coração e musculatura esquelética dos indivíduos avaliados (figura 8).

As principais alterações microscópicas foram observadas no fígado e rins, tanto de natimortos quanto de embriões grandes. No fígado, observou-se difusamente a existência de vacúolos bem definidos em imagem negativa no citoplasma de hepatócitos (figura 9a), indicando processo degenerativo, em intensidade variando de discreta a intensa, em todos os indivíduos avaliados. Adicionalmente, observou-se em alguns animais a ocorrência de necrose individual de hepatócitos, hiperemia de intensidade variável e hemorragias discretas (tabela 5). Notou-se ainda que a *C. mydas* possui melanomacrófagos no fígado durante o desenvolvimento embrionário e no período neonatal, o que não foi visto nas demais espécies de tartarugas marinhas avaliadas.

Nos rins, a principal alteração encontrada consistiu na presença de vacuolização do citoplasma de células epiteliais tubulares (figura 9b) com

distribuição multifocal, indicativa de processo degenerativo (nefroze), também em intensidade variável, tendo sido observada nos embriões grandes e nos natimortos. Os filhotes encontrados mortos não apresentaram esta alteração renal (tabela 5). Adicionalmente, observou-se hiperemia variando de discreta a intensa e focos discretos de hemorragias.

Tabela 5. Alterações microscópicas observadas nos tecidos dos embriões grandes, natimortos e filhotes mortos de *C. caretta*, *L. olivacea*, *E. imbricata* e *C. mydas* em Belmonte-BA.

<b>Categoria</b>	<b>N. animais</b>	<b>Degeneração hepática</b>	<b>Necrose</b>	<b>Distúrbios circulatórios</b>	<b>Nefrose</b>	<b>Atelectasia</b>
<b><i>C. caretta</i></b>						
Embrião Grande	12	09	04	10	08	<u>06 parcial</u> 04 total
Natimorto	30	25	11	23	21	<u>25 parcial</u> 02 total
Filhote morto	01	01	0	0	0	01
<b><i>L. olivacea</i></b>						
Embrião Grande	12	11	06	09	07	<u>7 parcial</u> 04 total
Natimorto	28	25	12	22	19	<u>24 parcial</u> 02 total
Filhote morto	05	05	02	02	01	02 parcial
<b><i>E. imbricata</i></b>						
Embrião Grande	16	12	08	08	07	<u>11 parcial</u> 04 total
Natimorto	10	09	05	07	06	<u>0 parcial</u> 09 total
Filhote morto	0	0	0	0	0	0
<b><i>C. mydas</i></b>						
Embrião Grande	03	02	0	02	02	<u>02 parcial</u> 01 total
Natimorto	02	02	01	02	02	<u>02 parcial</u> 0 total
Filhote morto	0	0	0	0	0	0

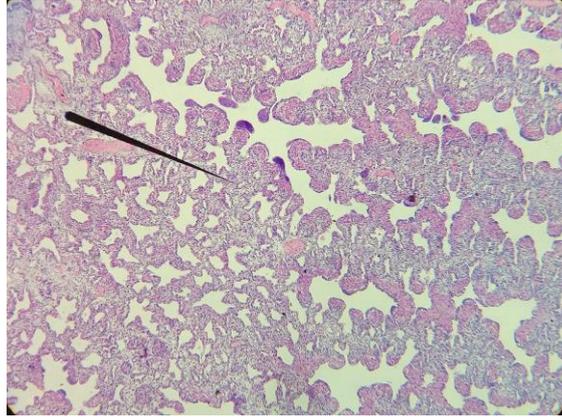


Figura 7. Pulmão atelectásico de um embrião grande de *Lepidochelys olivacea*.

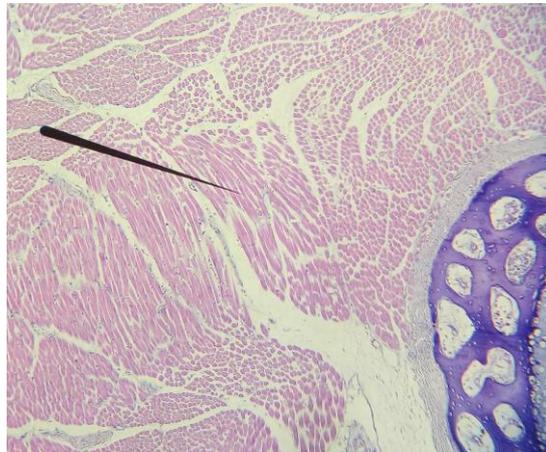


Figura 8. Musculatura esquelética da nadadeira anterior de um embrião grande de *Lepidochelys olivacea*.

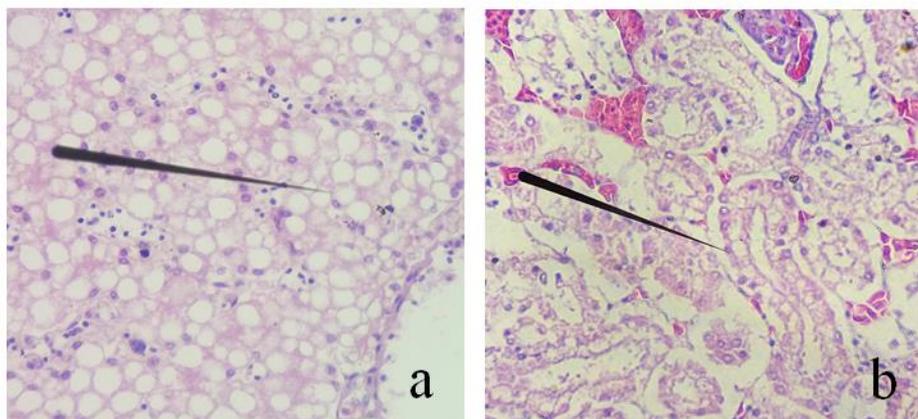


Figura 9. Fígado (a) e rim (b) de um natimorto de *C. caretta* apresentando vacúolos nos citoplasmas dos hepatócitos e do epitélio cubico tubular (setas) indicativo de processos degenerativos, H&E aumento de 40x.

## 6 DISCUSSÃO

Em Belmonte, a espécie de tartaruga marinha com maior ocorrência de ninhos durante a temporada reprodutiva acompanhada foi a *C. caretta*. Esse dado corrobora com o que foi descrito por Marcovaldi e Chaloupka (2007), que afirmaram que essa é a espécie que mais desova no litoral norte da Bahia e no Espírito Santo. Existem registros de desovas de *C. caretta* do norte do Rio de Janeiro até o Rio grande do Norte (MARCOVALDI et al., 2016; SANTOS et al., 2011). Contudo, no sul do Brasil esta espécie possui as maiores taxas de encalhe do atlântico ocidental (ÁLVAREZ-VARAS et al., 2016).

Em relação à distribuição das espécies durante o trecho pesquisado, observaram-se que as fêmeas de *C. caretta* e *L. olivacea* utilizaram mais frequentemente as praias próximas à foz do rio Jequitinhonha quando comparadas às fêmeas de *E. imbricata*. Contudo, essas diferenças na posição dos ninhos ao longo das praias podem diferir entre as estações reprodutivas de acordo com a mudança na paisagem (SANTOS et al., 2016).

O tempo de incubação para a espécie *L. olivacea* foi o menor entre as espécies de tartarugas marinhas amostradas durante a temporada em Belmonte. Médias semelhantes sobre tempo de incubação e taxa de sucesso de eclosão foram observadas nos principais sítios de desova desta espécie em Sergipe e no norte da Bahia (DA SILVA et al., 2007).

Os períodos de incubação dos ninhos de *C. caretta* e *E. imbricata*, aproximaram-se da média de dias estimados para o norte da Bahia (MARCOVALDI; LAURENT, 1996; MARCOVALDI et al., 2016) e litoral sul de Pernambuco (SIMÕES, 2014), onde há maior produção de fêmeas em função de um período de incubação mais curto. Camillo et al. (2009) realizaram um levantamento durante quatro temporadas nas praias entre Uruçuca e Itacaré (sul da Bahia) e concluíram que, em função do tempo de incubação prolongado encontrado, houve um equilíbrio na proporção de machos e fêmeas para *C. Caretta*, semelhante aos sítios de desova do Espírito Santo (BAPTISTOTTE et al., 1999; MARCOVALDI et al., 2016). Com os dados de apenas uma temporada

reprodutiva não é possível fazer inferências sobre a proporção de machos e fêmeas tomando como base o tempo de incubação, todavia, uma análise mais robusta sobre o padrão do tempo de incubação no extremo sul da Bahia poderá acrescentar informações valiosas para a manutenção da saúde demográfica das tartarugas marinhas.

As taxas de sucesso de eclosão podem variar principalmente em função dos fatores microambientais e da relocação dos ninhos. Uma taxa de eclosão considerada ideal deve ser acima de 80% (MILLER, 1999; MILLER et al., 2003). Como esperado, os ninhos *in situ* de todas as espécies avaliadas em Belmonte apresentaram uma taxa de sucesso maior do que os transferidos, corroborando com outros autores (BAPTISTOTTE et al., 1999; DA SILVA et al., 2007; MILLER, 1999).

Observou-se que os embriões em estágio final do desenvolvimento representaram a categoria com maior número de indivíduos mortos dentro dos ninhos de *C. caretta*, *L. olivacea* e *C. mydas*, enquanto que para a espécie *E. imbricata* os indivíduos mortos encontravam-se principalmente no início ou na fase intermediária do desenvolvimento. Essas diferenças interespecíficas ainda não foram elucidadas. As taxas de mortalidade embrionária de *C. Caretta* e *E. imbricata* no sul da Bahia foram próximas às observadas por Camillo et al., (2009). O tempo (dias) de desenvolvimento de um embrião grande é maior (MILLER, 1985), portanto pode ser que neste período o embrião fique mais exposto e mais vulnerável às variações do ambiente de incubação.

Apesar dos poucos dados de temperatura mensurados durante a pesquisa, a qualidade da informação é inquestionável por se tratar do primeiro relato de temperatura utilizando *data loggers* no sul da Bahia para a espécie *L. olivacea*. Os resultados indicam que os ninhos permaneceram entre 27.0 °C a 35.6 °C com uma temperatura média de 32.6 °C nos meses de janeiro e fevereiro da temporada reprodutiva de tartarugas marinhas 2016/2017.

Para a espécie *L. olivacea* na Costa Rica, a temperatura em que ocorre o equilíbrio na proporção de machos e fêmeas (temperatura pivotal) varia de 28,5 a

31 °C (SPOTILA et al., 1987; WIBBELS et al., 1998), mas no Brasil a temperatura pivotal para esta espécie ainda não foi publicada (CASTILHOS et al., 2011). Em função do número amostral pequeno, optou-se por não indicar se o sítio reprodutivo de Belmonte tende a gerar mais machos ou mais fêmeas. No entanto as pesquisas com temperatura neste local terão continuidade nas próximas temporadas reprodutivas com o objetivo de preencher lacunas sobre o padrão de temperatura na região localizada entre dois importantes áreas de desova no Brasil.

Os 119 indivíduos analisados não apresentaram diferenças interespecíficas marcantes em relação às alterações patológicas macroscópicas observadas. Os distúrbios do desenvolvimento como a má formação cefálica, associados às alterações de pigmentação ou não, podem ocorrer em decorrência do hibridismo. Um estudo genético realizado na Bahia com a espécie *E. imbricata* relevou que pouco menos da metade dos 119 animais amostrados eram híbridos em sua maioria de *E. imbricata* com *C. caretta* e em menor proporção *C. caretta* com *L. olivacea* (LARA-RUIZ et al., 2006).

O fígado é um órgão que está diretamente envolvido com o metabolismo lipídico, realizando diversas funções, dentre elas o transporte e armazenamento de triglicerídeos, o qual pode ser normal ou patológico a depender da fase na qual o animal se encontra e da intensidade do acúmulo. Quando a absorção hepática dos triglicerídeos excede a oxidação ou a secreção, o animal pode desenvolver esteatose hepatocelular e essa alteração pode ser causada por hipóxia, hepatotoxinas, desnutrição e excesso de proteína na dieta (MCARTHUR; BARROWS, 2004). Nesses casos, microscopicamente são vistos vacúolos citoplasmáticos em imagem negativa, que comumente deslocam os núcleos dos hepatócitos para a periferia. No entanto a degeneração hidrópica e a glicogenose também possa levar à presença de vacúolos no citoplasma dos hepatócitos, todavia na esteatose esses vacúolos costumam ser maiores e bem definidos como foram vistos nos tecidos dos animais analisados (CULLEN; STALKER, 2016). Embora não tenham sido empregadas previamente colorações especiais, sugere-

se o diagnóstico de esteatose hepatocelular em função das características dos vacúolos citoplasmáticos observados nas células hepáticas.

Durante o terço final do desenvolvimento embrionário de tartarugas da espécie *C. caretta* a concentração de lipídios oriundos do saco vitelino aumenta em comparação com os estágios primários, devido à perda de componentes como a água (ALAVA, 2006) e/ou proteína (KRAEMER; BENNETT, 1981). Nos quelônios, as moléculas de fosfolipídios precisam passar por ciclos de hidrólise e reesterificação até as membranas celulares dos embriões (THOMPSON; SPEAKE, 2002). Em um estudo realizado com quelônios da espécie *Emydoidea blandingii* observou-se que mais de 63% dos lipídios totais analisados dos componentes do ovo e dos filhotes eram na forma de triglicerídeos (ROWE et al., 1995).

A partir dos resultados desse estudo, sugere-se que nos neonatos de tartarugas marinhas a esteatose hepática possa ser um evento fisiológico, e essa ideia é apoiada pela literatura que indica que os neonatos precisam de um reserva de energia para sobreviverem aos primeiros dias de vida (BOOTH; ASTILL, 2001; BOOTH et al., 2004; KRAEMER; BENNETT, 1981). Contudo, pouco se discute sobre a esteatose hepatocelular em neonatos de tartarugas marinhas.

As células epiteliais tubulares dos rins, particularmente as células dos túbulos proximais possuem inúmeras mitocôndrias (SOLOMON, 1985) e são metabolicamente ativas, sendo, portanto mais susceptíveis à lesões (CIANCIOLO; MOHR, 2016). No geral existem inúmeros fatores capazes de desencadear alteração degenerativa tubular, como por exemplo, a baixa perfusão de oxigênio nos tecidos (isquemia) e agentes tóxicos (CIANCIOLO; MOHR, 2016). Miller et al., (2009) analisaram os rins de neonatos de *Dermochelys coriacea* e também observaram degeneração nos túbulos proximais e sugeriram morte por toxemia e desidratação.

Nos indivíduos mortos analisados nesse estudo os casos mais severos de degeneração tubular apresentavam também degeneração hepatocelular e alterações circulatórias como hemorragia e hiperemia. Os filhotes encontrados

mortos por cães na areia da praia não apresentaram degeneração tubular. Nos mamíferos a nefrose ou necrose tubular aguda usualmente leva a supressão da função renal (CIANCIOLO; MOHR, 2016) e em associação são vistas alterações circulatórias, devido aos danos ao endotélio vascular causado pela privação de oxigênio (BARROS, 2016). Sendo assim, esta alteração pode estar envolvida na causa *mortis* dos animais desta pesquisa.

Quanto às alterações pulmonares, segundo Perry et al. (1989) os pulmões dos embriões de *C. caretta* permanecem repletos de líquido dias antes da eclosão e há pouca troca gasosa nesta fase sugerindo, desta forma, que a ocorrência de atelectasia pulmonar nos embriões de tartarugas marinhas trata-se de um estado aparentemente normal.

Como primeiro estudo no Brasil sobre histopatologia dos principais órgãos dos embriões e natimortos de *C. caretta*, *E. imbricata*, *C. mydas* e *L. olivacea*. Novos estudos são necessários para investigar se as alterações patológicas observadas nos animais em fase inicial da vida, por exemplo, decorrem do aumento da temperatura dentro do ninho ou das características da areia do ambiente de incubação, que poderiam impedir a ocorrência de trocas gasosas eficientes, conduzindo os animais à hipóxia.

## 7 CONCLUSÃO

Conclui-se que o sítio reprodutivo em Belmonte, ao sul da foz do Rio Jequitinhonha é frequentado regularmente por *Caretta caretta* e *Lepidochelys olivacea* e *Eretmochelys imbricata*. As taxas de sucesso de eclosão e períodos de incubação são semelhantes às áreas de reprodução conhecidas. A temperatura média de incubação para *Lepidochelys olivacea* foi de 32,6 °C nos meses de janeiro e fevereiro, no entanto diante do número amostral reduzido não foi possível definir se este sítio reprodutivo produz mais machos ou mais fêmeas em função da temperatura de incubação. O maior número de embriões mortos foi observado na categoria em fase final de desenvolvimento embrionário para todas as espécies. Os embriões e os natimortos apresentaram principalmente degenerações vacuolares hepáticas (esteatose hepatocelular) e degenerações vacuolares renais (nefrose). Este é o primeiro estudo no Brasil sobre avaliação anatomopatológica dos embriões grandes e dos natimortos de *C. caretta*, *E. imbricata*, *C. mydas* e *L. olivacea*. No entanto, são necessários mais pesquisas com números amostrais maiores para cada espécie, considerando outras variáveis como temperatura de incubação e granulometria do sedimento do ninho, com o intuito de investigar a mortalidade embrionária de tartarugas marinhas e determinar o diagnóstico etiológico. Desta forma será possível compreender o *status* sanitário da população e atuar na medicina preventiva. Bem como fornecer aos órgãos competentes informações locais específicas para que possam tomar medidas de mitigação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMAN, R. A. Chapter 4 - The Nest Environment and the Embryonic Development of Sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Eds). **The Biology of Sea Turtles**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1997. v. 1. p. 83-106.
- ACKERMAN, R. A. Growth and Gas Exchange of Embryonic Sea turtles. *Copeia*, v. 4, p. 757-765, 1981.
- ACKERMAN, R. A. The respiratory gas exchange of sea turtle nests (*Chelonia, Caretta*). **Respiration Physiology**, v. 31, n. 1, p. 19-38, 1977.
- ACKERMAN, R. A.; PRANGE, H. D. Oxygen diffusion across a sea turtle (*Chelonia mydas*) egg shell. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 43, n. 4, p. 905-909, 1972.
- ALAVA, J. J. et al. Loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) egg yolk concentrations of persistent organic pollutants and lipid increase during the last stage of embryonic development. **Science of the Total Environment**, v. 367, n. 1, p. 170-181, 2006.
- ALMEIDA, A. P. et al. Avaliação do Estado de Conservação da Tartaruga Marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 12-19, 2011a.
- ALMEIDA, A. P. et al. Avaliação do Estado de Conservação da Tartaruga Marinha *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 37-44, 2011b.
- ALVAREZ-VARAS, R. et al. Sea Turtles of South America. **SWOT report: the state of the World's sea turtles**. Special feature south America, USA, p. 14-27, 2016.
- BAPTISTOTTE, C. Male-producing thermal ecology of a southern loggerhead turtle nesting beach in Brazil: implications for conservation. **Animal Conservation**, v. 2, p. 9-13, 1999.
- BARROS, C. S. L. Capítulo 4 - Fígado e vias biliares. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia veterinária (segunda edição)**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. p. 308-459.
- BOOTH D. T., et al. The influence of incubation temperature on post-hatching fitness characteristics of turtles. **International Congress Series**, v. 1275, p. 226-233, 2004.

- BOOTH, D. T.; ASTILL, K. Incubation temperature, energy expenditure and hatchling size in the green turtle (*Chelonia mydas*), a species with temperature-sensitive sex determination. **Australian Journal of Zoology**, v. 49, n. 4, p. 389-396, 2001.
- BOWEN, B. W.; KARL, S. A. Chapter 2 - Population genetics, phylogeography and molecular evolution. In: LUTZ, P.L.; MUSICK, J. A. (Eds). **The Biology of Sea Turtles**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1997. v. 1. p. 29-50.
- BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente**. Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção. Portaria número 444, de 17 de dezembro de 2014.
- BRAUN, E. J. Comparative renal function in reptiles, birds, and mammals. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 7, n. 2, p. 62-71, 1998.
- BRAZ, J. K. F. S. et al. Histology and Immunohistochemistry of the Cardiac Ventricular Structure in the Green Turtle (*Chelonia mydas*). **Anatomy Histology Embryology. Journal of Veterinary Medicine**, v. 45, n. 4, p. 1-8, 2015.
- BUSTARD H. R., et al. Some analyses of artificially incubated eggs and hatchlings of green and loggerhead sea turtles. **Journal of Zoology**, v. 158, n. 3, p. 311-315, 1969.
- CALLIARI, L. J. et al. Morfodinâmica praias: uma breve revisão. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 51, n. unico, p. 63-78, 2003.
- CAMILLO, C. S. et al. Características da reprodução de tartarugas marinhas (Testudines, Cheloniidae) no litoral sul da Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 2, p. 131-137, 2009.
- CASTILHOS, J. C. et al. Avaliação do Estado de Conservação da Tartaruga Marinha *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 28-36, 2011.
- CIANCIOLO, R. E.; MOHR, F. C. Chapter 4 - Urinary System. In: KENNEDY; PALMER'S (Ed). **Pathology of Domestic Animals (Sixth Edition)**. Saint Louis, Missouri: Elsevier, 2016. v. 2. p. 376-464.
- CRATZ, F. Embryological stages of the marine turtle *Lepidochelys olivacea*. **Revista de Biologia Tropical**, v. 30, n. 2, p.113-120, 1982.
- CRAVEN, K. S. et al. The influence of diet on fatty acids in the egg yolk of green sea turtles, *Chelonia mydas*. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 178, n. 4, p. 495-500, 2008.

CULLEN, J. M.; STALKER, M. J. Chapter 2 - Liver and Biliary System. In: KENNEDY; PALMER'S (Ed). **Pathology of Domestic Animals (Sixth Edition)**. Saint Louis, Missouri: Elsevier, 2016. v. 2. p. 358-352.

DA SILVA, A. C. D. et al. Nesting biology and conservation of the olive ridley sea turtle (*Lepidochelys olivacea*) in Brazil, 1991/1992 to 2002/2003. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v.87, n. 4, p. 1047-1056, 2007.

FERREIRA JÚNIOR, P. D. Aspectos ecológicos da determinação sexual em tartarugas. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 1, p. 139-154, 2009.

FERREIRA JÚNIOS, P. D. et al. Aspectos Fisiológicos das Áreas de Nidificação da Tartaruga Marinha *Caretta caretta* na praia de Guanabara, Anchieta, Espírito Santo. **Publ. Avulsas do Instituto Pau Brasil**, v. 7, 2003.

FIGLER, R. A. et al. Increased levels of arginine vasotocin and neurophysin during nesting in sea turtles. **General and Comparative Endocrinology**, v. 73, n. 2, p. 223-232, 1989.

FLEETWOOD, J. N.; MUNNELL, J. F. Morphology of the airways and lung parenchyma in hatchlings of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. **Journal of Morphology**, v. 227, n. 3, p. 289-304, 1996.

GIRLING, J. E. The reptilian oviduct: a review of structure and function and directions for future research. **Journal of Experimental Zoology**, v. 293, n. 2, p. 141-170, 2002.

GIST, D. H.; CONGDON, J. D. Oviductal sperm storage as a reproductive tactic of turtles. **The Journal of experimental zoology**, v. 282, n. 4-5, p. 526-534, 1998.

GIST, D. H.; JONES, J. M. Sperm storage within the oviduct of turtles. **Journal of Morphology**, v. 199, n. 3, p. 379-384, 1989.

HOCHSCHEID, S.; BENTIVEGNA, F.; SPEAKMAN, J. R. The dual function of the lung in chelonian sea turtles: buoyancy control and oxygen storage. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 297, p. 123-140, 2003.

HOWARD, R. et al. Thermal tolerances of sea turtle embryos: Current understanding and future directions. **Endangered Species Research**, v. 26, n. 1, p. 76-86, 2014.

KRAEMER, J. E.; BENNETT, S. H. Utilization of Posthatching Yolk in Loggerhead Sea Turtles, *Caretta caretta*. **Copeia**, v. 2, p. 406-411, 1981.

LARA-RUIZ, P. et al. Extensive hybridization in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) nesting in Brazil revealed by mtDNA analyses. **Conservation**

**Genetics**, v. 7, n. 5, p. 773-781, 2006.

MARCOVALDI, M. A. et al. Avaliação do Estado de Conservação da Tartaruga Marinha *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 20-27, 2011.

MARCOVALDI, M. A. et al. Identification of loggerhead male producing beaches in the south Atlantic: Implications for conservation. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 477, p. 14-24, 2016.

MARCOVALDI, M. A.; CHALOUPKA, M. Conservation status of the loggerhead sea turtle in Brazil: an encouraging outlook. **Endangered Species Research**, v. 3, p. 133-143, 2008.

MARCOVALDI, M. A.; MARCOVALDI, G. G. D. Marine turtles of Brazil: the history and structure of Projeto TAMAR-IBAMA. **Biological Conservation**, v. 91, n. 1, p. 35-41, 1999.

MARCOVALDI, M. A; Laurent, A. A Six Season Study of Marine Turtle Nesting at Praia do Forte, Bahia, Brazil, with Implications for Conservation and Management. **Herpetologica**, v. 2, n. 1, p. 55-59, 1996.

MAXIE, G. M.; Miller, M. A. Chapter 1 - Introduction to the Diagnostic Process. In: KENNEDY; PALMER'S (Ed). **Pathology of Domestic Animals (Sixth Edition)**. Saint Louis, Missouri: Elsevier, 2016. v. 1. p. 1-15.

MCARTHUR, S. Chapter 3 - Respiratory System. In: MCARTHUR, S; WILKINSON, R.; MEYER, J. (Ed). **Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles**. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2004. p. 38-40.

MCARTHUR, S.; BARROWS M. Chapter 4- Nutrition. . In: MCARTHUR, S; WILKINSON, R.; MEYER, J. (Ed). **Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles**. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2004. p. 82.

MILLER, D. L. et al. Nest Site Selection, Oviposition, Eggs, Development, Hatching, and Emergence of Loggerhead Turtles. **Loggerhead Sea Turtles**. p. 125-143, 2003.

MILLER, D. L. et al. Pathologic findings in hatchling and posthatchling leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) from florida. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 4, p. 962-971, 2009.

MILLER, J. D. Chapter 4 - Determining clutch size and hatching success. In: ECKERT, K. L; BJORN DAL, K. A.; ABREU-GROBOI F. A.; DONNELLY, M. (Ed). **Research and management Techniques For The Conservation of Sea Turtles**. Washington: IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication, 1999. p. 124-129.

- MILLER, J. D. Reproduction in sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Ed). **The Biology of Sea Turtles**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1997. v.1. p. 51-80.
- MILLER, J.D. Embryology of marine turtles. In: GANS, C.; BILLET, F. (Ed). **Biology of Reptilia**. New York: John Wiley and Sons, 1985. v. 14. p. 270-328.
- MURRAY, M. J. Chapter 10 - Cardiopulmonary Anatomy and Physiology. In: MADER, D. R. (Ed). **Reptile Medicine and Surgery (Second Edition)**. Saint Louis, Missouri: Elsevier, 2006. v. 3. p. 124-134.
- NEVES, M. S. C. et al. Mycobiota from the eggs, nests and stillbirths of *Eretmochelys imbricata* Linneus 1766 (Testudines: Cheloniidae) in Pernambuco State, Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 17, p. 1195-1199, 2015.
- PERRY, S. F. et al. Histological Structure of the Lungs of the Loggerhead Turtle, *Caretta caretta*, before and after Hatching. **Copeia**, v. 1989, n. 4, p. 1000-1010. 1989.
- PHILLOTT A. D. et al. Calcium depletion of eggshell after fungal invasion of sea turtle eggs. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 5, n. 1, p. 146-149, 2006.
- PIEAU, C. Temperature variation and sex determination in reptiles. **Bioessays**, v. 18, n. 1, p. 19-26, 1996.
- PRITCHARD, P. C. H. Chapter 1 - Evolution, phylogeny and current status. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Eds). **The Biology of Sea Turtles**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1997. p. 1-24.
- PRITCHARD, P. C. H.; MORTIMER, J. A. Chapter 4 - Taxonomy, external morphology, and species identification. In: ECKERT, K. L. et al. (Eds). **Research and management techniques for the conservation of sea turtles**. Washington: IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication, 1999. p. 21-40.
- REIS, E. C. et al. Genetic composition, population structure and phylogeography of the loggerhead sea turtle: colonization hypothesis for the Brazilian rookeries. **Conservation Genetics**, v. 11, n. 4, p. 1467-1477, 2010.
- ROWE, J.W. Lipid provisioning of turtle eggs and hatchlings: total lipid, phospholipid, triacylglycerol and triacylglycerol fatty acids. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 11, n. 2, p. 323-330, 1995.

SAHOO, G. et al. Calcium metabolism in olive Ridley turtle eggs during embryonic development. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Physiology**, v. 121, n. 1, p. 91-97, 1998.

SANTOS, A. S. D. et al. Plano de ação nacional para conservação das tartarugas marinhas. **Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio**. Brasília, 2011. v. 25.

SANTOS, A. S. et al. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 3-11, 2011.

SANTOS, A. S. et al. Individual nest site selection in hawksbill turtles within and between nesting seasons. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 15, n. 1, p. 109-114, 2016.

SARMIENTO-RAMÍREZ, J. M. et al. *Fusarium solani* is responsible for mass mortalities in nests of loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, in Boavista, Cape Verde. **FEMS microbiology letters**, v. 312, n. 2, p. 192-200, 2010.

SIMÕES, T. N. et al. Temperatura de incubação e razão sexual em filhotes recém eclodidos da Tartaruga marinha *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766) no município do Ipojuca, Pernambuco, Brasil. **Papeis avulsos de zoologia**, v. 54, n. 25, p. 363-374, 2014.

SNOVER, M. L.; RHODIN A. G. J. Comparative ontogenetic and phylogenetic aspects of chelonian chondro-osseous growth and skeletochronology. In: WYNEKEN, J; GODFREY, M. H; BELS, V. (Eds). **Biology of turtle**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2008. p. 17-39.

SOLOMON, S. E. The morphology of the kidney of the green turtle (*Chelonia mydas* L.). **Journal of anatomy**, v. 140, p. 355-69, 1985.

SPOTILA, J.R. et al. Temperature dependent sex determination in the green turtle (*Chelonia mydas*): effects on the sex ratio on a natural nesting beach. **Herpetologica**, v. 43, p. 74-81, 1987.

THOMPSON, M. B.; SPEAKE, B. K. Energy and nutrient utilisation by embryonic reptiles. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 133, n. 3, p. 529-538, 2002.

TRULLAS, S. C.; PALADINO, F. V. Micro-environment of olive ridley turtle nests deposited during an aggregated nesting event. **Journal of Zoology**, v. 272, n. 4, 2007.

VALVERDE, R. A. et al. Field lethal incubation temperature of olive ridley sea turtle *Lepidochelys olivacea* embryos at a mass nesting rookery. **Endangered Species Research**, v. 12, n. 1, 2010.

WILLIAMSON, S. A. et al. When is embryonic arrest broken in turtle eggs? **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 90, n. 5, 2017.

WIBBELS, T. et al. High pivotal temperature in the sex determination of olive riddley sea turtle, *Lepidochelys olivacea*, from Playa Nancite, Costa Rica. **Copeia**, p. 1086-1088, 1998.

WYNEKEN, J. Chapter 9 - The structure of cardiopulmonary systems of turtles: Implications for behavior and function. In: WYNEKEN, J.; GODFREY, M.; BELS, V (Ed). **Biology of Turtles**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 213-224.

WYNEKEN, J. et al. Egg failure in natural and relocated sea turtle nests. **Journal of Herpetology**, v. 22, p. 88-96, 1988.

WYNEKEN, J. The Anatomy Of Sea Turtles. Miami, Flórida: **NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470**, 2001. p. 1-172.

WOOD, D. W.; BJORNDAL, K. A. Relation of temperature, moisture, salinity, and slope to nest site selection in loggerhead sea turtles. **Copeia**, v. 2000, n. 1, p. 119-128, 2000.