UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA – FMVZ

FABÍOLA ELOISA SETIM PRIOSTE

Detecção e quantificação de alguns elementos químicos inorgânicos em sangue e tecidos de tartarugas-verdes – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) – da costa brasileira: possível correlação com a fibropapilomatose

São Paulo
2016

FABÍOLA ELOISA SETIM PRIOSTE

Deteção e quantificação de alguns elementos químicos inorgânicos em sangue e tecidos de tartarugas-verdes – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) – da costa brasileira: possível correlação com a fibropapilomatose

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Patologia

Área de Concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima

São Paulo
2016

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3280
FMVZ

Prioste, Fabíola Eloisa Setim

Detecção e quantificação de alguns elementos químicos inorgânicos em sangue e tecidos de tartarugas-verdes – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) – da costa brasileira: possível correlação com a fibropapilomatose / Fabíola Eloisa Setim Prioste. -- 2016.

115 f. il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima.

1. Contaminantes inorgânicos. 2. *Chelonia mydas*. 3. Fibropapilomatose. 4. Atlântico sul. 5. Ecotoxicologia. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Presença de metais pesados em sangue e tecidos de tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) com e sem fibropapilomatose em três localidades do litoral brasileiro”, protocolado sob o nº 2555/2012, utilizando 60 (sessenta) tartarugas verdes, sob a responsabilidade do(a) Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da “Comissão de Ética no uso de animais” da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 15/2/2012.

We certify that the Research “Presence of heavy metals in blood and tissues of Green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomatosis (FP) at three locations along Brazilian coast”, protocol number 2555/2012, utilizing 60 (sixty) Green turtles, under the responsibility Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by “Ethic Committee in the use of animals” of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 2/15/2012.

São Paulo, 7 de março de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: PRIOSTE, Fabíola Eloisa Setim

Título: Detecção e quantificação de alguns elementos químicos inorgânicos em sangue e tecidos de tartarugas-verdes – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) – da costa brasileira: possível correlação com a fibropapilomatose

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedicado a todos aqueles que amam o conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido, José Roberto, pelo apoio moral, emocional e financeiro. O companheiro de quase 30 anos que ainda faz meus olhos brilharem.

Aos meus filhos: Meríssea, Alice, Pedro e Lucca, que sempre apoiaram minhas decisões e incentivaram meus estudos. Ao meu filho Tomaz, um guerreiro que inspira. Ao meu neto Julio, meu mais novo amor!

À mãe mais linda do mundo: a minha!

À Profa. Dra. Eliana Matushima, pela dedicação ao seu trabalho de orientação, por seus conselhos, por acreditar em mim. Eu não poderia ter realizado este trabalho sem a tua mão segurando a minha.

Ao Grupo de Pesquisa em Fibropapilomatose de Tartarugas Marinhas: Silmara Rossi, Marco Aurélio Gattamorta e Matu. Sem vocês, eu não teria conseguido.

Ao Jorge Oyakawa, nosso “escudeiro” fiel do laboratório. Sempre auxiliando nas organizações, viagens e compras e ainda aconselhando e acalmando em momentos de tensão.

Aos companheiros lapconianos, por todos os sorrisos que sorrimos juntos. No LAPCOM sou parte de um grupo muito gratificante. Obrigada a Angélica Maria Sanchez Sarmiento, Catia Dejuste de Paula, Claudia Niemeyer, Danilo M Rodrigues, Juliana Marigo, Katia Regina Groch, Marcelo Carvalho, Marina Bueno, Pedro Enrique Navas Suárez, Ralph Vanstreels, Samira Costa da Silva, Sandara Pimentel Sguario, Sávio Stefanini Sant’Anna, Valéria Ruoppolo.

À Luísa Carvalho, a melhor primeira aluna de iniciação que eu poderia querer.

À Marina Alcalá, a novata que nos fez aprender tudo sobre algas e fanerógamas.

Ao projeto Tamar, a mais antiga instituição de conservação de tartarugas marinhas no Brasil, cuja equipe foi incansável em auxiliar, responder, ensinar. Em Ubatuba – SP: Henrique Becker, Renato Velloso, Antonio Mauro Correa.

Em Vitória – ES: Cecília Baptistotte, Jordana Bonini.

Em Fernando de Noronha - PE: Armando J. B. Santos, Rafael, Lourival, Felipe e Galeguinho.

Em Almofala – CE: Eduardo Moreira Lima, Thereza Damasceno, Fernanda Silveira, Fernando Diógenes Alves Ferreira e Paulo.

E todos os estagiários: Isabel Luz, Pedro Américo, Murilo e Serginho, Natalia Albuquerque, Samuel Vogetta, Billy Joy, Mariana Oshiro e Ceará, Joel Bruno, Suellen Santiago, Scarlet Andrade, Manoela Oliveira, Carolina Pulita, Renato Paulo Rosa, João Vitor Lima, Ângela Talarico, Luana Keller, André Luiz Pavanate e Junior – o único voluntário.

E a todos os tratadores, auxiliares e amigos do Tamar que ajudaram em tantas situações!

Ao Instituto de Pesquisa e Conservação Marinha - IPCMAR de Anchieta e CTA – Serviços em Meio Ambiente, obrigada por me receberem e auxiliarem nas pessoas de Marcílio, Moara Cuzzuol e Antonio Calais.

Ao Prof. Dr. Paulo Saldiva, que abriu as portas de tantos laboratórios e nos permitiu seguir em frente com uma ideia na cabeça e apenas vontade de fazer nas mãos.

As professoras Regiani Carvalho de Oliveira e Mitiko Saiki, pelas tentativas. Ainda vamos analisar amostras!

Ao Prof. Dr. Fernando Barbosa Jr e sua equipe, muito obrigada! E à Vanessa Cristina de Oliveira, meu anjo do ICP-MS.

À Paula Pícoli, por ser tão cuidadosa com as amostras quanto eu. E a Romena, muito obrigada!

Ao Ralph Vanstreels, pelas conversas edificantes que me ajudaram a organizar meus pensamentos.

Às minhas amigas de luta: Gerusa Nogueira, Helena Fabiani, pelo apoio e carinho.

Helia Piedade, meu socorro nas últimas horas...

À Profa. Cristina Fotin, pelo começo de tudo.

À fantástica Mariana Queiroz, apoio e paciência sem fim! Mari, vamos ficar velhinhas e fazendo estatísticas com tartarugas...

À FAPESP – processo FAPESP n.º 2012/14319-6 e à CAPES pelo apoio financeiro.

Às tartarugas mais doces que conheci: as verdes!

“A Ciência trabalha na fronteira entre o conhecimento e a ignorância. Nós não temos medo de admitir que não sabemos. Não há vergonha nisso. A única vergonha é fingir que nós temos todas as respostas.”
Neil de Grasse Tyson

RESUMO

PRIOSTE, F. E. S. **Detecção e quantificação de alguns elementos químicos inorgânicos em sangue e tecidos de tartarugas-verdes – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) – da costa brasileira:** possível correlação com a fibropapilomatose. [Detection and quantification of selected inorganic chemical elements in blood and tissue samples from green turtles – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) – from the Brazilian coast: possible correlation with fibropapillomatosis.]. 2016. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

A fibropapilomatose é uma doença multifatorial em tartarugas marinhas caracterizada por tumores cutâneos benignos. O surgimento da doença é atribuído à associação do Chelonid herpesvirus – 5 (ChHV-5), à genética e à fatores ambientais. A tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) é a espécie mais acometida pela doença, sendo esta uma das maiores ameaças à sua sobrevivência. Este estudo teve por objetivo detectar e mensurar seis elementos químicos inorgânicos: Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Selênio (Se), Zinco (Zn) e Mercúrio (Hg) em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas vivas e tecidos (baço, rins, fígado, glândula de sal, musculatura esquelética e tecido ósseo) de necropsias realizadas em indivíduos encontrados mortos. Quatro localidades da costa brasileira foram amostradas: Almofala – CE; Fernando de Noronha – PE; Vitória – ES e Ubatuba – SP. Foram colhidas 233 amostras de sangue e 488 amostras de tecido entre março de 2012 e outubro de 2015. As amostras foram analisadas em um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Os resultados das análises de sangue apontaram Fernando de Noronha como um possível grupo controle para estudos desta ordem. As e Se foram encontrados em Fernando de Noronha em níveis séricos muito baixos. Tartarugas-verdes das outras três localidades estudadas apresentaram uma diminuição desses elementos quando com sinais de FP, ao mesmo tempo em que apresentaram concentrações maiores de algum elemento químico tóxico, como Pb e Hg. Quanto aos resultados obtidos com amostras teciduais, as tartarugas-verdes com sinais de FP apresentam menores concentrações de As e Se em todos os órgãos analisados, ao mesmo tempo que apresentam maior concentração de Pb em fígado, rins e ossos.

Palavras-chave: Contaminantes inorgânicos. *Chelonia mydas*. Fibropapilomatose. Atlântico sul. Ecotoxicologia.

ABSTRACT

PRIOSTE, F. E. S. **Detection and quantification of selected inorganic chemical elements in blood and tissue samples from green turtles – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) – from the Brazilian coast:** possible correlation with fibropapillomatosis. [Detecção e quantificação de alguns elementos químicos inorgânicos em sangue e tecidos de tartarugas-verdes – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) – da costa brasileira: possível correlação com a fibropapilomatose]. 2016. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Fibropapillomatosis is a multifactorial disease of sea turtles characterized by benign cutaneous tumors. The development of this disease is attributed to the association of Chelonid herpesvirus – 5 (ChHV-5), to genetics and environmental factors. The green turtle (*Chelonia mydas*) is the species most affected by fibropapillomatosis, one of the biggest threats to the survival. The aim of this study was to detect and quantify six inorganic chemical elements: Arsenic (As), Cadmium (Cd), Lead (Pb), Selenium (Se), Zinc (Zn) and Mercury (Hg) in blood samples of green turtles trapped alive, and tissue samples (spleen, kidneys, liver, salt glands, skeletal muscles and bone tissue) collected during necropsies of carcasses. The samples were collected in four different locations of the Brazilian coast: Almofala – Ceará; Fernando de Noronha – Pernambuco; Vitória – Espírito Santo e Ubatuba – São Paulo. We collected 233 blood samples and 488 tissue samples between March 2012 and October 2015. Samples were analysed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) techniques. The results of the blood analyses indicated Fernando de Noronha as a possible control group for studies of this nature. As and Se were observed in Pernambuco (Fernando de Noronha) in very low blood levels. Green turtles from the three other locations presented decreased levels of the same elements in cases with signs of FP, while presenting higher concentrations of some of the toxic chemical elements, such as Pb and Hg. The results obtained from tissue samples showed that green turtles with signs of FP present lower As and Se in all analysed organs, and higher [Pb] in liver, kidneys and bone tissues.

Keywords: Inorganic contaminants. *Chelonia mydas*. Fibropapillomatosis. Southern Atlantic. Ecotoxicology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Identificação de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>).....	22
Figura 2 - Distribuição mundial de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>).....	23
Figura 3 -- Fibropapilomatose em tartaruga-verde (<i>Chelonia mydas</i>)	25
Figura 4 - Mapa de localização dos quatro pontos de amostragem.....	36
Figura 5 - Distribuição do comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) entre as populações de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) amostradas	43
Figura 6 - Distribuição da concentração de Arsênio (As) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) amostradas	44
Figura 7 - Distribuição da concentração de Cádmio (Cd) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) amostradas	44
Figura 8 - Distribuição da concentração de Chumbo (Pb) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) amostradas	45
Figura 9 - Distribuição da concentração de Selênio (Se) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) amostradas	45
Figura 10 - Distribuição da concentração de Zinco (Zn) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) amostradas	46
Figura 11 - Distribuição da concentração de Mercúrio (Hg) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) amostradas	46
Figura 12 - Gráfico da distribuição dos animais amostrados com e sem sinais de fibropapilomatose (respectivamente FP+ e FP-) nas quatro localidades pesquisadas	53
Figura 13 - Mapa de localização dos quatro pontos de amostragem. Editado por Ralph Vanstreels	66
Figura 14 - Bioacumulação de Arsênio (As) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira.	81
Figura 15 - Bioacumulação de Cádmio (Cd) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira	82

Figura 16 - Bioacumulação de Chumbo (Pb) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira.	82
Figura 17 - Bioacumulação de Selênio (Se) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira	83
Figura 18 - Bioacumulação de Zinco (Zn) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira	83
Figura 19 - Bioacumulação de Mercúrio (Hg) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira.	84
Figura 20 - Distribuição das tartarugas-verdes analisadas quanto à presença ou ausência de fibropapilomatose (FP)	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) do CCC e da concentração de seis elementos químicos analisados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no estado de Pernambuco (em Fernando de Noronha), Brasil	41
Tabela 2 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) do CCC e da concentração de seis elementos químicos analisados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no estado do Ceará (CE), Brasil	41
Tabela 3 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) do CCC e da concentração de seis elementos químicos analisados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no estado do Espírito Santo (ES), Brasil	42
Tabela 4 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) do CCC e da concentração de seis elementos químicos analisados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no estado de São Paulo (SP), Brasil	42
Tabela 5 - Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no Brasil	48
Tabela 6 - Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas em Fernando de Noronha (PE), Brasil	48

Tabela 7 -	Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas em Almofala (CE), Brasil	48
Tabela 8 -	Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas na Grande Vitória e Anchieta (ES), Brasil.....	48
Tabela 9 -	Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas em Ubatuba (SP) e adjacências, Brasil	49
Tabela 10 -	Correlações entre os seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no Brasil	50
Tabela 11 -	Correlações entre as concentrações de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no estado de Pernambuco, Brasil.	50
Tabela 12 -	Correlações entre as concentrações de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no estado do Ceará, Brasil.	51
Tabela 13 -	Correlações entre as concentrações de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no estado do Espírito Santo, Brasil.....	51
Tabela 14 -	Correlações entre as concentrações de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas no estado de São Paulo, Brasil	51
Tabela 15 -	Comparação entre tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) FP+ e FP- capturados nos estados do Espírito Santo e de São Paulo quanto ao comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e concentração de seis elementos químicos séricos.	56
Tabela 16 -	Concentração (ng/g) de elementos químicos detectados em tecidos de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) necropsiadas na costa brasileira	71

Tabela 17 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q) e terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) dos seis elementos químicos (Arsênio – As; Cádmio – Cd; Chumbo – Pb; Selênio – Se; Zinco – Zn e Mercúrio – Hg) analisados em tecidos de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) nos estados de Ceará (CE), Espírito Santo (ES) e São Paulo (SP).....	75
Tabela 18 - Resultados obtidos nas duas necropsias de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) realizadas no estado de Pernambuco (Fernando de Noronha).....	79
Tabela 19 - Bioacumulação dos elementos testados em cada órgão/tecido de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) provenientes da costa brasileira	80
Tabela 20 - Comparação da concentração dos elementos testados no baço de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) com ou sem sinais clínicos de FP (FP– e FP+), necropsiadas na costa brasileira.....	87
Tabela 21 - Comparação da concentração dos elementos testados no fígado de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) com ou sem sinais clínicos de FP (FP– e FP+), necropsiadas na costa brasileira.....	87
Tabela 21b- Comparação da concentração dos elementos testados no fígado de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) com ou sem sinais clínicos de FP (FP– e FP+), necropsiadas nos estados do Espírito Santo e São Paulo	86
Tabela 22 - Comparação da concentração dos elementos testados na glândula de sal de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) com ou sem sinais clínicos de FP (FP– e FP+), necropsiadas na costa brasileira.....	87
Tabela 23 - Comparação da concentração dos elementos testados no músculo esquelético de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) com ou sem sinais clínicos de FP (FP– e FP+), necropsiadas na costa brasileira	88
Tabela 24 - Comparação da concentração dos elementos testados no tecido ósseo de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) com ou sem sinais clínicos de FP (FP– e FP+), necropsiadas na costa brasileira.....	88
Tabela 24b - Comparação da concentração dos elementos testados no tecido ósseo de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) com ou sem sinais clínicos de FP (FP– e FP+), necropsiadas nos estados de Espírito Santo e São Paulo.....	87

Tabela 25 - Comparação da concentração dos elementos testados nos rins de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) com ou sem sinais clínicos de FP (FP– e FP+), necropsiadas na costa brasileira.....	88
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Resultados percentuais da prevalência de FP em amostras de 233 tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas na costa brasileira entre 2013 e 2015	55
Quadro 2 - Padrão de bioacumulação de As, Cd, Pb, Se, Zn e Hg em órgãos de tartarugas-verdes (<i>Chelonia mydas</i>) necropsiadas no litoral brasileiro	84

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1	AS TARTARUGAS-VERDES E A FIBROPAPILOMATOSE	23
2.2	A POLUIÇÃO DOS MARES E AS POPULAÇÕES DE TARTARUGAS MARINHAS	28
3	DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ALGUNS ELEMENTOS QUÍMICOS INORGÂNICOS EM SANGUE DE TARTARUGAS-VERDES – <i>Chelonia mydas</i> (LINNAEUS, 1758) – DA COSTA BRASILEIRA: POSSÍVEL CORRELAÇÃO COM A FIBROPAPILOMATOSE	31
3.1	INTRODUÇÃO	32
4	MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1	ÁREAS DE ESTUDO E CAPTURA DE ANIMAIS	34
4.2	COLHEITA DE SANGUE, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE	37
4.3	DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS	37
4.4	ESTATÍSTICA	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	CONCENTRAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS DETECTADOS NO SANGUE DAS TARTARUGAS-VERDES AMOSTRADAS	40
5.2	PREVALÊNCIA DA FIBROPAPILOMATOSE NOS ANIMAIS AVALIADOS	52
5.3	CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE SEIS ELEMENTOS QUÍMICOS E A PRESENÇA DE SINAIS CLÍNICOS DE FIBROPAPILOMATOSE EM TARTARUGAS-VERDES CAPTURADAS NA COSTA BRASILEIRA	55
6	CONCLUSÕES	58

7	DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ALGUNS ELEMENTOS QUÍMICOS EM TECIDOS DE TARTARUGAS-VERDES – <i>Chelonia mydas</i> (LINNAEUS, 1758) – DA COSTA BRASILEIRA: POSSÍVEL CORRELAÇÃO COM A FIBROPAPILOMATOSE	63
7.1	INTRODUÇÃO	64
8	MATERIAIS E MÉTODO	66
8.1	ÁREAS DE ESTUDO E CAPTURA DE ANIMAIS	66
8.2	COLHEITA DE TECIDOS, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE	67
8.3	DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS	67
8.4	ESTATÍSTICA	69
9	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
9.1	CONCENTRAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS DETECTADOS NOS TECIDOS DAS TARTARUGAS-VERDES AMOSTRADAS NA COSTA BRASILEIRA	70
9.2	CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS QUÍMICOS DETECTADOS NOS TECIDOS DAS TARTARUGAS-VERDES AMOSTRADAS POR LOCALIDADE NO BRASIL	75
9.3	BIOACUMULAÇÃO E CORRELAÇÕES ENTRE OS ELEMENTOS TESTADOS	80
9.4	PREVALÊNCIA DA FIBROPAPILOMATOSE (FP) NOS ANIMAIS AVALIADOS	86
10	CONCLUSÕES	90
11	CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
	REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

As tartarugas marinhas pertencem a Ordem Testudines e estão divididas em duas famílias: Cheloniidae e Dermochelyidae. A família Cheloniidae é atualmente representada por seis espécies, a saber: *Chelonia mydas* (tartaruga-verde ou aruanã), *Eretmochelys imbricata* (tartaruga-de-pente), *Lepidochelys olivacea* (tartaruga-oliva), *Lepidochelys kempii* (tartaruga-lora), *Natator depressus* (“flatback”) e *Caretta caretta* (tartaruga-cabeçuda). Já a família *Dermochelyidae* só possui a espécie *Dermochelys coriacea* (tartaruga-de-couro ou tartaruga-gigante).

Em águas brasileiras são encontradas cinco das sete espécies descritas: tartaruga-verde, tartaruga-de-pente, tartaruga-oliva, tartaruga-cabeçuda e tartaruga-de-couro (MARCOVALDI, et al., 2011). Todas são protegidas pela Portaria do IBAMA n.º 1.522 de 19 de dezembro de 1989 (BRASIL, 1989), que as declarou ameaçadas de extinção e determina que todos os estágios de vida das cinco espécies (incluindo ovos e filhotes) sejam protegidos.

As tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) habitam a zona nerítica (águas próximas a costa) durante a maior parte de suas vidas, onde se alimentam principalmente de algas bentônicas e plantas marinhas (BALAZS, 1980; BJORNDAL, 1980; BJORNDAL, 1997). As exceções a esta condição são os primeiros anos de vida – conhecidos como “anos perdidos” – quando habitam a zona pelágica e possuem uma dieta onívora com tendência a carnivoría (HIRTH, 1997) e as migrações que fazem em busca de sua praia de nascimento para a reprodução.

A identificação da espécie é realizada observando-se estruturas morfológicas da carapaça, do plastrão e da cabeça: carapaça oval com a presença de quatro pares de escudos laterais, o plastrão tem cor branca nos juvenis e torna-se amarelada nos adultos e a cabeça possui forma arredondada, um par de escamas pré-frontais e quatro pares de escamas pós-orbitais (PRITCHARD; MORTIMER, 2000) (Figura 1), além de uma mandíbula serrilhada (ERNST; BARBOUR, 1989).

A espécie é considerada em perigo pela *International Union for Conservation of Nature* - IUCN (IUCN, 2015) e o declínio das populações tem sido atribuído ao desenvolvimento costeiro, captura incidental pela pesca, uso direto para consumo humano, mudanças climáticas, poluição e patógenos (MARCOVALDI et al., 2011).

Figura 1 - Identificação de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*)

Fonte: Pritchard e Mortimer (2000).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AS TARTARUGAS-VERDES E A FIBROPAPILOMATOSE

A *Chelonia mydas* é uma tartaruga marinha com ampla distribuição global, ocupando mares tropicais e subtropicais, principalmente entre 40°N e 40°S de latitude (Figura 2) além de ser a espécie que mais apresenta hábitos costeiros, sendo capaz de utilizar estuários de rios e lagos (HIRTH, 1997). Na zona nerítica (águas próximas à costa), a tartaruga-verde se alimenta principalmente de algas bentônicas e plantas marinhas (BALAZS, 1980; BJORNDAL, 1980; BJORNDAL et al., 1997). Por serem animais de comportamento migratório, temporariamente habitam também as águas oceânicas, quando são capazes de fazer migrações de milhares de quilômetros (PLOTKIN, 1997). Segundo Hirth (1997), a espécie ocorre em pelo menos 139 países, sendo encontradas em águas costeiras ou praias de desova.

Figura 2 - Distribuição mundial de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*)

Fonte: MARCOVALDI et al., 2011.

No Oceano Atlântico, as áreas de nidificação da espécie são: Costa Rica, Guiana, Guiana Francesa, Suriname, VeraCruz e Quintana, Ilha Ascencion, Ilha Mona, Ilha das Aves, Trindade, Dry Tortugas, Ilha das Mulheres, Ilha do Cabo Verde, Flórida, Bermuda, Alta Vela, Ilhas Cayman, Cuba e Brasil (ERNST; BARBOUR, 1989) . Estudo genético realizado com tartarugas-verdes capturadas em Almofala – CE e Ubatuba – SP indicaram haplótipos principalmente da Ilha de Ascencion e também do Suriname, Ilha das Aves e Tortugueros e Trindade (esta no Brasil). É provável que haja tartarugas de outras localidades no Atlântico (NARO-MACIEL et al., 2007).

A migração de áreas de reprodução para as de alimentação e crescimento envolve praticamente todo o litoral brasileiro (BOWEN et al., 1992) sendo estas as áreas de desenvolvimento da *Chelonia mydas*, onde são encontradas principalmente tartarugas juvenis. Os momentos de entrada e saída desses habitats parecem estar relacionados com intervalos de tamanho bem definidos para algumas espécies e a recaptura de um mesmo indivíduo na mesma área ao longo de vários anos sugere uma certa residência por um período de tempo (MEYLAN; MEYLAN, 2000). No Brasil, o Projeto Tamar considera filhotes as tartarugas-verdes até 29,9cm de comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), juvenis, os animais de 30-95,9cm de CCC e adultos, aqueles com mais de 96cm de CCC, baseando-se no tamanho médio das tartarugas-verdes que retornam a costa brasileira para alimentação e ao tamanho da menor tartaruga-verde ovipondo em áreas de nidificação brasileiras (comunicação pessoal)¹.

A Fibropapilomatose (FP), também conhecida como *Green Turtle Fibropapilloma* (GTFP), é uma doença caracterizada por tumores cutâneos múltiplos (HERBST et al., 1998) (Figura 2) e considerada debilitante e fatal (AGUIRRE et al., 1998) com os animais acometidos apresentando distúrbios de flutuação, caquexia, hipoproteïnemia, desbalanço eletrolítico, uremia e elevação nas enzimas hepáticas (NORTON; JACOBSON; SUNDBERG, 1990).

¹ Informação fornecida pela Profa. Dra. Cecilia Baptistotte no Workshop Brasileiro de Fibropapilomatose em Tartarugas Marinhas, em Vitória –ES, maio de 2014.

Figura 3 - Fibropapilomatose em tartaruga-verde (*Chelonia mydas*)

Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

A FP foi descrita pela primeira vez em 1938 no Aquário de Nova Iorque (EUA) em uma tartaruga-verde que havia sido capturada dois anos antes em Key West, Flórida (SMITH; COATS, 1938). A doença então, foi observada em diferentes locais por todo o mundo e em alguns lugares, com monitoração constante, a prevalência tem aumentado desde 1980 (HERBST et al., 1995). Hoje em dia, a FP tem uma distribuição mundial e a prevalência é bastante variável, podendo, dependendo da região avaliada, apresentar-se de 0 a 92%, sendo esta última, e mais alta prevalência, encontrada no Havaí (EUA) em 1991 (HERBST et al., 1995).

No Brasil, o primeiro registro da doença ocorreu em 1986, no estado do Espírito Santo sendo, a partir de então, frequentemente registrado (BAPTISTOTTE et al., 2001). O estudo realizado entre 2000 e 2005 por Baptistotte (2007) mostrou a prevalência de 0% nas ilhas oceânicas de Atol das Rocas e Fernando de Noronha e 36,94% no Ceará (respectivamente o menor e o maior índice encontrados), sendo a prevalência média para todo o litoral brasileiro de 15,41%. Recentemente, em novo levantamento realizado pelo Projeto Tamar (janeiro de 2006 a dezembro de 2013) foram observados um total de 34.371 tartarugas verdes, sendo 20.660 encalhes, 6.178 provenientes de captura intencional e 7.533 provenientes de interação

com pesca. Deste total, 5.872 animais apresentaram FP, uma prevalência de 17,08% (Informação verbal)²

A doença é caracterizada por um ou múltiplos crescimentos fibroepiteliais cutâneos, de superfície verrucosa ou lisa e aparecendo como fibromas nas vísceras (KANG et al., 2008). Os tumores epiteliais podem ser pigmentados ou não, dependendo da pigmentação da pele na área de surgimento da lesão (HERBST, 1994) e podem se desenvolver em diversas partes do corpo do animal como nadadeiras, base da cauda, região cervical, oral, ocular, inguinal, axilar e carapaça incluindo as suturas entre os escudos adjacentes além de órgãos cavitários como os rins, o fígado e os pulmões (JACOBSON et al., 1989; NORTON et al., 1990; JACOBSON et al., 1991; HERBST, 1994; ADNYANA; LADDS; BLAIR, 1997; WORK; BALAZS, 1997) apresentando variação no tamanho e na quantidade (BAPTISTOTTE, 2007; ROSSI, 2007). O tamanho e a localização dos tumores benignos têm importância na sobrevivência do animal acometido. Ainda, é possível que haja a remissão dos tumores, assim como o aumento dos mesmos e o aparecimento de novas lesões (EHRHART; SINDLER; WITHERINGTON, 1986; JACOBSON et al., 1989; EHRHART, 1991; AGUIRRE et al., 1998) sem ainda uma explicação definitiva para tal.

Histologicamente, os tumores associados com a FP são divididos em papiloma, fibropapiloma e fibroma. Os papilomas representam a fase inicial de desenvolvimento dos tumores e consistem em proliferação da epiderme. Os fibromas são caracterizados por proliferação da matriz dermal, frequentemente envolvendo tecido colagenoso relativamente maduro e representam a fase crônica (KANG et al., 2008). Os fibropapilomas mostram ambas as mudanças, sugerindo que sejam uma fase intermediária (KANG et al., 2008) e caracterizam-se por projeção papilar e marcante hiperplasia da epiderme, proliferação de fibroblastos em vários estágios de diferenciação e presença de feixes de fibra de colágeno na derme (MATUSHIMA, 2003). Em outras espécies animais, os agentes conhecidos causadores de lesões cutâneas proliferativas semelhantes incluem carcinógenos químicos, luz ultravioleta, vírus oncogênicos e parasitas metazoários (HERBST et al., 1995).

A FP apresenta um padrão de distribuição compatível com a presença de um agente infeccioso (HERBST et al., 1995), tendo sido um herpesvírus identificado em 100% dos tumores induzidos por inoculação de infiltrados celulares de tumores (ENE et al., 2005) e em 95% das infecções naturais (QUACKENBUSH et al., 2001). O herpesvírus envolvido na fibropapilomatose pertence a Família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesviridae e é

² Informação fornecida pela Profa. Dra. Cecilia Baptistotte no Workshop Brasileiro de Fibropapilomatose em Tartarugas Marinhas, em Vitória –ES, maio de 2014.

chamado *Chelonid herpesvirus-5* (ChHV-5).

Os herpesvírus são associados a várias doenças de tartarugas marinhas incluindo a Doença dos pulmões-olhos-traqueia (LETD – lung-eye-trachea disease), a Gray-patch-disease (GPD) e a Fibropapilomatose (FP) (CURRY et al., 2000; STACY et al., 2008). No total, são descritos seis herpesvírus que acometem as tartarugas marinhas, todos pertencentes a Família Herpesviridae (DAVISON et al., 2009).

Os herpesvírus estão bem adaptados aos seus hospedeiros, muito provavelmente devido a co-evolução prolongada (DAVISON, 2002) e latente (ALFARO-NUÑEZ et al., 2014) e são caracterizados por seu ciclo de replicação curto, a capacidade de destruir as células infectadas e de estabelecer latência (RILEY, 1988).

A FP é detectada principalmente nas tartarugas-verdes juvenis, quando retornam à zona nerítica para se alimentar (HERBST et al., 2004). Por este motivo, duas hipóteses são traçadas sobre como as tartarugas se infectam com o ChHV-5: elas podem adquirir o vírus na fase inicial de suas vidas, incluindo o nascimento e a fase de alimentação na zona pelágica ou podem ser infectadas nas fases mais tardias, após migrarem para os habitats neríticos (ENE et al., 2005). Em estudo realizado em três regiões diferentes da Flórida (EUA), a distribuição heterogênea das variantes virais nos tumores das tartarugas-verdes reforçou a hipótese de que estas são infectadas depois de voltarem, ainda jovens, aos habitats neríticos.

Na costa brasileira, apenas as tartarugas-verdes juvenis apresentam FP, não tendo sido relatada a doença em filhotes e adultos. O Projeto Tamar – o mais antigo programa brasileiro de conservação de tartarugas marinhas – classifica as tartarugas como filhotes quando até com 29,9cm de comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), juvenis de 30-95,9cm de CCC e adultas a partir de 96cm de CCC (comunicação pessoal)³.

Entretanto, a doença também possui características multifatoriais, pois outros elementos parecem influenciar o desenvolvimento da doença como a temperatura da água (HERBST et al., 1995), a presença de ectoparasitas (GREENBLATT et al., 2004) e poluição ambiental (TOREZANI et al., 2009; SANTOS et al., 2010). As doenças normalmente são resultados de uma série de eventos altamente complexos que envolvem insultos ambientais múltiplos e heterogêneos ocorrendo sobre a suscetibilidade individual (COMMITTEE ON ANIMALS AS MONITORS OF ENVIRONMENTAL HAZARDS, 1991) e o impacto destes eventos é melhor observado quando se estudam os efeitos na população afetada em condições naturais ao longo do tempo (COMMITTEE ON ANIMALS AS MONITORS OF

³ Informação fornecida por Jordana Borini, executora de base no Projeto Tamar, em Espírito Santo, em dezembro de 2015.

ENVIRONMENTAL HAZARDS, 1991).

2.2 A POLUIÇÃO DOS MARES E AS POPULAÇÕES DE TARTARUGAS MARINHAS

O impacto humano sobre os habitats das tartarugas marinhas é reconhecido há décadas (LUTCAVAGE et al., 1997), e o esforço para mitigação deste problema é concentrado no ambiente terrestre. Com a proteção e a recuperação de ecossistemas marinhos em alguns locais, os impactos antropogênicos diretos ou indiretos sobre as tartarugas marinhas continuam a ocorrer (HAMANN et al., 2010). Existem diferentes formas de poluição que constituem uma ameaça para os habitats marinhos e terrestres das tartarugas marinhas que incluem som, temperatura, luz, plásticos, produtos químicos, efluentes e outros. De um modo geral, a poluição de qualquer tipo, ocorrendo acima de um certo limiar, pode produzir uma área inabitável. Em níveis abaixo desse limiar, pode significativamente degradar a qualidade do habitat, a capacidade de carga e outros aspectos da função do ecossistema (HAMANN et al., 2010).

Alguns elementos químicos são essenciais à vida, mas muitos podem bioacumular ou serem metabolizados e se tornarem tóxicos. É notório que animais vertebrados expostos a altas concentrações de alguns destes elementos, ou ainda, expostos a pequenas quantidades por longos períodos, podem apresentar problemas neurológicos, reprodutivos, gástricos, intestinais, respiratórios, imunológicos, hepáticos, renais e dermatológicos (MOFFET; ELMASRI; FOWLER, 2007; INNIS et al., 2008). Dessa forma, as concentrações de metais tóxicos e elementos químicos diversos têm sido estudadas em tecidos de tartarugas-verdes em diversas regiões do planeta (GODLEY; THOMPSONÀ; FURNESSÀ, 1999; SAKAI et al., 2000; ANAN et al., 2002; STORELLI; MARCOTRIGIANO, 2003; LAM et al., 2004; BARBIERI, 2009; TAN et al., 2010; van der MERWE et al., 2010; KOMOROSKE et al., 2012; BEZERRA et al., 2013) sendo encontrados níveis elevados de Cádmio (Cd) em tecido renal de *C. mydas* em lugares tão diferentes como Japão (SAKAI et al., 2000; ANAN et al., 2002), China (LAM et al., 2004), Europa (CAURANT et al., 1999), Austrália (GORDON; POPLÉ, 1998) e Arábia (BICHO et al., 2006).

Dessa forma, muitos estudos têm sido realizados em diferentes partes do mundo sobre a contaminação destes animais por metais tóxicos e elementos traço (AGUIRRE et al., 1994; GLADSTONE, 1996; GORDON; POPLÉ, 1998; SAKAI et al., 2000; ANAN et al., 2002;

LAM et al., 2004; AGUSA et al., 2008, van de MERWE et al., 2010), sendo bastante concebível que estes elementos possam desempenhar um papel importante na redução das populações (BARBIERI, 2009).

Apesar da importância das águas brasileiras no desenvolvimento de cinco das sete espécies de tartarugas marinhas, o primeiro estudo deste tipo no Brasil foi publicado somente em 2009, por Barbieri. Ademais, a população de *C. mydas* ocupa a faixa litorânea, onde é gerada grande parte da produção econômica, havendo uma maior carga poluidora proveniente dos centros urbanos e industriais submetendo os ecossistemas costeiros a uma violenta pressão. Os contaminantes dispersos na água podem apresentar-se em suspensão ou em solução. As partículas em suspensão podem ser transportadas por longas distâncias, dependendo, para isso, da sua estabilidade. Assim, compostos mais estáveis e em solução tendem a percorrer distâncias maiores e ainda, nos oceanos, correntes superficiais favorecem seu transporte (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Sabe-se que entre os fatores principais da redução das populações das tartarugas marinhas está a degradação dos ambientes marinhos costeiros (ANAN et al., 2002; LAM et al., 2004; HAMANN et al., 2010) e como a prevalência da FP parece ser estável ou crescente na maioria das regiões do mundo, a ação humana pode estar na origem desta expansão (WORK; BALAZS, 2013). Aguirre et al. (1994) sugeriram que alguns poluentes podem estar envolvidos na imunossupressão das tartarugas marinhas que desenvolvem a FP. Desta forma, muitos estudos têm sido realizados em diversas regiões do mundo detectando e quantificando elementos químicos orgânicos e inorgânicos tóxicos ou potencialmente tóxicos e, alguns destes, já demonstraram causar efeitos deletérios endócrinos em animais e humanos (KORTENKAMP et al., 2011). Estes xenobióticos podem também aumentar a suscetibilidade das tartarugas marinhas à doenças (AGUIRRE et al., 1994; CAMACHO et al., 2013) além disso, avaliar os efeitos de fatores antropogênicos é uma prioridade global para a conservação das tartarugas marinhas, com a identificação dos impactos específicos nas tartarugas determinando as áreas prioritárias (HAMANN et al., 2010).

Apesar de alguns autores não terem identificado alguma correlação entre elementos químicos inorgânicos e a presença da FP, no Brasil, alguns poucos estudos foram publicados (BARBIERI, 2009; BEZERRA et al., 2013; SILVA et al., 2016), sendo o mais recente deles um estudo realizado com vinte e sete tartarugas-verdes capturadas em Ubatuba – SP (Brasil) que verificou que os animais desta região com FP apresentavam índices de cobre (Cu), chumbo (Pb) e ferro (Fe) significativamente mais altos do que aqueles sem os sinais clínicos

da doença e ainda correlacionaram o aumento destes elementos químicos à indução de estresse oxidativo, o que implica na patogênese de infecções virais.

Desta forma, o objetivo principal deste trabalho foi detectar e quantificar seis elementos químicos tóxicos ou potencialmente tóxicos em amostras biológicas de tartarugas-verdes de quatro localidades da costa brasileira e correlacionar com o desenvolvimento da fibropapilomatose.

3 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ALGUNS ELEMENTOS QUÍMICOS INORGÂNICOS EM SANGUE DE TARTARUGAS-VERDES – *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758) – DA COSTA BRASILEIRA: POSSÍVEL CORRELAÇÃO COM A FIBROPAPILOMATOSE

Resumo: A fibropapilomatose (FP) é uma doença debilitante de caráter multifatorial e afeta tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) em todas as regiões do planeta. Contaminantes ambientais têm sido avaliados como possíveis fatores participantes no desenvolvimento dessa doença. Colhemos 233 amostras de sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com e sem lesões de fibropapilomatose em quatro diferentes localidades da costa brasileira, entre março de 2013 e outubro de 2015. Essas amostras foram enviadas para detecção e quantificação de Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Selênio (Se), Zinco (Zn) e Mercúrio (Hg) por ICP-MS. Os resultados foram submetidos ao tratamento estatístico, relacionando-os com a presença de sinais clínicos (lesões cutâneas) de FP. As e Se apresentaram concentrações menores em tartarugas-verdes com FP, ao mesmo tempo que Pb ou Hg (elementos sabidamente tóxicos) apresentaram concentrações maiores.

Palavras-chave: Tartarugas marinhas. Níveis séricos. Ecotoxicologia. ICP-MS. Fibropapilomatose costa brasileira.

Abstract: Fibropapillomatosis (FP) is a debilitating disease of multifactorial traits affecting green turtles (*Chelonia mydas*) worldwide. Environmental contaminants have been studied as possible contributing factors to the development of this disease. We collected 233 blood samples from green turtles with and without fibropapillomatosis lesions in four different locations of the Brazilian coast, between March 2013 and October 2015. Samples went through Arsenic (As), Cadmium (Cd), Plumb (Pb), Selenium (Se), Zinc (Zn) and Mercury (Hg) detection and quantification by ICP-MS techniques. Statistical analysis evaluated the correlation of the obtained results with the presence of clinical signs of FP (cutaneous lesions). As e Se concentrations were lower in FP-positive green turtles, while Pb and Hg (well known toxic elements) presented higher concentrations.

Keywords: Sea turtles. Seric levels. Ecotoxicology. ICP-MS. Fibropapillomatosis. Brazilian

coast.

3.1 INTRODUÇÃO

A tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) é a mais comum das espécies marinhas de quelônios. Possui distribuição mundial e habita mares entre as latitudes 40° N e 40° S, tendo Hirth (1997) descrito que a espécie ocorre em pelo menos 139 países, podendo ser encontrada em águas costeiras ou praias de desova. A espécie é considerada em perigo pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN, 2015) e vulnerável na lista de espécies ameaçadas (BRASIL, 1989) do Instituto Chico Mendes de Biodiversidade (ICMBio). As maiores ameaças à sobrevivência das tartarugas-verdes são: a degradação do ambiente costeiro; a captura incidental; o consumo de seus ovos e de sua carne; as mudanças climáticas e a contaminação por compostos tóxicos orgânicos e inorgânicos (ANAN et al., 2001; LAM et al., 2004).

Chelonia mydas é a espécie de quelônio marinho mais acometida pela fibropapilomatose (FP), doença caracterizada por tumores cutâneos ou viscerais benignos, cujos quadros mais severos podem comprometer a locomoção, visão e alimentação do hospedeiro (HERBST, 1994; ADNYANA; LADDS; BLAIR, 1997), podendo ser debilitante e fatal (AGUIRRE et al., 1998). O surgimento dos sinais da doença está associado à presença de um alfa-herpesvírus concomitante com fatores ambientais, populacionais e genéticos, sendo considerada uma doença de caráter multifatorial. Existem seis herpesvírus que acometem as tartarugas, todos pertencentes à família Herpesviridae, mas apenas dois deles pertencem à subfamília Alphaherpesvirinae, um deles associado ao desenvolvimento da FP: o *Chelonid herpesvirus-5* (ChHV-5) (DAVISON et al., 2009).

Estudos genéticos concluíram que a última divergência da variante do ChHV-5 ocorreu há milhões de anos (GREENBLATT et al., 2004; ENE et al., 2005), sugerindo que o aumento da prevalência da doença pode ser mais facilmente explicado por mudanças no ambiente ou fatores ecológicos.

No Brasil, a doença se apresenta majoritariamente na forma de afecções cutâneas, sendo a forma visceral raramente descrita. Além disso, mais da metade da população brasileira ocupa a faixa litorânea, onde é gerada grande parte da produção econômica e que submete os ecossistemas costeiros a violentas pressões. Assim sendo, o entendimento das inter-relações entre elementos químicos tóxicos e potencialmente tóxicos e a presença da FP se faz necessário.

Ademais, dentre as múltiplas necessidades para se compreender as ameaças às tartarugas-marinhas, destacam-se: avaliar os efeitos de fatores antropogênicos nos habitats das tartarugas marinhas; avaliar o impacto da poluição sobre as tartarugas marinhas e seus habitats; pesquisar a etiologia e a epidemiologia da FP (HAMANN et al., 2010).

A escolha dos pontos de coleta de dados se deu pela prevalência da doença nas tartarugas-verdes, optando-se pelos estados do Ceará (32,59%), Espírito Santo (21,06%), São Paulo (10,43%) e Pernambuco (0%) (Informação verbal)⁴. Todas as coletas foram realizadas em parceria com a equipe do Projeto Tamar e foram acompanhados os diferentes métodos para a captura dos animais, que diferem em cada ponto de acordo com as necessidades locais. As colheitas de material biológico foram feitas após a identificação dos espécimes e mensuração do tamanho do indivíduo através do comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), parâmetro utilizado para identificar o estágio de vida dos animais.

⁴ Informação fornecida pela Profa. Dra. Cecília Baptistotte no Workshop Brasileiro de Fibropapilomatose em Tartarugas Marinhas, em Vitória –ES, maio de 2014.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREAS DE ESTUDO E CAPTURA DE ANIMAIS

Foram coletadas amostras de tartarugas-verdes provenientes de quatro estados da costa brasileira: Ceará, Espírito Santo, São Paulo e Pernambuco (representado pelo arquipélago de Fernando de Noronha), tendo sempre a base do Projeto Tamar como ponto de apoio. A Figura 4 apresenta o mapa das áreas onde foram efetuadas as coletas de amostras.

A captura dos espécimes de *Chelonia mydas* ocorreu de diversas formas, de acordo com o monitoramento realizado pelas equipes do Projeto Tamar: captura incidental em Almofala (CE); captura intencional por tarrafa em Vitória (ES); captura incidental ou resgate em Ubatuba (SP); captura por mergulho ou monitoramento de fêmeas adultas em Fernando de Noronha (PE).

Alguns animais foram mantidos nos centros de reabilitação nas bases do Projeto Tamar de Almofala (CE) e de Ubatuba (SP) por necessitarem de cuidados médicos, e foram soltos após o período de recuperação. Os animais de vida livre capturados em Almofala (CE), Vitória (ES) e Fernando de Noronha (PE) foram liberados logo após a obtenção dos dados biométricos e das colheitas de amostras (Anexo A, Figura 6).

Quanto ao uso dessas localidades pela *C. mydas*, os estados do Ceará (CE) e Espírito Santo (ES) representam áreas de alimentação da espécie; o litoral norte do estado de São Paulo (SP), onde se localiza a cidade de Ubatuba, é uma reconhecida área de alimentação e refúgio da espécie (GALLO et al., 2006); e Fernando de Noronha (PE) representa uma área mista onde as tartarugas-verdes se alimentam e nidificam (MARCOVALDI et al., 2011).

A descrição de cada área amostrada é apresentada a seguir:

- Almofala (CE): A base do Projeto Tamar situa-se na vila de Almofala, cidade de Itarema (S2° 56' 28", W39° 50' 00"), no oeste do estado do Ceará. Esta é uma importante área de alimentação da tartaruga-verde, caracterizada pela baixa densidade urbana e industrial, cuja vocação principal é a agricultura e a pesca. Os animais foram provenientes da arte de pesca denominada "curral de pesca", que consiste em uma armadilha fixa, em forma de salões circulares e semicirculares revestidos por estacas e uma rede envolvente de fio trançado. Uma longa fileira de estacas, perpendicular à praia, serve para guiar os peixes

para o interior dos salões. Os animais ficavam retidos até a despesca, que ocorria durante a maré baixa, quando os pescadores operam uma rede de cerco e capturam os peixes (PAIVA; NOMURA, 1965). Eventualmente, as tartarugas entravam nos currais e eram capturadas. Estas então eram entregues ao funcionários/estagiários do Projeto Tamar no momento do desembarque na praia, quando eram mensuradas, examinadas e identificadas (por anilha). Seguia-se, então, à colheita de material biológico. Alguns animais necessitavam de tratamento veterinário e eram levados à base do projeto, ficando internados até a melhora do quadro e soltura, ou, eventualmente, o óbito.

- Grande Vitória e Anchieta (ES): Vitória e Serra formam juntas a Grande Vitória, e ambas as cidades possuem grande número de indústrias e dois portos (Vitória e Tubarão). A vocação das duas cidades é para a indústria, o comércio e o turismo. Anchieta, ao sul de Vitória, é uma cidade menor e tem vocação para o turismo e o comércio. A maioria dos animais foi capturado ativamente através de tarrafa pelos estagiários do Projeto Tamar, no canal efluente da Arcelor Mittal, Companhia Siderúrgica de Tubarão (CST – S20°26'22", W40°22'99"), cidade de Serra, onde se alimentam das algas que proliferam nesse ambiente. Após a captura, seguia-se imediatamente à biometria, exame físico, identificação e colheita de material. A soltura ocorria no mesmo ponto de coleta. Também foram amostrados animais vivos mantidos em tratamento na base de Anchieta, cidade ao sul da Grande Vitória. Estes animais são provenientes do litoral capixaba e resgatados quando necessitam de tratamento médico. Essa antiga base do Tamar é hoje mantida pelo Instituto de Pesquisa e Conservação Marinha (IPCMAR – S20°48'21", W40°38'44"). Alguns animais do Centro de Visitantes do Projeto Tamar em Vitória, capital do estado de Espírito Santo (S20°19'08", W40°20'16"), também participaram da pesquisa. Estes são animais saudáveis, mantidos na base com finalidade de educação ambiental.
- Ubatuba (SP): A base do Projeto Tamar está localizada na praia de Itaguá, Ubatuba (S23°26'02", W45°04'15"). Ubatuba é uma cidade pertencente ao litoral norte do estado mais populoso e industrializado do Brasil (SP) e sua vocação é turística. Os animais eram internos na base do Projeto Tamar de

Ubatuba após terem sido encontrados boiando ou em interação com rede de pesca na região monitorada, que compreende desde a divisa do estado de São Paulo com o Rio de Janeiro até a cidade de Caraguatatuba, totalizando 106 km de praias. Eventualmente, animais resgatados em Paraty (RJ) foram encaminhados para a base do Tamar em Ubatuba, por proximidade.

- Fernando de Noronha (PE): Fernando de Noronha é um arquipélago oceânico com uma área total de 17 km², situado a 545 km da costa do estado de Pernambuco, onde vive uma população de 3.500 habitantes e o turismo é desenvolvido de forma sustentável. Além de ser uma área de alimentação, as tartarugas-verdes nidificam em suas praias no período de janeiro a março. A localização geográfica do arquipélago, distante da costa e, portanto, com menor carga de poluentes marinhos, além de um histórico de 0% de prevalência de FP desde o início do monitoramento das tartarugas marinhas ali existentes (em 1984), foi um fator decisivo para a escolha deste ponto de coleta de dados como um possível grupo controle. Os animais foram capturados ativamente através de mergulho livre pelos biólogos do Projeto Tamar, preferencialmente na Baía do Sueste (S03°50'49", W32°23'40"), que pertence ao Parque Nacional Marinho de Fernando de Noronha, área de proteção ambiental. Os espécimes eram trazidos até a areia, onde eram mensurados, examinados, identificados (por anilha) e o material biológico era colhido. Os animais eram liberados imediatamente após o término das colheitas.

Figura 4 - Mapa de localização dos quatro pontos de amostragem

Editado por Ralph Vanstreels.

4.2 COLHEITA DE SANGUE, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

Os animais foram capturados em seu ambiente ou já se encontravam nas bases do Projeto Tamar. Aqueles que não possuíam identificação, recebiam uma anilha fornecida pelo próprio Projeto Tamar, sendo, então, mensurados quanto ao comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), parâmetro utilizado para identificar o estágio de vida dos animais. Em seguida, foi colhido 1 mL de sangue do *sinus* venoso cervical, tendo o osso occipital como referência. As tartarugas foram liberadas imediatamente após a coleta e o sangue foi armazenado em tubos Vacuette® *Trace Elements Sodium Heparin* (GreinerBio-one, Americana, SP, Brasil), mantidos em gelo e posteriormente levados ao *freezer* a uma temperatura de -80°C até ser realizada a análise química.

4.3 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS

As análises foram realizadas em uma sala limpa classe 1000, localizada no Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, utilizando um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), operando com argônio de alta pureza (99,999%, Praxaair, Brasil). O sistema de introdução da amostra foi composto por um nebulizador do tipo Meinhard® e câmara ciclônica de quartzo ligados por tubos Tygon® à bomba peristáltica do ICP-MS (fixado em 20rpm). O ICP-MS foi operado utilizando cone de amostragem e *skimmer* de platina obtidos pela PerkinElmer®. No preparo das amostras e soluções, foi utilizado água deionizada de alta pureza (resistividade $18.2\text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$), obtida por meio de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore Rios-DI™, Bedford, MA, EUA). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico-reagente, exceto HNO_3 , que foi previamente purificado empregando um destilador subboiling de quartzo (KürnerAnalyssentechnik). Os frascos plásticos foram descontaminados com solução de HNO_3 10% v/v por 24 horas e lavados cinco vezes com água obtida do sistema Milli-Q, sendo posteriormente secos em capela de fluxo laminar (classe 100) antes do uso.

Para as análises de Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Selênio (Se) e Zinco (Zn), as soluções de calibração foram preparadas utilizando soluções estoque multielementares e para as análises de Mercúrio (Hg) utilizou-se solução de estoque Mercury Standard, ambas produzidas pela PerkinElmer (Shelton, CT, EUA), contendo 10 mgL^{-1} de cada elemento em estudo.

Para a determinação dos elementos em sangue, curvas de calibração foram preparadas pelo método de ajuste de matriz, nas quais foram utilizadas sangue ovino (sangue base) de animais pertencentes ao Biotério Central da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto. Neste estudo foi utilizado o método de Batista et al. (2009), no qual o diluente foi composto por 0,5 % v/v HNO_3 + 0,01% v/v de Triton X-100. As amostras e as curvas de calibração foram diluídas na proporção 1:50 em tubos de polipropileno Falcon® de 15 mL (Becton Dickinson), com a solução diluente. A fim de verificar a exatidão e a precisão da análise, os materiais de referência de sangue humano (QME-QAS07B03 e QMEQAS07B06) do *L'Institut National de Santé Publique du Québec* (Canadá) e Seronorm™ *Trace Elements Whole Blood Lyophilized* (Norway, n. 404109) foram analisados.

4.4 ESTATÍSTICA

Para determinar a bioacumulação dos elementos químicos, utilizamos o tamanho dos animais (CCC) e verificamos a correlação com a concentração dos seis elementos químicos. Os resultados foram descritos e sumarizados por meio do cálculo de média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1°Q), terceiro quartil (3°Q), mínimo (mín) e máximo (máx). Após a análise descritiva, verificamos a normalidade dos dados, em que apenas a concentração de mercúrio (Hg) nos animais capturados em Almofala (CE) apresentou aderência à curva normal. Consequentemente, testes não paramétricos foram utilizados para as análises ou inferências, admitindo um erro máximo de 5%.

As correlações foram examinadas com o teste de correlação de Spearman (ρ) para todas as amostras colhidas (não levando em consideração a localidade da obtenção da amostra e ao qual chamamos “Brasil”) e, posteriormente, entre as amostras de cada localidade (estados do Ceará, Pernambuco, Espírito Santo e São Paulo).

Subsequentemente, foi utilizado o teste U de Mann-Whitney para realizar as comparações entre as tartarugas que apresentavam sinais clínicos de fibropapilomatose (FP) e aquelas que

eram livres de sinais da doença com relação às variáveis idade (CCC) e os seis elementos quantificados, admitindo-se um erro máximo de 5% (valor de $p < 0,05$).

Finalmente, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para avaliar as diferenças entre o CCC e os seis elementos testados de acordo com a localidade (Brasil) de colheita da amostra. Quando existiu pelo menos um grupo diferente foi realizado o teste de múltiplas comparações com alfa de 5% ($p < 0,05$).

O tratamento dos dados e as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *Software R* (R Core Team, 2015).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram colhidas 233 amostras de sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com e sem fibropapilomatose (FP) em quatro diferentes estados da costa brasileira entre março de 2013 e outubro de 2015. As amostras foram testadas para seis elementos químicos: Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Selênio (Se), Zinco (Zn) e Mercúrio (Hg).

Das 233 amostras colhidas, 24 eram provenientes do estado do Ceará (CE); 68 do Espírito Santo (ES); 70 de São Paulo (SP); e 71 de Pernambuco (PE). A idade estimada dos animais foi determinada segundo os padrões do Projeto Tamar: até 29,9 cm de CCC = filhotes; entre 30,0 e 95,9 cm de CCC = juvenis; acima de 96,0 cm de CCC = adultos, encontrando, no total, 9 filhotes, 222 juvenis e 2 adultos. Destes, 160 animais não apresentavam sinais clínicos de FP (FP-) e 73 apresentavam os sinais clínicos de FP (FP+).

5.1 CONCENTRAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS DETECTADOS NO SANGUE DAS TARTARUGAS-VERDES AMOSTRADAS

As Tabelas 1, 2, 3 e 4 apresentam os dados de comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) em metros (m) e os resultados obtidos em microgramas por litro ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) para os seis elementos detectados e quantificados no sangue das tartarugas-verdes em forma de média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q) e terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) por estado.

Tabela 1 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) do CCC e da concentração de seis elementos químicos analisados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no estado de Pernambuco (em Fernando de Noronha), Brasil

Variável	μ (dp)	m	1° Q	3° Q	mín-máx	N
CCC (m)	0,687 (0,124)	0,715	0,642	0,758	0,373 – 0,758	71
As ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	5.040,5 (39.700,5)	225,4	156,7	339,6	76 – 334.837	71
Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	10,8 (9,2)	9,7	6,7	12,9	1,4 – 74,1	71
Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	27,7 (20,2)	22,8	15,4	34,9	6,3 – 131,1	71
Se ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	331,2 (378,7)	225,4	156,7	339,6	156,7 – 2.906,9	71
Zn ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	8.318 (4.265,9)	6.307	5.283	11.871	2.175 – 22.022	71
Hg ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,281 (0,226)	0,172	0,148	0,328	0,1 – 1,2	45

Legenda: n = número de amostras testadas; CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; m = metros; $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ = microgramas por litro.

Tabela 2 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) do CCC e da concentração de seis elementos químicos analisados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no estado do Ceará (CE), Brasil

Variável	μ (dp)	m	1° Q	3° Q	mín-máx	N
CCC (m)	0,484 (0,189)	0,435	0,381	0,532	0,277 – 1,148	24
As ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	933,5 (906)	657,2	345,4	1.174,5	64,5 – 3.757,8	20
Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	16,1 (16,2)	10,1	4,8	18,9	1,4 – 57,9	20
Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	29,3 (27,7)	17	10,6	39,7	2,5 – 94,3	20
Se ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	29.996,9 (126.986,4)	1.517	876,3	2.100,8	322,3 – 569.483	20
Zn ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	7.587 (4.177,6)	6.619	5.298	8.838	2.58 – 18.904	20
Hg ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	9,5 (8,9)	10,1	1,8	14,7	0 – 27,4	14

Legenda: n = número de amostras testadas; CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; m = metros; $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ = microgramas por litro.

Tabela 3 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) do CCC e da concentração de seis elementos químicos analisados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no estado do Espírito Santo (ES), Brasil

Variável	μ (dp)	m	1° Q	3° Q	mín-máx	N
CCC (m)	0,428 (0,108)	0,419	0,367	0,479	0,184 – 0,851	68
As ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	2.166,7 (5.150,9)	283,6	172,7	1.103,3	2,1 – 33.098,3	68
Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	9,8 (11,8)	5,6	2,1	12,5	0,08 – 53,2	68
Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.129,9 (2.044,9)	368,6	102,9	1.272,2	0,007 – 13.928,4	68
Se ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.190,9 (1.859,6)	488,9	338,7	956,1	153,7 – 7.878,9	68
Zn ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	21.530 (46.081,4)	8.493	5.952	16.446	1.379 – 311.406	68
Hg ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	10,1 (17,2)	3,9	3,0	6,8	0,15 – 86,2	57

Legenda: n = número de amostras testadas; CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; m = metros; $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ = microgramas por litro.

Tabela 4 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) do CCC e da concentração de seis elementos químicos analisados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no estado de São Paulo (SP), Brasil

Variável	μ (dp)	m	1° Q	3° Q	mín-máx	N
CCC (m)	0,393 (0,096)	0,372	0,346	0,5412	0,195 – 0,840	70
As ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	2.174,2 (3.970)	472,5	124,7	2.654,2	24,5 – 21.798	69
Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	12,2 (13,5)	2,6	20,0	12,9	0,357 – 55,5	69
Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	34,8 (29,8)	26,8	14,2	41,2	2,5 – 136,1	69
Se ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.238,8 (1.966,5)	634,9	204,1	1.526,7	0,119 – 13.913,4	69
Zn ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.941,2 (5.796,1)	6.630,2	3.235,5	8.365,1	2,57 – 37.966,5	69
Hg ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	22,6 (37,2)	13,0	6,7	21,7	0,038 – 230,4	59

Legenda: n = número de amostras testadas; CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; m = metros; $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ = microgramas por litro.

Observamos que os menores animais (menor CCC) foram capturados no estado de São Paulo e, os maiores, em Pernambuco, conforme visualizado na Figura 5, a seguir. Os estados do Ceará, Espírito Santo e São Paulo apresentaram semelhança nos tamanhos de carapaça (letra a).

Figura 5 - Distribuição do comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) entre as populações de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) amostradas

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

As Figuras 6 a 11 representam graficamente as concentrações dos elementos químicos testados em cada um dos pontos de coleta. Verificamos que Fernando de Noronha (PE) apresentou os resultados mais homogêneos, mesmo possuindo o maior número de amostras ($n = 71$).

No estado de Pernambuco, verificamos as menores concentrações para As, Se, Zn e Hg. Isso mostra que mesmo se os animais desta localidade apresentam o maior tamanho de carapaça, eles parecem não estar expostos a esses elementos químicos na mesma proporção que os animais dos outros três estados. Os indivíduos capturados em Pernambuco também apresentam a segunda maior concentração para Cd, e concentração de Pb similar à do estado de São Paulo, sendo pouco maior que a concentração observada no estado do Ceará.

Figura 6 - Distribuição da concentração de Arsênio (As) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) amostradas

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 7 - Distribuição da concentração de Cádmio (Cd) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) amostradas

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 8 - Distribuição da concentração de Chumbo (Pb) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) amostradas

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 9 - Distribuição da concentração de Selênio (Se) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) amostradas

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 10 - Distribuição da concentração de Zinco (Zn) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) amostradas

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 11 - Distribuição da concentração de Mercúrio (Hg) sérico entre as populações de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) amostradas

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Observando os resultados dos quatro pontos de coleta de dados, as concentrações parecem flutuar grandemente, como descrito por Aguirre et al. (1994) e Prioste et al. (2015).

A exemplo, podemos citar os resultados: 1) é notável que a mediana da concentração de Se encontrada nos animais provenientes do estado do Ceará foi de $1517 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, enquanto nos animais provenientes de São Paulo (segunda maior concentração) foi de $488,9 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, representando uma diferença de 68%; 2) A concentração mediana de Pb no sangue dos animais do Espírito Santo foi de $368,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e a de São Paulo (segunda maior concentração) foi de apenas $26,8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Essas diferenças marcadas são comuns e já descritas (AZEVEDO; CHASIN, 2004; NICOLL et al., 2014), sendo comuns variações em um mesmo indivíduo. Esta afirmação se refere à necessidade de obtenção de números amostrais grandes, aumentando a segurança dos resultados.

Os animais oriundos dos estados de Ceará, Espírito Santo e São Paulo apresentaram semelhança nos tamanhos de carapaça (CCC) e nas concentrações de As e Se. O Zn apareceu como o mais abundante dos elementos químicos testados (medianas), o que já foi observado em outros estudos (JEREZ et al., 2010; LEY-QUIÑONEZ et al., 2011; CAMACHO et al., 2013).

Os animais capturados no estado do Espírito Santo apresentaram os mais altos índices de Pb (pelo menos treze vezes maior que os índices dos outros três estados analisados). Este dado parece estar intimamente relacionado ao fato de a maioria dos animais capturados nesta localidade estarem se alimentando de algas em um efluente de companhia siderúrgica.

As mais altas concentrações medianas de Hg foram encontradas no estado de São Paulo, seguido por Ceará e Espírito Santo. As amostras provenientes do estado de Pernambuco apresentaram concentrações medianas deste elemento próximos a 0,0 ($m = 0.172$), sugerindo que animais que se alimentam mais próximos à costa brasileira são mais suscetíveis à contaminação por Hg.

Após a realização desta análise estatística descritiva, testamos a normalidade dos dados, verificando que apenas os resultados de Almofala (CE) apresentaram aderência à curva normal. No entanto, devido ao pequeno número de observações (24), foram utilizados, para todas as análises, testes não paramétricos. Inicialmente, foi aplicada a Correlação de Spearman (ρ) para verificar as interações entre o tamanho dos animais capturados (CCC) e cada um dos seis elementos químicos testados nas 233 amostras obtidas (Brasil). As correlações significativas são apresentadas nas Tabelas 5, 6, 7, 8 e 9.

Tabela 5 - Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no Brasil

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
CCC x (Brasil)	As	-0,34	< 0,01
	Se	-0,41	< 0,01
	Zn	0,17	0,01
	Hg	-0,63	< 0,01

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo, Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Tabela 6 - Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas em Fernando de Noronha (PE), Brasil

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
CCC x	As	-0,26	0,03
	Se	-0,27	0,02

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Tabela 7 - Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas em Almofala (CE), Brasil

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
CCC x	As	-0,55	0,01
	Cd	-0,51	0,02

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Tabela 8 - Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas na Grande Vitória e Anchieta (ES), Brasil

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
CCC x	As	-0,46	< 0,01
	Cd	-0,25	0,04
	Pb	0,51	< 0,01
	Zn	0,52	< 0,01
	Hg	-0,39	< 0,01

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Tabela 9 - Correlações entre o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a concentração de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas em Ubatuba (SP) e adjacências, Brasil

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
CCC x	As	-0,30	0,01
	Cd	-0,25	0,04
	Pb	0,31	0,01

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Observando o resultado das concentrações dos seis elementos químicos quando correlacionados ao tamanho das tartarugas-verdes testadas em todos os pontos de captura, notamos que o Hg foi o único que apresentou uma correlação negativa forte ($\rho = -0,63$). Isto demonstra que quanto maior o tamanho do carapaça, menor o índice de concentração desse elemento químico. Esse resultado está diretamente relacionado ao fato de os maiores animais testados terem sido capturados em Fernando de Noronha, ilha oceânica distante da costa brasileira e dos dejetos que áreas antropizadas produzem. É importante ressaltar que os resultados de Fernando de Noronha para Hg eram tão mínimos que, em algumas vezes, o resultado foi negativo e tivemos de utilizar os cálculos de Limites de Detecção do ICP-MS para realizar as análises estatísticas em todas as amostras que apresentaram tal comportamento.

Da mesma forma, o Se apresentou correlação moderada e negativa com o CCC ($\rho = -0,41$) e, novamente, percebemos que os animais de Fernando de Noronha apresentaram os menores índices de concentração desse elemento, havendo, em 71 amostras, apenas dois animais com resultados com mais de três dígitos ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Esta correlação negativa não apareceu nos outros estados. Esses resultados são consistentes com o estudo publicado por Prioste et al. (2015), em que os resultados preliminares deste mesmo estudo foram analisados, porém com 31 tartarugas-verdes capturadas em Fernando de Noronha.

Observamos, então, uma correlação negativa entre o tamanho de carapaça das tartarugas-verdes (mediana de todas as amostras analisadas) e os elementos As, Se e Hg, resultados parcialmente semelhantes com aqueles observados em pesquisa realizada com animais da mesma espécie capturados em San Diego Bay (USA), onde se encontrou esta correlação também para cádmio e cobre (KOMOROSKE et al., 2011).

De acordo com a *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR), o Se é um nutriente essencial para o funcionamento de enzimas em humanos e outros animais, além de estar envolvido na defesa do organismo como antioxidante. Contudo, tanto sua deficiência

quanto seu excesso trazem prejuízos para a saúde (ATSDR, 2003). É notável que a mediana de Se encontrada nos animais provenientes do estado do Ceará seja muito mais elevada do que das outras localidades (mais que o dobro do estado de São Paulo e quase sete vezes maior que o estado de Pernambuco).

Testamos, também, a correlação entre os seis elementos químicos detectados e quantificados com todas as amostras (Brasil) e por estado analisado. Os resultados significantes são visualizados nas Tabelas 10, 11, 12, 13 e 14.

Tabela 10 - Correlações entre os seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no Brasil

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
As x	Cd	0,56	< 0,01
	Hg	0,43	< 0,01
Se x	As	0,73	< 0,01
	Cd	0,55	< 0,01
	Pb	0,14	0,04
	Zn	0,29	< 0,01
	Hg	0,54	< 0,01
Zn x	Cd	0,26	< 0,01
	Pb	0,43	< 0,01

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Tabela 11 - Correlações entre as concentrações de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no estado de Pernambuco, Brasil.

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
CCC x	As	-0,26	0,03
	Se	-0,27	0,02
As x	Cd	0,46	< 0,01
Pb x	Cd	0,34	< 0,01
Se x	As	1,00*	< 0,01
	Cd	0,46	< 0,01
	Zn	0,38	< 0,01
Zn x	As	0,37	< 0,01
	Cd	0,58	< 0,01
	Pb	0,28	0,02

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

*Correlação perfeita.

Tabela 12 - Correlações entre as concentrações de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no estado do Ceará, Brasil.

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
Se x	Cd	0,46	0,04
Zn x	Pb	0,57	0,01

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Tabela 13 - Correlações entre as concentrações de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no estado do Espírito Santo, Brasil

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
As x	Cd	0,46	< 0,01
	Pb	-0,27	0,03
	Hg	0,49	< 0,01
Pb x	Hg	-0,43	< 0,01
Se x	As	0,76	< 0,01
	Cd	0,86	< 0,01
Zn x	Cd	0,26	0,04
	Pb	0,55	< 0,01
	Hg	-0,35	0,01

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Tabela 14 - Correlações entre as concentrações de seis elementos químicos testados em sangue de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas no estado de São Paulo, Brasil

Variáveis correlacionadas		ρ	Valor de p
As x	Cd	0,68	< 0,01
	Pb	-0,26	0,03
	Hg	0,42	< 0,01
Se x	As	0,70	< 0,01
	Cd	0,82	< 0,01
	Zn	0,48	< 0,01
	Hg	0,40	< 0,01
Zn x	Cd	0,26	0,03
	Pb	0,43	< 0,01
	Hg	0,38	< 0,01

Legenda: CCC = comprimento curvilíneo de carapaça; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

O coeficiente de correlação positiva mais alto encontrado foi entre Se e As (0,73), o que igualmente corrobora com os resultados preliminares apresentados por Prioste et al. (2015). Esta é uma correlação já descrita em diversos estudos com diferentes animais, e cuja exposição simultânea aos dois elementos apresenta uma interação antagonista entre os mesmos (ZENG; UTHUS; COMBS, 2005). Em recente publicação sobre a interação desses

dois metaloides, Sun et al. (2014) sugerem que, em baixas concentrações, o Se diminui a toxicidade do As através da excreção extracelular de um composto de As-Se: $[(GS_3)_2AsSe]^-$; por outro lado, Se em excesso pode aumentar a toxicidade do As em humanos.

Baseando-nos em resultados estatísticos obtidos, com a correlação perfeita entre Se e As nos animais capturados em Pernambuco e níveis séricos de Se muito altos em animais capturados no estado do Ceará, sugerimos estudos mais aprofundados sobre a possível participação desses elementos químicos no desenvolvimento da FP.

Os resultados de concentrações de elementos químicos em sangue de tartarugas-verdes costumam oscilar bastante, como comentamos anteriormente, o que torna possível descrever que as amostras de São Paulo e do Espírito Santo são bastante semelhantes, pois ambas apresentam correlações positivas fortes entre Se e As (respectivamente 0,70 e 0,76), Se e Cd (respectivamente 0,82 e 0,86), e, ainda, As e Cd (respectivamente 0,68 e 0,64). Em Fernando de Noronha, observamos a única correlação perfeita ($p = 1$) entre As e Se.

A correlação positiva entre Se e As só não foi observada no Ceará, sugerindo a necessidade de ampliação do tamanho das amostras.

5.2 PREVALÊNCIA DA FIBROPAPILOMATOSE NOS ANIMAIS AVALIADOS

A distribuição da fibropapilomatose (FP), de acordo com este estudo, pode ser visualizada na Figura 12, em que verificamos uma semelhança entre os resultados obtidos na Grande Vitória e Anchieta (ES) e Ubatuba (SP) e adjacências. A procedência e a presença ou ausência de FP de sinais clínicos externos (lesões cutâneas) de FP estão descritas no Quadro 1, apresentado mais adiante neste estudo.

Figura 12 - Gráfico da distribuição dos animais amostrados com e sem sinais de fibropapilomatose (respectivamente FP+ e FP-) nas quatro localidades pesquisadas

Legenda: CE = Ceará; ES = Espírito Santo; PE = Pernambuco (Fernando de Noronha); SP = São Paulo.

Comparativamente com os dados fornecidos pelo Projeto Tamar (Ceará = 32,59%; Espírito Santo = 21,06%; São Paulo = 10,43%; Pernambuco = 0%), observamos semelhança nos resultados sobre a prevalência da doença apenas para Fernando de Noronha, que permaneceu 0%.

Há um fator importante a ser lembrado quando se analisa o resultado obtido em Pernambuco: trata-se de um arquipélago oceânico, situado a 545 km da costa pernambucana (Região Nordeste do Brasil). Sabemos que a FP é uma doença que acomete indivíduos que se alimentam, majoritariamente, em águas costeiras, e afeta, na maior parte das vezes, os indivíduos juvenis e que, portanto, estão retornando à costa e mudando sua dieta de onívora para herbívora. Entretanto, mesmo os juvenis encontrados em Fernando de Noronha não apresentaram os sinais clínicos da doença. Esta observação apenas confirma nossa tese inicial de que os animais residentes em Fernando de Noronha podem ser utilizados estatisticamente como um “grupo controle” para pesquisas com FP em tartarugas-verdes encontradas em águas brasileiras.

Nos resultados obtidos no estado do Ceará, observamos que a prevalência da FP (20,83%) era menor do que aquela descrita pelo Projeto Tamar (32,59%). A explicação para este fato pode estar na sazonalidade dos animais que se alimentam na costa cearense. Nossas expedições de coleta de dados para esse estado se deram nos meses de outubro de 2013 e 2015 (seca), e no mês de junho de 2014 (chuvas). A expedição de 2014 obteve amostras de treze espécimes e, destes, cinco apresentaram sinais clínicos de FP, uma prevalência de

38,5%. Esta análise temporal nos leva a crer que possa haver um aumento do número de indivíduos de *C. mydas* se alimentando nesta região durante os meses de chuva (de março a junho), observação confirmada pela equipe do Projeto Tamar do Ceará, cujo trabalho nesta área foi iniciado em 1993 (Comunicação pessoal)⁵.

Quanto aos dados referentes ao Espírito Santo, dos 34 animais positivos clinicamente para FP, 32 foram capturados ativamente no efluente da Arcelor-Mittal, onde os animais se alimentam das algas que crescem abundantemente devido à temperatura elevada da água (aproximadamente 36 °C). Este é um resultado significativo, podendo haver duas explicações para tal: 1) por se tratar de uma área com poucas ameaças às tartarugas, temperatura da água elevada e alimento abundante, as tartarugas-verdes doentes podem utilizar-se desta região, preservando sua sobrevivência. Além de um ambiente propício para sua alimentação e seu desenvolvimento, não há predadores, pescadores ou embarcações na área, o que diminui a ocorrência de colisões ou traumas; 2) algum fator no ambiente promove o aparecimento dos sinais da doença, podendo este estar ligado à temperatura da água, à contaminação do ambiente ou, ainda, a um terceiro fator predisponente da população ainda desconhecido.

O aumento da prevalência verificado neste estudo no estado de São Paulo (Ubatuba e adjacências) pode ter se dado, principalmente, pelo método de captura utilizado. Os animais que participaram deste estudo estavam todos em tratamento ou eram internos para educação ambiental na base do projeto. Levando em consideração que animais com FP apresentam outros problemas de saúde, como anemia, hipovolemia, dificuldades natatórias etc. (BROOKS et al., 1994; WORK, BALAZS, 1999), são estes os mais facilmente encontrados pela população local que aciona a Polícia Ambiental ou a própria equipe do Projeto Tamar para resgate, havendo, portanto, um grande número de animais internados que apresentam os sinais clínicos da doença.

⁵ Informação fornecida pelo Sr. Eduardo Lima, coordenador regional do projeto Tamar no estado do Ceará em novembro de 2015.

Quadro 1 - Resultados percentuais da prevalência de FP em amostras de 233 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) capturadas na costa brasileira entre 2013 e 2015

Captura n (% Brasil)	Procedência	FP+ e FP-: n (%)
PE: 71 (30,5%)	Fernando de Noronha	FP+: 0 (0%) FP-: 71 (100%)
CE: 24 (10,3%)	Costa cearense	FP+: 5 (20,83%) FP-: 19 (79,17%)
ES: 68 (29,2%)	Arcelor Mittal: 54 CV Tamar: 5 Costa capixaba: 9	FP+: 34 (50%) FP-: 34 (50%)
SP: 70 (30,0%)	Paraty (RJ) e litoral norte de São Paulo	FP+: 34 (48,57%) FP-: 36 (51,43%)
Brasil: 233 (100%)	4 estados brasileiros	FP+: 73 (31,33%) FP-: 160 (68,67%)

Legenda: PE = Pernambuco; CE = Ceará; ES = Espírito Santo; SP = São Paulo; FP+ = com fibropapilomatose; FP- = sem fibropapilomatose.

5.3 CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE SEIS ELEMENTOS QUÍMICOS E A PRESENÇA DE SINAIS CLÍNICOS DE FIBROPAPILOMATOSE EM TARTARUGAS-VERDES CAPTURADAS NA COSTA BRASILEIRA

O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para comparar as tartarugas positivas para a fibropapilomatose (que apresentaram lesões cutâneas: FP+) e as negativas para a doença (que não apresentaram lesões cutâneas: FP-) quanto às seguintes variáveis: tamanho de carapaça (CCC), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Selênio (Se), Zinco (Zn) e Mercúrio (Hg). Os resultados são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 - Comparação entre tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) FP+ e FP- capturadas nos estados do Espírito Santo e de São Paulo quanto ao comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e concentração de seis elementos químicos séricos.

Variável	ES	SP
CCC	FP- < FP+	FP- < FP+
As	FP- > FP+	FP- > FP+
Cd	Não significativo	FP- > FP+
Pb	FP- < FP+	Não significativo
Se	FP- > FP+	FP- > FP+
Zn	FP- < FP+	Não significativo
Hg	Não significativo	Não significativo

Legenda: FP+ = com sinais clínicos de fibropapilomatose; FP- = sem sinais clínicos de fibropapilomatose; > = maior que; < = menor que; As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Como Fernando de Noronha (PE) apresenta 0% de prevalência da doença, o grupo de animais deste local não participou do teste. Os resultados do Ceará apresentaram significância apenas para Zn ($p = 0,02$), indicando que as tartarugas livres de FP apresentaram uma maior concentração sérica deste elemento. É importante ressaltar que este resultado pode se modificar com o aumento do número amostral, fortalecendo o poder do teste. Desta forma, os testes foram realizados entre os animais capturados no estado do Espírito Santo e de São Paulo.

Nos animais dessas duas áreas, observamos que o aumento do tamanho do carapaça das tartarugas-verdes está relacionado à presença de sinais da doença. É importante ressaltar que os animais do Espírito Santo que apresentavam sinais clínicos de fibropapilomatose (FP+) possuíam CCC entre 0,352 m e 0,611 m, e os de São Paulo possuíam CCC em um intervalo de 0,33 m a 0,647 m, confirmando o período de vida no qual a doença se manifesta: os animais estão entrando na fase juvenil, corroborando com dados mundiais sobre a prevalência da doença. Neste intervalo de CCC, em nossa amostragem, quanto maior o tamanho da tartaruga-verde, maior a probabilidade de o animal apresentar os sinais clínicos da doença.

Nessas duas áreas, observamos que as tartarugas-verdes com sinais clínicos da doença apresentaram índices de As e Se menores que aquelas livres dos sinais clínicos da fibropapilomatose (FP-). Quanto à concentração de Se, a análise estatística mostrou que animais sem sinais clínicos da FP apresentaram níveis séricos menores do que aqueles com FP. Reforçamos a sugestão de que os animais de Almofala (CE), cujos níveis séricos de Se são muito mais elevados, devam ser estudados minuciosamente, para que se possa compreender melhor o papel do Se no desenvolvimento da doença.

Os animais capturados no estado do Espírito Santo apresentaram níveis séricos de Pb muito maiores ($m = 368,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) que os de São Paulo ($m = 26,8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Este fato sugere que os animais do Espírito Santo podem estar se contaminando no efluente de uma siderúrgica, uma vez que: 1) 79,41% da amostragem deste estado é proveniente deste local e 2) a análise de Pb sérico representa uma contaminação recente.

Da mesma forma, os animais capturados no estado de São Paulo apresentaram índices de Hg sérico maiores que os animais de Espírito Santo, tanto em animais FP+ quanto em FP-, sugerindo que estes animais estão sendo expostos ao mercúrio no litoral norte de São Paulo.

6 CONCLUSÕES

As amostras colhidas nos estados do Ceará, Espírito Santo e de São Paulo apresentaram semelhança no tamanho de carapaça dos animais, denotando uma amostragem com animais que ocupam a mesma faixa etária (juvenis) e, portanto, predispostos à fibropapilomatose (FP).

Apesar de as concentrações de elementos químicos em sangue de tartarugas-verdes se apresentarem normalmente em grandes flutuações, as amostras do estado de Pernambuco (representado pelos animais analisados no arquipélago de Fernando de Noronha), além de serem livres da FP, apresentaram os resultados mais homogêneos, mesmo com uma grande amostragem ($n = 71$). Desta forma, sugerimos que as tartarugas-verdes desta área possam ser consideradas um “grupo controle” para estudos com FP e/ou contaminantes inorgânicos.

Os animais em Fernando de Noronha (PE) também apresentaram os menores índices de As, Se, Zn e Hg, mesmo sendo os animais com maior tamanho de carapaça. Isto sugere que os animais que ali se alimentam estão menos expostos aos elementos supracitados.

Além da semelhança entre os tamanhos de carapaça, os estados do Ceará, Espírito Santo e de São Paulo apresentaram-se semelhantes nas concentrações de As e Se; já as concentrações desses dois elementos foram muito mais baixas no estado de Pernambuco.

O Zn é o mais abundante dos elementos testados em sangue de tartarugas-verdes na costa brasileira.

Os níveis séricos mais altos de Pb foram encontrados nos animais do estado do Espírito Santo. Recomendamos que monitoramentos futuros devam ser realizados para acompanhamento da saúde desses espécimes.

Da mesma forma, as mais altas concentrações de Hg foram encontradas nos animais capturados no estado de São Paulo, aos quais recomendamos monitoramentos futuros da saúde dos espécimes que nesta área se alimentam/refugiam.

As e Se foram encontrados em Pernambuco (Fernando de Noronha) em níveis séricos muito baixos. Curiosamente, tartarugas-verdes das outras três localidades estudadas apresentaram uma diminuição desses elementos quando com sinais de FP, ao mesmo tempo em que apresentaram concentrações maiores de algum elemento químico tóxico, como Pb (no caso do Espírito Santo) e Hg (no caso de São Paulo).

Assim, sugerimos que estudos futuros analisem como os elementos químicos aqui estudados se combinam no organismo das tartarugas-verdes, podendo ter importância no entendimento de como a fibropapilomatose (FP) se desenvolve no litoral brasileiro.

REFERÊNCIAS

- ADNYANA, W.; LADDS, P.W.; BLAIR, D. Observations of fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*) in Indonesia. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 10, p. 737-742, 1997.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Toxicological profile for selenium**. Atlanta, GA.: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, 2003.
- AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B.; GALEY, F. D. Organic contaminants and trace metals in the tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) affected with fibropapillomas in the Hawaiian Islands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 28, p. 109-114, 1994.
- AGUIRRE, A. A.; SPRAKER, T. R.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles of the Hawaiian Islands. **Journal of Wildlife Disease**, v. 34, p. 91-98, 1998.
- ANAN, Y.; KUNITO, T.; WATANABE, I.; SAKAI, H.; TANABE, S. Trace element accumulation in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Japan. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, p. 2802-2814, 2001.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da Ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa, 2003. – São Paulo: Intertox, 2003, 340 p.
- BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; NUNES, J. A.; SOUZA, V. C. O.; BARBOSA Jr., F. Exploiting dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) for sequential determination of trace elements in blood using a dilute-and-shoot procedure. **Analytica Chimica Acta**, v. 639, p. 13-18, 2009.
- BRASIL. Portaria IBAMA n.º 1.522 de 19 de dezembro de 1989. **Lista Oficial das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção**. 1989. Disponível em: <www.mma.gov.br/estruturas/179/_arquivos/lista_1989.pdf>. Acesso em: 08 dez. 2015.
- BROOKS, D. E.; GINN, P. E.; MILLER, T. R.; BRAMSON, L.; JACOBSON, E. R. Ocular fibropapillomas of green turtle (*Chelonia mydas*). **Veterinary Pathology**, v. 31, p. 335-339, 1994.
- CAMACHO, M.; ORÓS, J.; BOADA, L. D.; ZACCARONI, A.; SILVI, M.; FORMIGARO, C.; LÓPEZ, P.; ZUMBADO, M.; LUZARDO, O. P. Potential adverse effects of inorganic pollutants on clinical parameters of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): results from a nesting colony from Cape Verde, West Africa. **Marine Environmental Research**, v. 92, p. 15-22, 2013.
- DAVISON, A. J.; EBERLE, R.; EHLERS, B.; HAYWARD, G.; McGEOCH, D. J.; MINSON, A. C.; PELLETT, P. E.; ROIZMAN, B.; STUDDERT, M. J.; THIRY, E. The order *Herpesvirales*. **Archives of Virology**, v. 154, p. 171-177, 2009.
- ENE, A.; LEMAIRE, S.; ROSE, C.; SCHAFF, S.; MORETTI, R.; LENZ, J.; HERBST, L. H. Distribution of Chelonid Fibropapillomatosis-Associates Herpesvirus variants in Florida:

molecular genetic evidence for infection of turtles following recruitment to neritic developmental habitats. **Journal of Wildlife Disease**, v. 41, n. 3, p. 489-497, 2005.

GALLO, B. M. G.; MACEDO, S.; GIFFONI, B. B.; BECKER, J. H.; BARATA, P. C. R. Sea Turtle Conservation in Ubatuba, Southeastern Brazil, a feeding area with incidental capture in coastal fisheries. **Chelonian Conservation Biology**, v. 5 n.1, p. 93-101, 2006.

GREENBLATT, R. J.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H.; SUTTON, C. A.; CASEY, R. N.; CASEY, J. W. The *Ozobranchus* leech is a candidate mechanical vector for the fibropapilloma-associated turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtle (*Chelonia mydas*). **Virology**, v. 321, p. 101-110, 2004.

HAMANN, M.; GODFREY, M. H.; SEMINOFF, J. A.; ARTHUR, K.; BARATA, P. C. R.; BJORNDAAL, K. A.; BOLTEN, A. B.; BRODERICK, A. C.; CAMPBELL, L. M.; CARRERAS, C.; CASALE, P.; CHALOUPKA, M.; CHAN, S. K. F.; COYNE, M. S.; CROWDER, L. B.; DIEZ, C. E.; DUTTON, P. H.; EPPERLY, S. P.; FITZSIMMONS, N. N.; FORMIA, A.; GIRONDOT, M.; HAYS, G. C.; CHENG, I. J.; KASKA, Y.; LEWISON, R.; MORTIMER, J. A.; NICHOLS, W. J.; REINA, R. D.; SHANKER, K.; SPOTILA, J. R.; TOMAS, J.; WALLACE, B. P.; WORK, T. M.; ZBINDEN, J.; GODLEY, B. J. Global research priorities for sea turtles: informing management and conservation in the 21st century. **Endangered Species Research**, v. 11, p. 245-269, 2010.

HERBST, L. H. Fibropapillomatosis of marine turtles. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 4, p. 389-425, 1994.

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

IUCN 2015. **IUCN Red List of Threatened Species**. Versão 2015-4. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 12 dez. 2015.

JEREZ, S.; MOTAS, M.; CANOVAS, R. A.; TALAVERA, J.; ALMELA, R. M.; DEL RIO, A. B. Accumulation and tissue distribution of heavy metals and essential elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Spanish Mediterranean coastline of Murcia. **Chemosphere**, v. 78, p. 256-264, 2010.

KOMOROSKE, L. M.; LEWISON, R. L.; SEMINOFF, J. A.; DEUSTCHMAN, D. D.; DEHEYN, D. D. Pollutants and the health of green sea turtles resident to an urbanized estuary in San Diego Bay, CA. **Chemosphere**, v. 84, n. 5, p.544-552, 2011.

LAM, J. C. W.; TANABE, S.; CHAN, S. K. F.; YUEN, E. K. W.; LAM, M. H. W.; LAM, P. K. S. Trace element residues in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) from South China Waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, p. 174-182, 2004.

LEY-QUÍÑONEZ, C.; ZAVALA-NORZAGARAY, A. A.; ESPINOSA-CARREON, T., L.; PECKHAM, H. MARQUEZ-HERRERA, C.; CAMPOS-VILLEGAS, L. AGUIRRE, A. A. Baseline metals and metalloid values in blood of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Baja California Sur, Mexico. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 9, p. 1979-1983, 2011.

MARCOVALDI, M. A. A. G.; SANTOS, A. S. dos; SALES, G. (Org.). **Plano de ação nacional para a conservação das Tartarugas marinhas**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2011. 120 p. (Série Espécies Ameaçadas, n. 25).

MOFFET, D. B.; EL-MASRI, H. A.; FOWLER, B. A. General considerations on dose-effect and dose-response relationships. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. (Ed.). **Handbook on the toxicology of metals**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. p. 101-116.

NICOLL, D.; LU, C. M.; PIGNONE, M; McPHEE, S. **Manual de exames diagnósticos**. 6. ed. Porto Alegre: AMGH Editora, 2014.

PAIVA, M. P.; NOMURA, H. Sobre a produção pesqueira de alguns currais-de-pesca do Ceará – dados de 1962 a 1964. **Arquivo Estadual de Biologia Marinha da Universidade do Ceará**, v. 5, n. 2, p. 175-214, 1965.

PRIOSTE, F. E. S.; SOUZA, V. C. O.; QUEIROZ, M. R.; CHIACCHIO, R. G. D.; BARBOSA, F.; MATUSHIMA, E. R. Chemical element concentrations in the blood of green turtles (*Chelonia mydas*) captured at Fernando de Noronha Marine National Park, Brazil. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, v. 5, n. 6, p. 325. 2015.

SILVA, C. C.; KLEIN, R. D.; BARCAROLLI, I. F.; BIANCHINI, A. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 42-51, 2016.

SUN, H. J.; RATHINASABAPATHI, B.; WU, B.; LUO, J.; PU, L. P.; MA, L. Q. Arsenic and selenium toxicity and their interactive effects in humans. **Environment International**, v. 69, p. 148-158, 2014.

WORK, T.M.; BALAZS, G.H. Relating Tumor Score to Hematology in Green Turtles with Fibropapillomatosis in Hawaii. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 4, p. 804-807, 1999.

ZENG, H.; UTHUS, E. O.; COMBS, G. F. JR. Mechanistic aspects of the interaction between selenium and arsenic. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, n. 6, p. 1269–1274, 2005.

7 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ALGUNS ELEMENTOS QUÍMICOS EM TECIDOS DE TARTARUGAS-VERDES – *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758) – DA COSTA BRASILEIRA: POSSÍVEL CORRELAÇÃO COM A FIBROPAPILOMATOSE

Resumo: Os níveis de metais tóxicos e potencialmente tóxicos têm sido avaliados e relatados em tartarugas marinhas de diversas partes do mundo. Esses contaminantes ambientais têm sido relacionados como um possível cofator do desenvolvimento de fibropapilomatose (FP) em tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*). Baço, rins, fígado, glândula de sal, musculatura esquelética e tecido ósseo de tartarugas-verdes capturadas em quatro estados do Brasil foram coletados e analisados por ICP-MS para os seguintes elementos químicos: As, Cd, Pb, Se, Zn e Hg. Estatisticamente estabeleceu-se a correlação entre a quantificação desses xenobióticos e a presença de FP. Tartarugas-verdes com FP apresentaram concentrações de Se menores em todos os órgãos analisados que as que não apresentavam sinais clínicos da FP. Concentrações de As também foram menores em baço, fígado, glândula de sal e rins de tartarugas-verdes que apresentavam tumores. Também observamos que tartarugas-verdes com FP, da costa brasileira, apresentaram maior concentração de Pb no fígado, nos rins e nos ossos.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. ICP-MS. Elementos químicos. Fibropapilomatose. Litoral brasileiro. *Chelonia mydas*.

Abstract: Levels of toxic and potentially toxic metals have been evaluated and reported in sea turtles from all over the world. These environmental contaminants have been suggested as possible co-factors in the development of fibropapillomatosis (FP) in green turtles (*Chelonia mydas*). Samples of spleen, kidneys, liver, salt glands, skeletal muscles and bones from green turtles captured in four different states of Brazil were analyzed by ICP-MS for the following chemical elements: As, Cd, Pb, Se, Zn and Hg. Statistical establishment of a correlation between the xenobiotics and the presence of FP were conducted. All evaluated organs from FP+ green turtles presented lower Se concentrations than those from FP- specimens. Green sea turtles presenting tumors had lower [As] in spleen, liver, salt glands and kidney samples. Also, FP+ green turtles in this study presented higher [Pb] in liver, kidneys and bone tissues.

Keywords: Ecotoxicology. ICP-MS. Chemicals. Fibropapillomatosis. Brazilian coast. *Chelonia mydas*.

7.1 INTRODUÇÃO

A costa brasileira possui mais de 7 400 km de extensão, área que é utilizada por cinco das sete espécies de tartarugas marinhas existentes. A mais comum delas, a tartaruga-verde (*Chelonia mydas*), utiliza as águas brasileiras para alimentação e nidificação.

Apesar de ser facilmente encontrada em praias e estuários de rios e lagos (HIRTH, 1997), a espécie encontra-se em perigo de extinção pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN, 2015) e vulnerável na lista de espécies ameaçadas (BRASIL, 1989) do Instituto Chico Mendes de Biodiversidade (ICMBio). Entre as ameaças que a tartaruga-verde sofre, podem ser citados a degradação do ambiente costeiro; a captura incidental; o consumo de seus ovos e de sua carne; as mudanças climáticas e a contaminação por compostos tóxicos orgânicos e inorgânicos (ANAN et al., 2001; LAM et al., 2004). Estudos têm relatado o declínio das populações de tartarugas-verdes associado à presença de poluentes no ecossistema marinho (GORDON et al., 1998; GODLEY et al., 1999; SAKAI et al., 2000) e o entendimento dos resíduos químicos tóxicos em tecidos de tartarugas marinhas é uma preocupação mundial (CAURANT et al., 1999; ANAN et al., 2001; STORELLI; MARCOTRIGIANO, 2003; HAMANN et al., 2010), uma vez que mesmo elementos químicos essenciais à vida podem se bioacumular e se tornar tóxicos. Vertebrados expostos a altas concentrações de certos elementos químicos, ou a pequenas concentrações desses elementos químicos por longos períodos, podem apresentar sintomas neurológicos, reprodutivos, gastrointestinais, respiratórios, hepáticos, renais e dermatológicos (MOFFET; EL-MASRI; FOWLER, 2007; INNIS et al., 2008).

Além da preocupação ecológica, a tartaruga-verde também é a espécie de quelônio marinho mais acometida pela fibropapilomatose (FP), doença caracterizada por tumores cutâneos ou viscerais benignos, e os quadros mais severos podem comprometer a locomoção, visão e alimentação do hospedeiro (HERBST, 1994; ADNYANA; LADDS; BLAIR, 1997), podendo ser debilitante e fatal (AGUIRRE et al., 1998). O surgimento dos sinais da doença está associado à presença de um alfa-herpesvírus concomitante com fatores ambientais, populacionais e genéticos, sendo considerada uma doença de caráter multifatorial. Existem seis herpesvírus que acometem as tartarugas pertencentes à família Herpesviridae, e apenas dois deles pertencentes à subfamília Alphaherpesvirinae, um deles associado ao desenvolvimento da FP: o *Chelonid herpesvirus-5* (ChHV-5) (DAVISON et al., 2009).

No Brasil, a doença se apresenta majoritariamente na forma cutânea, e o entendimento das inter-relações entre a poluição dos ecossistemas marinhos e a presença da FP nestes quelônios das águas brasileiras é necessário. Assim sendo, o objetivo principal deste trabalho foi detectar e quantificar os seguintes elementos químicos em amostras de tecidos (baço, rins, fígado, glândula de sal, musculatura esquelética e tecido ósseo) de tartarugas-verdes em quatro pontos da costa brasileira: Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Selênio (Se), Zinco (Zn) e Mercúrio (Hg), e correlacionar suas concentrações com a presença ou ausência da FP.

A escolha dos pontos de coleta de dados se deu pela prevalência da doença em tartarugas-verdes, optando-se pelos estados do Ceará (32,59%), Espírito Santo (21,06%), São Paulo (10,43%) e Pernambuco (0%), representado por Fernando de Noronha (Informação verbal)⁶.

Todas as coletas foram realizadas em parceria com a equipe do Projeto Tamar, acompanhando os diferentes métodos para a captura dos animais, pois diferem em cada ponto por necessidades locais, e, após a identificação dos espécimes, realizando-se a colheita de material biológico, a mensuração do tamanho do indivíduo por comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) e a verificação da presença ou ausência de lesões cutâneas por FP.

⁶ Informação fornecida pela Profa. Dra. Cecilia Baptistotte no Workshop Brasileiro de Fibropapilomatose em Tartarugas Marinhas, em Vitória –ES, maio de 2014.

8 MATERIAIS E MÉTODO

8.1 ÁREAS DE ESTUDO E CAPTURA DE ANIMAIS

As necropsias foram realizadas nas bases do Projeto Tamar de Almofala, no Ceará ($S2^{\circ}56'28''$, $W39^{\circ}50'00''$); de Ubatuba, em São Paulo ($S23^{\circ}26'02''$, $W45^{\circ}04'15''$) e em Fernando de Noronha, em Pernambuco ($S03^{\circ}50'49''$, $W32^{\circ}23'40''$). Em Vitória, no Espírito Santo, as necropsias foram realizadas no Instituto de Pesquisa e Conservação Marinha (IPCMAR) ($S20^{\circ}48'21''$, $W40^{\circ}38'44''$). A Figura 1 apresenta o mapa das áreas de estudo descritas a seguir.

Figura 13 - Mapa de localização dos quatro pontos de amostragem.

Editado por Ralph Vanstreels

- Almofala (CE): A base do Projeto Tamar fica situada na vila de Almofala, cidade de Itarema, no oeste do estado do Ceará, e recebe animais mortos de toda a costa cearense para serem realizadas as necropsias.
- Grande Vitória e Anchieta (ES): O Instituto de Pesquisa e Conservação Marinha (IPCMAR) recebe animais mortos de toda a costa capixaba para serem realizadas as necropsias.
- Ubatuba (SP): Os animais (vivos ou mortos) são trazidos para a base do Projeto Tamar de Ubatuba após terem sido encontrados boiando ou em interação com rede de pesca

na região monitorada, que compreende desde a divisa do estado de São Paulo com o Rio de Janeiro até a cidade de Caraguatatuba, totalizando 106 km de praias. A base do projeto está localizada na praia de Itaguá, Ubatuba, onde são realizadas as necropsias.

- Fernando de Noronha (PE): As necropsias foram realizadas na base do Projeto Tamar, situado na Praia do Sueste.

8.2 COLHEITA DE TECIDOS, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A maioria das necropsias foi realizada nas salas de necropsia das instituições citadas. No entanto, em Almofala (CE), algumas necropsias foram realizadas na praia para os animais positivos para FP, no ponto de encontro da carcaça, evitando-se a contaminação dos animais em tratamento na base; e em Fernando de Noronha (PE), não havendo uma edificação destinada a se fazer necropsias, optou-se por uma área afastada da praia (Anexo A, Figuras 7, 8 e 9).

Os animais foram mensurados (CCC) e foram coletadas amostras de baço, rins, fígado, glândula de sal, musculatura esquelética (músculo peitoral profundo) e osso (escápula), utilizando-se faca de cerâmica e evitando-se o contato com qualquer material metálico. As amostras foram acondicionadas em tubos de polipropileno de 15 mL Falcon® (Becton Dickinson) e congeladas (-20°C) até a análise. Quando possível, a sexagem foi realizada durante a necropsia, através da identificação das gônadas dos animais.

8.3 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS

As análises foram realizadas em uma sala limpa classe 1000, localizada no Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, utilizando-se um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado, operando com argônio de alta pureza (99,999%, Praxaair, Brasil). O sistema de introdução da amostra foi composto por um nebulizador do tipo Meinhard® e câmara ciclônica de quartzo ligados por tubos Tygon® à bomba peristáltica do ICP-MS (fixado em 20 rpm). O ICP-MS foi operado utilizando cone de amostragem e *skimmer* de platina obtidos

pela PerkinElmer® (Shelton, CT, EUA). No preparo das amostras e soluções, foi utilizada água deionizada de alta pureza (resistividade $18.2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$) obtida por meio de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore Rios-DITM, Bedford, MA, EUA). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico-reagente, exceto HNO_3 , que foi previamente purificado, empregando-se um destilador subboiling de quartzo (KürnerAnalyssentechnik). Os frascos plásticos foram descontaminados com solução de HNO_3 10% v/v por 24 horas e lavados cinco vezes com água obtida do sistema Milli-Q, sendo posteriormente secos em capela de fluxo laminar (classe 100) antes do uso.

Para as análises de Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Selênio (Se) e Zinco (Zn), as soluções de calibração foram preparadas utilizando-se soluções estoque multielementares produzidas pela PerkinElmer® (Shelton, CT, EUA), contendo 10 mgL^{-1} de cada elemento em estudo. Para a análise de Mercúrio (Hg), a solução de calibração foi preparada utilizando-se solução estoque Mercury Standard produzida pela Perkin Elmer® (Shelton, CT, EUA), contendo 10 mgL^{-1} .

Para a determinação dos elementos em tecidos, curvas de calibração foram preparadas em TMAH (hidróxido de tetrametil amônio), de acordo com Batista et al. (2009), no qual o diluente foi composto por 0,5 % v/v HNO_3 + 0,01% v/v de Triton X-100. As amostras e as curvas de calibração foram diluídas em tubos de polipropileno Falcon® de 15 mL (Becton Dickinson), com a solução diluente. A fim de verificar a exatidão e precisão da análise, os materiais de referência de tecido de fígado de bovino 1577c (National Institute of Standards and Technology) e chumbo em osso bovino NYS RM 05-02 (NY State Dept of Health – Bone Pb Standardization Program) foram analisados. O tecido ósseo necessitou um preparo diferente para a diluição. Aproximadamente 75mg de cada amostra foi colocada em um tubo Falcon® de 50 ml (Becton Dickinson) acrescentando-se 2 mL de HNO_3 subdestilado com a tampa semi-aberta, as amostras permaneceram em repouso por 48 horas. Após este tempo, as tampas foram fechadas e os tubos aquecidos em banho-maria por 2 horas. A solução então foi suspendida para 50mL com água MilliQ.

8.4 ESTATÍSTICA

O comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), parâmetro utilizado para determinar a idade estimada dos animais, e a concentração dos seis elementos químicos testados foram descritos e sumarizados por meio do cálculo de média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q), terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx). Após a análise descritiva, verificou-se a normalidade dos dados e apenas a concentração de Mercúrio (Hg) nos animais necropsiados em Almofala (CE) apresentou aderência à curva normal; consequentemente, testes não paramétricos foram utilizados para as análises ou inferências, admitindo-se um erro máximo de 5% ($p < 0.05$).

As correlações foram examinadas com o teste de correlação de Spearman (ρ) para todos os animais necropsiados (sem levar em consideração a localidade) e, posteriormente, entre as amostras colhidas em cada ponto. Subsequentemente, utilizou-se o teste U de Mann-Whitney para realizar as comparações entre as tartarugas que apresentavam sinais clínicos de FP e aquelas que eram livres de sinais da doença quanto as variáveis CCC e os seis elementos quantificados.

Finalmente, de acordo com a localidade da obtenção da amostra, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para avaliar as diferenças entre o CCC e os seis elementos testados.

O tratamento dos dados e as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software R (R Core Team, 2015).

9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre março de 2012 e outubro de 2015, foram colhidas 488 amostras de tecidos ($n = 488$) de 86 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com e sem fibropapilomatose (21 FP+ e 65 FP-), em quatro diferentes localidades da costa brasileira, sendo 81 amostras de baço ($n = 81$: 19 FP+ e 62 FP-); 85 amostras de rins ($n = 85$: 21 FP+ e 64 FP-); 85 amostras de fígado ($n = 85$: 21 FP+ e 64 FP-); 76 amostras de glândula de sal ($n = 76$: 18 FP+ e 58 FP-); 86 amostras de musculatura esquelética ($n = 86$: 21 FP+ e 65 FP-); 75 amostras de tecido ósseo ($n = 75$: 18 FP+ e 57 FP-). As amostras foram testadas para seis elementos químicos: Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Selênio (Se), Zinco (Zn) e Mercúrio (Hg).

Dos 86 animais analisados, doze eram provenientes do estado do Ceará (CE: 4 FP+ e 8 FP-); 2 de Pernambuco (PE: 0 FP+ e 2 FP-); 30 do Espírito Santo (ES: 11 FP+ e 19 FP) e 42 de São Paulo (SP: 6 FP+ e 36 FP-). A idade estimada foi determinada segundo os padrões do Projeto Tamar⁷: até 29,9 cm de CCC = filhotes; entre 30,0 e 95,9 cm de CCC = juvenis; e acima de 96,0 cm de CCC = adultos, encontrando-se, no total, 2 filhotes, 81 juvenis, 1 adulto e 2 animais sem mensuração (por contingências de campo).

9.1 CONCENTRAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS DETECTADOS NOS TECIDOS DAS TARTARUGAS-VERDES AMOSTRADAS NA COSTA BRASILEIRA

As concentrações dos elementos detectados e quantificados neste estudo podem ser visualizadas na Tabela 16. Apresentamos os resultados em forma de média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q) e terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx). Para nossas estatísticas, utilizaremos sempre a mediana, uma vez que os resultados não apresentaram aderência à curva normal; no entanto, ao compararmos com outros estudos, utilizaremos a média, resultado publicado pela maioria dos autores.

Neste estudo, o tecido ósseo apresentou as maiores concentrações de As, Pb e Zn; o fígado apresentou as maiores concentrações de Se e Hg; já os rins foram os órgãos que mais acumularam Cd.

⁷ Informação fornecida por Jordana Borini, executora de base no Projeto Tamar, em Espírito Santo, em dezembro de 2015.

Tabela 16 - Concentração (ng/g) de elementos químicos detectados em tecidos de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas na costa brasileira

Baço de <i>Chelonia mydas</i> (n = 81; CE = 10; PE = 1; ES = 30; SP = 40)						
Variável	μ (dp)	m	1° Q	3° Q	mín-máx	SI*
CCC (m)	0.408 (0.099)	0.380	0.355	0.430	0.288 – 0.942	1
As (ng/g)	1519.9 (1916.2)	793.9	259.1	1942.7	19.5 – 9042.9	1
Cd (ng/g)	880.2 (926.5)	636.3	339.4	1034.7	44.1 – 6835.3	1
Pb (ng/g)	22.0 (16.8)	19.4	10.1	30.6	0.2 – 76.8	1
Se (ng/g)	1520.5 (1397.4)	1201.6	661.3	1925.1	147.0 – 9677.8	1
Zn (ng/g)	22071.0 (10099.0)	19649.0	17265.0	22857.0	8327.0 – 67413.0	1
Hg (ng/g)	13.7 (27.1)	4.8	0.2	14.0	0.01 – 177.9	12
Rins de <i>Chelonia mydas</i> (n = 85; CE = 12; PE = 2; ES = 30; SP = 41)						
CCC (m)	0.408 (0.097)	0.380	0.355	0.430	0.288 – 0.942	1
As (ng/g)	2278.7 (2910.6)	1186.4	346.2	3114.8	39.3 – 15113.3	–
Cd (ng/g)	16760.5 (14891.8)	13515.2	8266.6	18650.4	324.4 – 101003.5	–
Pb (ng/g)	102.6 (89.3)	78.6	33.8	142.8	2.0 – 413.4	–
Se (ng/g)	1583.5 (1102.6)	1308.1	676.3	2310.8	224.0 – 4814.3	–
Zn (ng/g)	29715.0 (19279.1)	24613.0	19432.0	31659.0	2731.0 – 149444.0	–
Hg (ng/g)	80.0 (119.0)	39.8	15.7	78.1	0.5 – 611.4	8
Fígado de <i>Chelonia mydas</i> (n = 85; CE = 12; PE = 2; ES = 30; SP = 41)						
CCC(m)	0.407 (0.097)	0.380	0.355	0.429	0.288 – 0.942	2
As (ng/g)	2837.9 (3739.1)	1562.3	649.5	3788.8	179.5 – 24371.5	–
Cd (ng/g)	5341.0 (3736.7)	4478.3	2745.6	7224.0	568.3 – 20776.1	–
Pb (ng/g)	187.4 (152.1)	134.0	79.4	234.2	23.2 – 730.3	–
Se (ng/g)	3373.0 (2759.6)	2609.2	1422.6	4529.0	371.6 – 15716.0	–
Zn (ng/g)	31159.0 (11779.5)	29010.0	24400.0	35360.0	7924.0 – 79460.0	–
Hg (ng/g)	181.0 (196.6)	123.3	70.6	201.4	0.0 – 1058.0	7
Glândula de sal de <i>Chelonia mydas</i> (n = 76; CE = 8; PE = 0; ES = 29; SP = 39)						
CCC (m)	0.396 (0.075)	0.376	0.355	0.415	0.288 – 0.722	1
As (ng/g)	23164.7 (187722.2)	804.1	211.1	1979.8	25.4 – 1638036.0	–
Cd (ng/g)	962.3 (570.0)	894.3	579.9	1349.7	13.5 – 3000.4	–
Pb (ng/g)	379.6 (1534.7)	8.6	1.1	15.1	0.01 – 6834.2**	–
Se (ng/g)	1294.5 (901.7)	1151.9	604.6	1677.2	123.5 – 4965.9	–
Zn (ng/g)	14431.0 (6584.9)	12297.0	11019.0	15014.0	6895.0 – 44302.0	–
Hg (ng/g)	11.6 (21.9)	4.9	1.1	15.9	0.6 – 163.5	8
Músculo esquelético de <i>Chelonia mydas</i> (n = 86; CE = 12; PE = 2; ES = 30; SP = 42)						
CCC (m)	0.409 (0.097)	0.380	0.355	0.430	0.288 – 0.942	1
As (ng/g)	4159.3 (6290.8)	1755.9	378.8	3995.4	26.2 – 30573.4	–
Cd (ng/g)	77.5 (86.7)	54.6	26.0	96.4	0.1 – 559.8	–
Pb (ng/g)	6.1 (9.2)	1.2	1.2	7.3	0.02 – 48.1	–
Se (ng/g)	1932.7 (2421.0)	1141.6	580.0	2585.2	88.8 – 19020.2	–
Zn (ng/g)	9391.0 (4747.3)	8150.0	6025.0	11205.0	3403.0 – 27849.0	–
Hg (ng/g)	13.4 (39.1)	3.2	1.1	9.0	0.02 – 293.0	10
Osso de <i>Chelonia mydas</i> (n = 75; CE = 10; PE = 2; ES = 23; SP = 40)						
CCC(m)	0.404 (0.080)	0.386	0.356	0.429	0.288 – 0.722	1
As (ng/g)	8462.7 (12188.3)	3098.4	1521.3	11300.4	303.5 – 66810.5	–
Cd (ng/g)	127.0 (122.4)	85.9	56.7	170.3	12.1 – 832.7	–
Pb (ng/g)	664.6 (614.1)	448.9	302.6	792.2	64.1 – 3283.5	–
Se (ng/g)	830.7 (699.2)	617.8	395.3	939.2	130.3 – 3583.4	–
Zn (ng/g)	55582.0 (26083.5)	51744.0	41411.0	66558.0	13046.0 – 170505.0	–
Hg (ng/g)	10.3 (9.0)	7.4	4.2	14.5	0.02 – 43.1	–

Legenda: CE = Almofala; PE = Fernando de Noronha; ES = Vitória; SP = Ubatuba.

*SI = Sem informação. Não compreende o mesmo animal em todos os testes.

**Valores extremos de quatro tartarugas-verdes necropsiadas no ES (*outliers*).

O arsênio inorgânico e seus compostos são tóxicos. Os compostos orgânicos de As (incluindo açúcares de arsênio e arsenobetaína) ocorrem em concentrações relativamente altas em organismos marinhos (SAEKI et al., 2000), sendo comum encontrar altas concentrações nestes animais. Entretanto, a concentração de As nos tecidos de tartarugas-verdes parece não seguir uma norma. Enquanto em nosso estudo encontramos as médias 2278.7 ng/g nos rins, 2837.9 ng/g no fígado e 4159.3 ng/g no músculo esquelético, Lam et al. (2004) descreveu 6965000 ng/g nos rins; 4653000 ng/g no fígado e 14450 ng/g no músculo esquelético em animais necropsiados no sul da China e Saeki et al. (2000) encontrou, no Japão, 5720 ng/g nos rins; 1760 ng/g no fígado e 24100 ng/g no músculo esquelético. Não há outros trabalhos quantificando As em tecidos de tartarugas-verdes necropsiadas no Brasil.

O Cd teve sua maior concentração encontrada nos rins das tartarugas analisadas ($m = 13515.2$ ng/g), corroborando com os outros dois estudos realizados no Brasil, a saber: Barbieri (2009) com a configuração: rins ($\mu = 1000$ ng/g) > fígado ($\mu = 279$ ng/g), e Silva et al. (2014) apresentando o padrão rins ($\mu = 28300$ ng/g) > fígado ($\mu = 5900$ ng/g), assim como em diversos estudos com tartarugas marinhas ao redor do mundo (CAURANT et al., 1999; ANAN et al., 2001; ANDREANI et al., 2008). A Agência Internacional para Pesquisa em Câncer - *International Agency for Research on Cancer* (IARC, 1993) considera o Cd um coindutor de câncer em humanos e outros animais por diversos mecanismos diferentes, por exemplo, ele dificulta o reparo do DNA e altera proteínas supressoras de tumores. Desta forma, é sugestivo que altas concentrações de Cd também estejam envolvidas, de certa maneira, na saúde das tartarugas-verdes.

O tecido ósseo contém aproximadamente 94% da carga total de Pb no corpo (ATSDR, 2005), o que faz com que seja uma excelente matriz para pesquisas toxicológicas com este metal. Em nossos resultados, o Pb apresentou um tropismo pelo tecido ósseo, com uma configuração de médias representada por: osso (664.6 ng/g) > glândula de sal (379.6 ng/g) > fígado (187.4 ng/g) > rins (102.6 ng/g) > baço (22.0 ng/g) > músculo esquelético (6.1 ng/g). Nos trabalhos realizados por Barbieri (2009) e Silva et al. (2016), não houve pesquisa com tecido ósseo, o que nos impossibilitou a comparação com outros estudos envolvendo tartarugas marinhas na costa brasileira. Barbieri (2009) quantificou o Pb em escudos de carapaça, fígado e rins de tartarugas-verdes, contudo, descreve apenas níveis “relativamente altos em fígado e rins”. Por outro lado, os resultados de Silva et al. (2016) apresentam a configuração: rins (5400 ng/g) > fígado (4500 ng/g) > músculo esquelético (4200 ng/g). É notável a diferença das médias de concentrações de Pb entre os animais analisados no litoral sul do Brasil e aquelas aqui analisadas (entre o trópico de Capricórnio e o Equador).

A pesquisa de Pb em tartarugas-verdes também tem sido realizada em escudos da carapaça, tendo Komoroske et al. (2011) pesquisado os animais de San Diego Bay (EUA) e encontrado uma média onze vezes maior que a encontrada na análise de tecido ósseo dos animais que participaram deste estudo: $\mu = 7230 \text{ ng/g}$ ($m = 3590 \text{ ng/g}$). Sakai et al. (2000) pesquisaram a concentração de Pb em tecido ósseo e escudos de carapaça (além de outros órgãos) de tartarugas-verdes no Japão, encontrando médias de concentrações muito mais altas do que as encontradas na costa brasileira e o mesmo tropismo ósseo: osso (2400 ng/g) > escudos de carapaça (2300 ng/g) > fígado (120 ng/g) > baço (60 ng/g) > rins (30 ng/g) > glândula de sal (30 ng/g).

Em nossa análise, as concentrações médias de Se nos órgãos analisados apresentaram-se na seguinte ordem: fígado (3373.0 ng/g) > músculo esquelético (1932.7 ng/g) > rins (1583.5 ng/g) > baço (1520.0 ng/g) > glândula de sal (1294.5 ng/g) > osso (830.7 ng/g). Gordon (1998) e Aguirre et al. (1994) também relataram concentrações médias de Se maiores em fígado do que em rins (respectivamente: Austrália: 1180 ng/g > 590 ng/g e Havaí: 790 ng/g > 460 ng/g). Em contraposição, os estudos realizados na China (LAM et al., 2004) e no Japão (ANAN et al., 2001) apresentaram concentrações maiores de Se nos rins do que no fígado (respectivamente: 5893000 ng/g > 25650 ng/g e 5500 ng/g > 5100 ng/g). Entretanto, não há outros estudos com concentrações de Se em tecidos de tartarugas-verdes no Brasil para que possamos tecer comparações.

O Se é um nutriente essencial na defesa antioxidante de homens e animais, e também no metabolismo hormonal tireoidiano (ATSDR, 2003), mas pode causar problemas quando ingerido em grandes quantidades (HEINZ, 1996). Nossos resultados são mais próximos daqueles encontrados na Austrália por Gordon et al. (1998) e no Japão por Anan et al. (2001). Os resultados obtidos no Havaí por Aguirre et al. (1994) são os mais baixos já relatados e os encontrados na China por Lam et al. (2004), os mais altos, o que sugere que os animais das águas do sul da China estão mais expostos a esse elemento.

O Zn tem sido relatado como o mais abundante elemento químico em tecidos de tartarugas marinhas (JEREZ et al., 2010; LEY-QUIÑONEZ et al., 2011; CAMACHO et al., 2013) e nossos resultados são consistentes com esta afirmação (maiores medianas em todos os órgãos), apresentando a maior bioacumulação no tecido ósseo, seguido pelo fígado e, em menor quantidade, no músculo esquelético (respectivamente: $\mu = 55582.0 \text{ ng/g}$, $m = 51744.0 \text{ ng/g}$; $\mu = 31159.0 \text{ ng/g}$, $m = 29010.0 \text{ ng/g}$ e $\mu = 9391.0 \text{ ng/g}$, $m = 51744.0 \text{ ng/g}$).

Estes resultados se contrapõem àqueles apresentados por Silva et al. (2016), que encontrou maiores médias de concentrações em rins do que em fígado: rins > fígado >

músculo esquelético (médias respectivas: 16600 ng/g; 5400 ng/g e 4500 ng/g). Ademais, a concentração de Zn relatada naquele estado (RS) foi muito menor que a encontrada nos estados mais ao norte (SP, ES, PE e CE – vide Tabela 16).

Extrapolando para estudos realizados em outras regiões do mundo, Lam et al. (2004) encontrou níveis médios de Zn em fígado de tartarugas-verdes capturadas no sul da China muito mais altos (128900 ng/g) do que os dos animais analisados no Japão (87200 ng/g) por Anan et al. (2001) e na Austrália (39700 ng/g) por Gordon et al. Pode-se observar que as médias encontradas nos trabalhos aqui relatados são mais altas que as por nós descritas, sugerindo que os animais que se alimentam na costa brasileira são expostos a concentrações menores de Zn do que aqueles que se alimentam no Oceano Pacífico.

Segundo a *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* – ATSDR, o Hg pode ser encontrado em diferentes formas químicas, sendo o metil-mercúrio (metil-Hg⁻) a forma mais tóxica e, embora os compostos inorgânicos de Hg (Hg⁺ e Hg₂⁺) sejam menos tóxicos, estes podem ser metilados por bactérias. Assim, mesmo compostos inertes de Hg, quando lançados no meio ambiente, podem ser transformados em Hg orgânico pela ação das bactérias, na interface coluna d'água/sedimento ou em interstícios de solo. Na cadeia trófica, algas, moluscos e peixes podem concentrar até dez vezes a quantidade de Hg inicial. Ainda, a exposição a níveis elevados de Hg pode levar a problemas neurológicos, cardíacos, renais, pulmonares e imunológicos em seres humanos (ATSDR, 1999).

Nossos resultados demonstraram uma acumulação maior de Hg no fígado das tartarugas-verdes. A descrição de médias encontradas nos órgãos/tecidos analisados pode ser representada por: fígado > rins > baço > glândula de sal > músculo esquelético > osso. Esse tropismo do Hg pelo fígado também é descrito por Gordon et al. (1998); Anan et al. (2001) e Lam et al. (2004). Por outro lado, Aguirre et al. (1994) analisou o fígado de tartarugas-verdes do Havaí com resultados abaixo do limite de detecção do método utilizado (ICP).

9.2 CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS QUÍMICOS DETECTADOS NOS TECIDOS DAS TARTARUGAS-VERDES AMOSTRADAS POR LOCALIDADE NO BRASIL

Os resultados obtidos dos seis elementos químicos analisados são apresentados por localidade (estados do Ceará, Espírito Santo e São Paulo) na Tabela 17, em forma de média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro (1° Q) e terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx).

Como no estado de Pernambuco (representado por Fernando de Noronha) houve apenas dois animais necropsiados, o que impossibilitou a análise estatística, os resultados individuais obtidos nesse estado são apresentados separadamente, na Tabela 18.

Tabela 17 - Média (μ), desvio-padrão (dp), mediana (m), primeiro quartil (1° Q) e terceiro quartil (3° Q), mínimo (mín) e máximo (máx) dos seis elementos químicos (Arsênio – As; Cádmio – Cd; Chumbo – Pb; Selênio – Se; Zinco – Zn e Mercúrio – Hg) analisados em tecidos de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) nos estados de Ceará (CE), Espírito Santo (ES) e São Paulo (SP)

(Continua)							
Elemento	Local	Tecido	μ (dp)	m (mín – máx)	1° Q	3° Q	N
As (ng/g)	CE	Baço	881.4 (745.9)	792.9 (19.5 – 2207.0)	223.2	1450.5	10
	ES	Baço	1685.3 (2447.5)	450.9 (19.5 – 2207.0)	194.3	2064.6	30
	SP	Baço	1577.8 (1693.1)	974.1 (142.9 – 6931.2)	381.5	2213.0	40
As (ng/g)	CE	Rins	2503.3 (2278.8)	1961.6 (39.3 – 6842.9)	886.1	3208.0	12
	ES	Rins	2386.8 (3635.7)	746.6 (102.5 – 15113.3)	191.5	3167.2	30
	SP	Rins	2206.9 (2672.4)	1186.4 (150.6 – 12505.4)	428.1	2614.1	41
As (ng/g)	CE	Fígado	2975.4 (3031.7)	2456.1 (179.7 – 10567.2)	823.5	3065.7	12
	ES	Fígado	3052.4 (5007.3)	1132.3 (179.5 – 24371.5)	535.8	3581.1	30
	SP	Fígado	2719.5 (2909.4)	1601.7 (241.9 – 14665.5)	723.4	3841.4	41
As (ng/g)	CE	Gl. sal	206310.9 (578506.8)	1573.9 (25.4 – 1638036.0)	393.9	4280.6	8
	ES	Gl. sal	1714.1 (2830.5)	431.5 (28.1 – 12512.6)	111.6	1887.4	29
	SP	Gl. sal	1546.7 (1967.7)	844.0 (76.9 – 8556.8)	336.2	1805.2	39
As (ng/g)	CE	M. esq.	5497.1 (6181.5)	3633.5 (26.2 – 20724.2)	1205.3	7494.3	12
	ES	M. esq.	4482.4 (7301.7)	1068.7 (54.7 – 2519.9)	196.0	3112.7	30
	SP	M. esq.	3648.0 (5731.4)	1721.0 (139.0 – 30573.0)	533.0	3759.0	42

(Continuação)							
Elemento	Local	Tecido	μ (dp)	m (mín – máx)	1º Q	3º Q	N
As (ng/g)	CE	Osso	6581.2 (6076.2)	2931.7 (765.2 – 16570.5)	2229.3	11819.7	10
	ES	Osso	2947.7 (4152.6)	1122.1 (303.5 – 17299.2)	688.1	3089.8	23
	SP	Osso	11976.0 (15224.4)	8460.0 (802.0 – 66811.0)	2027.0	12881.0	40
Cd (ng/g)	CE	Baço	1141.0 (1162.6)	655.3 (65.5 – 2897.7)	216.2	2263.7	10
	ES	Baço	915.1 (1267.7)	555.0 (44.1 – 6835.3)	337.0	877.6	30
	SP	Baço	808.9 (484.3)	671.5 (128.7 – 1984.5)	440.5	1063.7	40
Cd (ng/g)	CE	Rins	17248.9 (20805.0)	11449.2 (324.4 – 74143.1)	7218.5	14695.1	12
	ES	Rins	13449.0 (6937.0)	12743.0 (2399.0 – 27799.0)	8184.0	18226.0	30
	SP	Rins	19521.0 (17041.2)	15861.0 (3655.0 – 101004.0)	10632.0	21321.0	41
Cd (ng/g)	CE	Fígado	6408.4 (6013.8)	4474.2 (752.6 – 20776.1)	2528.4	8549.3	12
	ES	Fígado	3991.0 (2261.8)	3591.0 (1051.0 – 8637.0)	2252.0	5609.0	30
	SP	Fígado	5966.2 (3574.2)	5025.4 (568.3 – 16716.4)	3696.2	7582.6	41
Cd (ng/g)	CE	Gl. sal	1049.1 (682.9)	908.8 (202.6 – 2172.4)	581.0	1495.7	8
	ES	Gl. sal	910.0 (431.3)	868.3 (139.1 – 1849.5)	658.4	1250.1	29
	SP	Gl. sal	983.5 (643.6)	1059.0 (13.5 – 3000.4)	567.0	1436.8	39
Cd (ng/g)	CE	M. esq.	65.7 (52.8)	66.6 (0.1 – 165.0)	22.8	99.6	12
	ES	M. esq.	74.8 (91.0)	30.9 (8.9 – 427.2)	24.8	95.3	30
	SP	M. esq.	72.8 (55.9)	59.9 (14.5 – 235.8)	30.7	85.7	42
Cd (ng/g)	CE	Osso	84.9 (73.7)	56.9 (12.2 – 221.4)	26.2	126.2	10
	ES	Osso	111.8 (64.8)	103.3 (12.1 – 238.8)	59.9	167.6	23
	SP	Osso	145.2 (151.8)	80.1 (18.4 – 832.7)	62.3	175.9	40
Pb (ng/g)	CE	Baço	23.4 (14.9)	20.0 (5.6 – 61.4)	18.1	21.5	10
	ES	Baço	19.9 (11.2)	19.0 (0.2 – 47.5)	13.3	28.7	30
	SP	Baço	22.9 (20.6)	18.7 (0.5 – 76.8)	6.6	35.6	40
Pb (ng/g)	CE	Rins	71.6 (72.1)	46.4 (2.0 – 270.7)	29.5	88.6	12
	ES	Rins	115.1 (83.9)	96.4 (11.4 – 383.7)	56.9	156.7	30
	SP	Rins	103.1 (98.5)	76.4 (8.0 – 413.4)	27.0	146.5	41

(Continuação)							
Elemento	Local	Tecido	μ (dp)	m (mín – máx)	1° Q	3° Q	N
Pb (ng/g)	CE	Fígado	223.2 (215.8)	172.4 (23.2 – 730.3)	51.7	336.2	12
	ES	Fígado	153.8 (117.9)	126.3 (32.5 – 506.5)	70.9	192.1	30
	SP	Fígado	196.7 (145.9)	146.7 (24.2 – 680.7)	98.9	233.9	41
Pb (ng/g)	CE	Gl. sal	114.8 (308.2)	4.3 (0.01 – 877.4)	2.2	12.8	8
	ES	Gl. sal	952.4 (2394.4)	11.6 (0.02 – 6834.2)*	4.3	22.5	29
	SP	Gl. sal	8.0 (7.3)	5.7 (0.02 – 27.7)	1.1	13.4	39
Pb (ng/g)	CE	M. esq.	8.9 (11.3)	4.1 (0.02 – 33.6)	0.02	15.3	12
	ES	M. esq.	5.5 (7.9)	1.8 (0.02 – 27.8)	1.1	5.8	30
	SP	M. esq.	4.4 (6.8)	1.1 (0.02 – 28.4)	1.1	3.8	42
Pb (ng/g)	CE	Osso	1069.3 (1132.9)	667.2 (168.0 – 3283.5)	250.0	1300.2	10
	ES	Osso	608.2 (474.4)	449.3 (127.5 – 2063.9)	323.3	838.5	23
	SP	Osso	605.4 (491.1)	427.7 (64.1 – 2525.5)	304.8	751.0	40
Se (ng/g)	CE	Baço	1270.1 (1165.5)	952.1 (268.6 – 4196.9)	565.0	1374.6	10
	ES	Baço	1572.5 (1930.4)	1065.2 (147.0 – 9677.8)	413.1	1796.1	30
	SP	Baço	1461.1 (808.1)	1400.9 (217.0 – 3730.2)	934.5	1925.1	40
Se (ng/g)	CE	Rins	2039.6 (1417.3)	2049.8 (224.0 – 4814.3)	851.0	2714.2	12
	ES	Rins	1474.1 (1179.8)	1163.6 (224.0 – 4055.0)	536.6	2162.7	30
	SP	Rins	1494.9 (855.5)	1226.6 (224.1 – 3268.6)	854.2	2084.3	41
Se (ng/g)	CE	Fígado	4148.2 (3209.4)	3637.3 (668.9 – 9301.7)	1039.8	6382.9	12
	ES	Fígado	2474.6 (1654.9)	2185.6 (462.4 – 7993.6)	1233.5	3274.0	30
	SP	Fígado	3543.2 (2545.7)	2893.3 (371.6 – 12815.7)	1811.3	4604.4	41
Se (ng/g)	CE	Gl. sal	1508.6 (1078.9)	1390.4 (288.1 – 3771.7)	967.3	1717.6	8
	ES	Gl. sal	1206.3 (1069.9)	812.9 (123.5 – 4965.9)	577.9	1630.7	29
	SP	Gl. sal	1316.2 (728.4)	1234.5 (139.7 – 3553.1)	857.2	1679.1	39
Se (ng/g)	CE	M. esq.	3967.0 (5362.2)	1549.8 (222.7 – 19020.2)	456.3	5499.3	12
	ES	M. esq.	1424.1 (1346.2)	1097.7 (200.6 – 5907.3)	397.9	1896.4	30
	SP	M. esq.	1699.3 (1232.3)	1412.1 (88.8 – 4757.1)	765.2	2587.1	42

(Continuação)							
Elemento	Local	Tecido	μ (dp)	m (mín – máx)	1º Q	3º Q	N
Se (ng/g)	CE	Osso	1001.5 (638.1)	770.4 (282.3 – 2242.5)	531.8	1372.7	10
	ES	Osso	985.7 (841.6)	754.6 (189.9 – 3583.4)	400.5	1380.7	23
	SP	Osso	697.0 (611.5)	587.3 (130.3 – 2750.2)	358.5	761.1	40
Zn (ng/g)	CE	Baço	29668.0 (16890.5)	22036.0 (8327.0 – 58727.0)	20476.0	40523.0	10
	ES	Baço	22566.0 (12222.8)	19093.0 (11964.0 – 67413.0)	16548.0	22845.0	30
	SP	Baço	19810.0 (3643.8)	18788.0 (13707.0 – 30148.0)	17722.0	22221.0	40
Zn (ng/g)	CE	Rins	30178.0 (19313.5)	24633.0 (2731.0 – 61144.0)	17150.0	44154.0	12
	ES	Rins	28650.0 (16537.6)	23635.0 (15321.0 – 87592.0)	18278.0	31417.0	30
	SP	Rins	30818.0 (21747.7)	26877.0 (13236.0–149444.0)	20599.0	31116.0	41
Zn (ng/g)	CE	Fígado	29541.0 (14093.0)	31013.0 (668.9 – 9301.7)	16690.0	34749.0	12
	ES	Fígado	28707.0 (10208.0)	25905.0 (14435.0 – 53222.0)	22203.0	33157.0	30
	SP	Fígado	33279.0 (12283.6)	29653.0 (7924.0 – 79460.0)	26546.0	38308.0	41
Zn (ng/g)	CE	Gl. sal	11870.0 (2081.7)	1171.6 (7805.0 – 14675.0)	11287.0	13105.0	8
	ES	Gl. sal	13844.0 (7482.5)	12033.0 (6895.0 – 44302.0)	11032.0	13875.0	29
	SP	Gl. sal	15392.0 (6398.1)	12593.0 (8094.0 – 37626.0)	11038.0	19832.0	39
Zn (ng/g)	CE	M. esq.	8003.0 (2068.6)	7162.0 (5499.0 – 10995.0)	6618.0	10110.0	12
	ES	M. esq.	8999.0 (5667.0)	7211.0 (4145.0 – 27849.0)	5333.0	10529.0	30
	SP	M. esq.	9756.0 (4070.4)	8520.0 (3403.0 – 20985.0)	6951.0	12073.0	42
Zn (ng/g)	CE	Osso	51329.0 (11118.6)	49923.0 (32678.0 – 70710.0)	46131.0	54584.0	10
	ES	Osso	56322.0 (27845.0)	53419.0 (13046.0 – 143663.0)	39437.0	70980.0	23
	SP	Osso	57311.0 (28088.6)	51516.0 (24570.0 – 170505.0)	40013.0	66844.0	40
Hg (ng/g)	CE	Baço	41.2 (59.9)	9.2 (0.01 – 177.9)	4.9	70.0	10
	ES	Baço	6.7 (13.1)	1.6 (0.2 – 58.0)	0.2	4.5	30
	SP	Baço	9.1 (9.3)	7.0 (0.05 – 43.9)	1.2	13.4	40
Hg (ng/g)	CE	Rins	238.9 (215.4)	209.4 (8.4 – 611.4)	50.4	355.2	12
	ES	Rins	43.1 (36.3)	26.0 (1.9 – 115.5)	13.8	70.3	30
	SP	Rins	54.4 (65.6)	37.7 (1.1 – 333.8)	16.8	58.1	41
Hg (ng/g)	CE	Fígado	422.1 (322.8)	292.1 (42.0 – 1058.0)	172.0	549.6	12
	ES	Fígado	104.7 (76.5)	88.4 (19.0 – 349.6)	58.7	128.2	30
	SP	Fígado	144.2 (114.2)	120.6 (0.0 – 522.7)	72.5	169.7	41

(Conclusão)

Elemento	Local	Tecido	μ (dp)	m (mín – máx)	1º Q	3º Q	N
Hg (ng/g)	CE	Gl. sal	32.0 (53.6)	15.6 (3.6 – 163.5)	8.2	21.5	8
	ES	Gl. sal	8.3 (13.2)	1.3 (0.8 – 52.3)	1.1	8.0	29
	SP	Gl. sal	9.2 (10.9)	5.8 (0.6 – 51.2)	1.1	13.7	39
Hg (ng/g)	CE	M. esq.	27.9 (48.9)	4.6 (1.1 – 139.5)	1.2	22.1	12
	ES	M. esq.	6.9 (9.2)	1.5 (1.1 – 30.5)	1.1	8.4	30
	SP	M. esq.	6.0 (8.5)	3.3 (0.02 – 47.5)	1.1	7.9	42
Hg (ng/g)	CE	Osso	19.2 (13.3)	12.8 (6.6 – 43.1)	9.9	30	10
	ES	Osso	11.4 (7.4)	9.1 (2.7 – 30.9)	5.4	16.9	23
	SP	Osso	7.0 (6.1)	5.0 (0.2 – 25.6)	3.4	8.6	40

Legenda: n = número de amostras analisadas.

Tabela 18 - Resultados obtidos nas duas necropsias de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) realizadas no estado de Pernambuco (Fernando de Noronha)

Identificação	CCC (m)	As (ng/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Se (ng/g)	Zn (ng/g)	Hg (ng/g)
Necro 01	Baço	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Rins	0.335	307.0	9879.3	139.4	550.3	18712.8
	Fígado	0.335	965.6	10197.5	522.7	1699.3	33458.5
	Gl. sal	0.355	NA	NA	NA	NA	NA
	M. esq.	0.355	310.6	559.8	48.1	361.3	24275.5
	Osso	0.335	1177.2	271.3	665.9	240.7	25370.5
Necro 02	Baço	0.615	794.3	116.3	28.9	4894.4	22144.1
	Rins	0.615	1258.1	3963.3	41.8	4061.0	21912.0
	Fígado	0.615	1477.3	2557.0	51.6	15716.0	34164.7
	Gl. sal	0.615	NA	NA	NA	NA	NA
	M. esq.	0.615	3715.3	15.4	18.0	4148.7	7647.1
	Osso	0.615	10863.3	21.6	283.1	1491.0	42154.3

Legenda: NA = Não analisado.

Em cinco das nove análises realizadas para Hg em órgãos provenientes de animais de PE foram encontrados valores acima das médias nacionais (Necro 02 Baço, Necro 02 Rins, Necro 02 Fígado, Necro 02 Músculo esquelético e Necro 02 Osso). Igualmente, em cinco das nove análises realizadas para Pb verificamos valores acima das médias nacionais (Necro 01 Rins, Necro 01 Fígado, Necro 01 Músculo esquelético, Necro 02 Baço, Necro 02 Músculo esquelético) (vide Tabela 3).

Esses resultados, ainda que únicos, são motivos de preocupação com a saúde dos animais que se alimentam em Fernando de Noronha. A identificação da fonte de contaminação e os efeitos deletérios que esses metais podem causar em tartarugas-verdes são

uma necessidade iminente, levando-se conta que essa é uma área importante de preservação da espécie.

9.3 BIOACUMULAÇÃO E CORRELAÇÕES ENTRE OS ELEMENTOS TESTADOS

A Tabela 19 apresenta as comparações realizadas (teste de Kruskal-Wallis), admitindo um erro máximo de 5% ($p < 0,05$) para verificar a bioacumulação dos elementos químicos testados por órgão/tecido.

Tabela 19 - Bioacumulação dos elementos testados em cada órgão/tecido de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) provenientes da costa brasileira

(Continua)		
Elemento	Valor de p	Medianas (ng/g)
As	< 0.01	Baço: 793.9
		Fígado: 1562.3
		Gl. de sal: 804.1
		M. esq.: 1755.9
		Osso: 3098.4
Cd	< 0.01	Rins: 1186.4
		Baço: 636.3
		Fígado: 4478.3
		Gl. de sal: 894.3
		M. esq.: 54.6
Pb	< 0.01	Osso: 85.9
		Rins: 13515.2
		Baço: 19.4
		Fígado: 134.0
		Gl. de sal: 8.6
Se	< 0.01	M. esq.: 1.1
		Osso: 448.9
		Rins: 78.6
		Baço: 1201.6
		Fígado: 2609.2
Zn	< 0.01	Gl. de sal: 1151.9
		M. esq.: 1141.6
		Osso: 617.8
		Rins: 1308.1
		Baço: 19648.7
		Fígado: 29010.4
		Gl. de sal: 12297.0
		M. esq.: 8149.5
		Osso: 51744.3
		Rins: 24613.0

(Conclusão)		
Elemento	Valor de p	Medianas (ng/g)
Hg	< 0.01	Baço: 4.8
		Fígado: 123.3
		Gl. de sal: 5.0
		M. esq.: 3.2
		Osso: 7.4
		Rins: 39.8

Como relatado anteriormente, nossos dados não aderiram à curva normal e, portanto, os resultados apresentados em forma de mediana são mais acurados com relação à bioacumulação nos animais pertencentes a este trabalho.

As Figuras 14 a 19 apresentam graficamente os resultados obtidos para bioacumulação de cada órgão/tecido, segundo o teste de Kruskal-Wallis (m). Desta forma, o padrão de bioacumulação de cada elemento aqui representado difere um pouco daquele apresentado quando comparamos nossos resultados em médias com estudos realizados em outras localidades pelo mundo.

Figura 14 - Bioacumulação de Arsênio (As) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira.

Legenda: FG = fígado; GLSAL = glândula de sal; MESQ = músculo esquelético.

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 15 - Bioacumulação de Cádmio (Cd) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira

Legenda: FG = fígado; GLSAL = glândula de sal; MESQ = músculo esquelético.

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 16 - Bioacumulação de Chumbo (Pb) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira.

Legenda: FG = fígado; GLSAL = glândula de sal; MESQ = músculo esquelético.

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 17 - Bioacumulação de Selênio (Se) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira

Legenda: FG = fígado; GLSAL = glândula de sal; MESQ = músculo esquelético.

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 18 - Bioacumulação de Zinco (Zn) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira

Legenda: FG = fígado, GLSAL = glândula de sal, MESQ = músculo esquelético.

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

Figura 19 - Bioacumulação de Mercúrio (Hg) em órgãos de tartarugas-verdes capturadas na costa brasileira.

Legenda: FG = fígado, GLSAL = glândula de sal, MESQ = músculo esquelético.

Nota: Letras diferentes significam diferenças entre os grupos ($p < 0,05$).

O Quadro 2 apresenta o padrão de bioacumulação dos seis elementos em todos os órgãos testados, em ordem decrescente.

Quadro 2 - Padrão de bioacumulação de As, Cd, Pb, Se, Zn e Hg em órgãos de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no litoral brasileiro

	As	Cd	Pb	Se	Zn	Hg
↓ Concentração decrescente	Osso ^a	Rim ^a	Osso ^a	Fígado ^a	Osso ^a	Fígado ^a
	Músculo ^{b,c}	Fígado ^b	Fígado ^b	Rim ^b	Fígado ^b	Rim ^b
	Fígado ^b	Glândula de sal ^c	Rim ^b	Baço ^b	Rim ^{b,c}	Osso ^c
	Rim ^{b,c}	Baço ^c	Baço ^c	Glândula de sal ^b	Baço ^c	Glândula de sal ^c
	Glândula de sal ^c	Osso ^d	Glândula de sal ^{c,d}	Músculo ^b	Glândula de sal ^d	Baço ^c
	Baço ^c	Músculo ^d	Músculo ^c	Osso ^c	Músculo ^e	Músculo ^c

Nota: Letras iguais denotam valores semelhantes dentro de cada coluna.

Os resultados apresentados no Quadro 2 sugerem a melhor matriz para cada elemento

químico em tecidos de tartarugas-verdes na costa brasileira: tecido ósseo para As, Pb e Zn; fígado para Se e Hg; rins para Cd.

Como a maioria dos dados obtidos nas quatro localidades brasileiras não aderiu à distribuição normal dos dados, foi utilizado o teste de Spearman (ρ) (não paramétrico) para identificar as correlações entre os elementos analisados. Correlações positivas significam uma relação monotônica entre os elementos testados (aumentam ou diminuem simultaneamente, mas não necessariamente à mesma taxa). As análises foram realizadas 1- entre os animais das 4 localidades (Brasil) e 2- dos estados de Espírito Santo e São Paulo, cujo “n” amostral foi substancial. As correlações encontradas estão descritas a seguir e apresentadas na íntegra no Anexo B.

- Se $\times$ As: Fortes correlações positivas em todos os órgãos quando analisadas todas as amostras (Brasil) e no Espírito Santo. Em São Paulo, a correlação foi forte em fígado e rins, moderada em baço, glândula de sal e músculo esquelético, e não foi observada em tecido ósseo.
- Cd $\times$ Hg: Forte correlação positiva em baço, fígado e rins no Espírito Santo, e no fígado dos animais de São Paulo.
- Se $\times$ Cd: Apresentaram moderadas correlações positivas em baço, glândula de sal e fígado no Espírito Santo, São Paulo e Brasil.
- Se $\times$ Hg: Foram observadas fortes correlações positivas em baço e glândula de sal dos animais provenientes do Espírito Santo, e fígado, glândula de sal e rins dos animais de São Paulo.
- As $\times$ Cd: Apresentaram correlações moderadas em baço, fígado, glândula de sal e músculo do Espírito Santo, e apenas em tecido ósseo de São Paulo. No Brasil, apresentou moderada correlação em baço e fígado.
- As $\times$ Hg: Fortes correlações positivas foram observadas em fígado, glândula de sal e rins do Espírito Santo e moderadas correlações positivas em baço, glândula de sal, músculo e rins de São Paulo.
- Pb $\times$ Hg: Apresentou forte correlação negativa em baço de São Paulo, e moderada correlação negativa em rins do Espírito Santo, São Paulo e Brasil.

9.4 PREVALÊNCIA DA FIBROPAPILOMATOSE (FP) NOS ANIMAIS AVALIADOS

Enfim, analisamos se os animais positivos para fibropapilomatose (FP) também apresentavam alguma correlação com um ou mais elementos químicos testados. Inicialmente, demonstramos a distribuição da FP por área de estudo na Figura 20.

Figura 20 - Distribuição das tartarugas-verdes analisadas quanto à presença ou ausência de fibropapilomatose (FP)

Nota: ausência = FP-; presença = FP+.

Utilizando o teste U de Mann-Whitney (medianas), comparamos o tamanho das tartarugas-verdes analisadas e a presença ou ausência da FP, concluindo que o tamanho dos animais FP- é menor que os animais FP+ ($p < 0,01$). Esta constatação confirma nossa hipótese de que os animais chegam à costa brasileira saudáveis (menor CCC encontrado = 0,288m) e passam a desenvolver a FP já em águas continentais.

FP- (CCC = 0,373) < FP+ (CCC = 0,414)

Finalmente, aplicamos o teste U de Mann-Whitney para avaliar as concentrações de cada um dos seis elementos químicos quantificados e a presença ou ausência de FP. Pelo fato de o número amostral dos estados de Espírito Santo e São Paulo serem mais consistentes, testamos também se havia diferenças entre as duas populações. Os resultados são apresentados nas Tabelas 20, 21, 21b, 22, 23, 24, 24b e 25 (21b e 24b são desdobramentos das Tabelas 21 e 24).

Tabela 20 - Comparação da concentração dos elementos testados no baço de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com ou sem sinais clínicos de FP (FP- e FP+), necropsiadas na costa brasileira

Elemento/órgão ou tecido	Valor de <i>p</i>	Resultado
As/Baço	0,01	FP- (956.9) > FP+ (222.0)
Se/Baço	0,01	FP- (1400.7) > FP+ (740.4)

Não houve diferenças entre os animais de Espírito Santo e São Paulo.

Tabela 21 - Comparação da concentração dos elementos testados no fígado de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com ou sem sinais clínicos de FP (FP- e FP+), necropsiadas na costa brasileira

Elemento/órgão ou tecido	Valor de <i>p</i>	Resultado
As/Fígado	< 0,01	FP- (2000.8) > FP+ (575.7)
Se/Fígado	< 0,01	FP- (3129.9) > FP+ (1547.2)
Pb/Fígado	< 0,01	FP- (118.6) < FP+ (284.6)

Tabela 21b. Comparação da concentração dos elementos testados no fígado de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com ou sem sinais clínicos de FP (FP- e FP+), necropsiadas no Espírito Santo e São Paulo

Elemento/órgão ou tecido	Valor de <i>p</i>	Resultado
Cd/Fígado	0,01	ES (3591.1) < SP (5025.4)
Zn/Fígado	0,04	ES (25904.7) < SP (29652.6)

Houve diferenças entre os animais de Espírito Santo e São Paulo quanto aos elementos Zn e Cd.

Tabela 22 - Comparação da concentração dos elementos testados na glândula de sal de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com ou sem sinais clínicos de FP (FP- e FP+), necropsiadas na costa brasileira

Elemento/órgão ou tecido	Valor de <i>p</i>	Resultado
As/Gl. de sal	< 0,01	FP- (1382.7) > FP+ (114.0)
Cd/Gl. de sal	0,04	FP- (1014.3) > FP+ (695.1)
Se/Gl. de sal	< 0,01	FP- (1255.1) > FP+ (484.4)
Hg/Gl. de sal	0,03	FP- (6.6) > FP+ (1.1)

Não houve diferenças entre os animais de Espírito Santo e São Paulo.

Tabela 23 - Comparação da concentração dos elementos testados no músculo esquelético de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com ou sem sinais clínicos de FP (FP- e FP+), necropsiadas na costa brasileira

Elemento/órgão ou tecido	Valor de <i>p</i>	Resultado
Se/M. esquelético	< 0,01	FP- (1535.0) > FP+ (361.5)
Hg/M. esquelético	0,01	FP- (5.6) > FP+ (1.1)

Não houve diferenças entre os animais de Espírito Santo e São Paulo.

Tabela 24 - Comparação da concentração dos elementos testados no tecido ósseo de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com ou sem sinais clínicos de FP (FP- e FP+), necropsiadas na costa brasileira.

Elemento/órgão ou tecido	Valor de <i>p</i>	Resultado
Se/Osso	0,02	FP- (670.6) > FP+ (353.6)
Pb/Osso	< 0,01	FP- (378.5) < FP+ (873.4)

Tabela 24b - Comparação da concentração dos elementos testados no tecido ósseo de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com ou sem sinais clínicos de FP (FP- e FP+), necropsiadas no Espírito Santo e São Paulo

Elemento/órgão ou tecido	Valor de <i>p</i>	Resultado
As/Osso	< 0,01	ES (1122.1) < SP (8459.7)
Hg/Osso	0,01	ES (9.1) > SP (5.0)

Houve diferenças entre os animais de Espírito Santo e São Paulo quanto aos elementos As e Hg.

Tabela 25 - Comparação da concentração dos elementos testados nos rins de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com ou sem sinais clínicos de FP (FP- e FP+), necropsiadas na costa brasileira

Elemento/órgão ou tecido	Valor de <i>p</i>	Resultado
As/Rins	< 0,01	FP- (1863.4) > FP+ (208.8)
Se/Rins	< 0,01	FP- (1658.6) > FP+ (529.5)
Pb/Rins	0,01	FP- (70.3) < FP+ (129.4)

Não houve diferenças entre os animais de Espírito Santo e São Paulo.

As tartarugas-verdes acometidas por FP apresentaram, em todos os órgãos analisados, índices de Se menores do que aquelas não acometidas pela doença. Observação semelhante para o As, cujos índices foram menores no baço, fígado, glândula de sal e rins das tartarugas-verdes com FP.

A relação entre As e Se já é conhecida e ambas são consideradas anticarcinogênicas e carcinogênicas ao mesmo tempo (SUN et al., 2014). Esses dois metalóides podem interagir entre si, formando um complexo As-Se que é excretado via biliar. Entretanto, estudos recentes

demonstram que a formação do composto As-Se é concentração-dependente, ou seja, em baixas concentrações, o Se é capaz de se combinar com o As e ambos são excretados, diminuindo a toxicidade dos dois. Mas, em altas concentrações, o Se suprime a metilação do As e, conseqüentemente, a formação do composto As-Se, resultando em maior retenção de As e causando maior toxicidade.

Nossos resultados demonstraram que o tecido ósseo das tartarugas-verdes é o maior depósito de Pb, assim como em humanos e em outros vertebrados. Também observamos que tartarugas-verdes com FP apresentam maior concentração de Pb em fígado, rins e ossos. Silva et al. (2016) encontrou uma correlação positiva entre o estresse oxidativo e a concentração de Pb em tartarugas-verdes com FP, o que corrobora com nossos achados e sugere uma participação deste elemento químico no desenvolvimento da doença.

O maior depósito de Hg ocorreu no fígado das tartarugas-verdes analisadas, mas os testes estatísticos não mostraram uma relação entre essa bioacumulação e a presença de FP. Como os maiores níveis de contaminação por Hg foram detectados no estado com menor número de amostras (Ceará), especulamos que esse metal tóxico também possa estar envolvido de alguma forma com a saúde das tartarugas-verdes, mas o baixo número amostral pode ter influenciado os resultados estatísticos.

10 CONCLUSÕES

Os padrões de concentração de elementos químicos em tecidos de tartarugas-verdes parecem flutuar muito dependendo da região geográfica onde elas se alimentam. Os resultados comparados entre as médias dos animais analisados em águas brasileiras e aqueles analisados no Oceano Pacífico são o melhor exemplo desta afirmação, nos levando a admitir que estes animais possam ser excelentes biomarcadores da qualidade da água na região onde estão se alimentando. Mesmo considerando os animais necropsiados na costa brasileira, diferenças regionais são grandes, como a diferença das médias de concentrações de Pb entre os animais analisados no litoral sul do Brasil (SILVA et al., 2016) e aqueles analisados em águas tropicais e subtropicais (este estudo).

O As parece não seguir um padrão de bioacumulação nos diferentes tecidos. Nossos resultados, quando comparados com outros obtidos em diferentes locais, são bastante diferentes quanto à bioacumulação do As. Isto pode se dar pela metodologia na coleta das amostras ou na análise das mesmas; pela existência de diferentes caminhos pelos quais este elemento pode se bioacumular no tecido das tartarugas-verdes, dependendo da forma de contaminação (ingestão, inalação ou outros) ou, ainda, do composto arsênico ao qual os animais estão sendo expostos (i.e., compostos orgânicos ou inorgânicos).

Em tartarugas-verdes necropsiadas, a melhor matriz para pesquisa de Cd é o tecido renal. Em nossos achados, assim como em outros relatos ao redor do mundo, as maiores concentrações deste elemento são encontradas nos rins. Esta constatação condiz com a organotropia que o Cd apresenta em humanos e outros animais vertebrados.

Nenhum filhote (CCC < 29,9 cm) necropsiado neste trabalho apresentou sinais clínicos de FP. A média de tamanho de carapaça dos animais positivos para a doença foi de 0,414 m, confirmando relatos anteriores de que estes animais chegam à costa brasileira saudáveis e só então desenvolvem – ou não – a FP.

Tartarugas-verdes com FP na costa brasileira apresentam maior concentração de Pb em fígado, rins e ossos, o que sugere uma participação deste elemento químico no desenvolvimento da doença. O Pb já foi relacionado com a inibição da glutathione peroxidase e do ácido δ -aminolevulínico-desidratase, dois biomarcadores de estresse oxidativo, podendo ser, estes, alguns dos caminhos pelos quais o chumbo está se relacionando com esta afecção.

Tartarugas-verdes da costa brasileira com sinais clínicos de FP apresentam menores concentrações de Se em todos os órgãos analisados. Este elemento essencial é constituinte de mais de vinte selenoproteínas com ações importantes no trato reprodutivo, metabolismo da glândula tireoide, síntese de DNA e proteção contra danos oxidativos e infecções. A falta de valores de referência em tartarugas-verdes não nos permite concluir se estes resultados representam uma deficiência, mas podemos sugerir que esta diminuição está envolvida, de alguma forma, no surgimento/desenvolvimento da doença.

O Zn é um dos mais abundantes dos elementos testados em tecidos de tartarugas-verdes na costa brasileira. Este resultado é consistente com outros trabalhos realizados com tartarugas marinhas de diferentes localidades em todo o globo terrestre (ANAN et al., 2001; LAM et al., 2004; CAMACHO et al., 2013).

O Hg apresentou um tropismo pelo fígado com uma concentração mediana de 123.3 ng/g para as tartarugas-verdes necropsiadas na costa brasileira. Determinar níveis seguros de exposição ao Hg não é fácil, visto que não há níveis seguros de exposição descrito nem aos humanos. Em nossa análise estatística, também não foi observada uma correlação entre as concentrações de Hg e a presença da FP.

Este estudo apresenta as melhores matrizes para a pesquisa de As, Cd, Pb, Se, Zn e Hg em tecidos de tartarugas-verdes na costa brasileira: tecido ósseo para As, Pb e Zn; fígado para Se e Hg; rins para Cd.

Das correlações entre os elementos químicos inorgânicos testados a mais importante foi a correlação positiva entre As e Se, que se apresentou na maioria dos órgãos e ambos apresentaram-se com níveis menores em tartarugas-verdes com sinais clínicos de FP. Este fato sugere que a deficiência desses dois elementos possa estar envolvida na fisiopatologia da doença. O entendimento de como eles se combinam ou de como sua diminuição pode estar afetando o desenvolvimento da doença nas tartarugas-verdes ainda não está esclarecido. Sabendo-se que a FP é uma doença multifatorial, sugerimos que vários fatores, e não e não apenas um ou outro, podem estar se combinando de diferentes formas para permitir que o ChHV-5 quebre sua latência e cause os sinais clínicos da FP. Dessa maneira, apresentamos nossos resultados relacionando a contaminação por alguns elementos químicos inorgânicos em tecidos de tartarugas-verdes na costa brasileira e sua correlação com esta doença desafiadora.

REFERÊNCIAS

- ADNYANA, W.; LADDS, P. W.; BLAIR, D. Observations of fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*) in Indonesia. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 10, p. 737-742, 1997.
- ANAN, Y.; KUNITO, T.; WATANABE, I.; SAKAI, H.; TANABE, S. Trace element accumulation in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Japan. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, p. 2802-2814, 2001.
- ANDREANI, G.; SANTORO, M.; COTTIGNOLI, S.; FABBRI, M.; CARPENÈ, E.; ISANI, G. Metal distribution and metallothionein in loggerhead (*Caretta caretta*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles. **Science of the Total Environment**, v. 390, p. 287-294, 2008.
- AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B.; GALEY, F. D. Organic contaminants and trace metals in the tissues of green turtle (*Chelonia mydas*) afflicted with fibropapillomas in the Hawaiian islands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 28, n.2, p. 109-114, 1994.
- AGUIRRE, A. A.; SPRAKER, T. R.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B. Spiroorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles of the Hawaiian Islands. **Journal of Wildlife Disease**, v. 34, p. 91-98, 1998.
- ATSDR. **Toxicological profile for lead**. Atlanta, GA.: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, 2005.
- ATSDR. **Toxicological profile for mercury**. Atlanta, GA.: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, 1999.
- ATSDR. **Toxicological profile for selenium**. Atlanta, GA.: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, 2003.
- BARBIERI, E. Concentration of heavy metals in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) sampled in the Cananeia Estuary, Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 57, n. 3, p. 243-248, 2009.
- BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; NUNES, J. A.; SOUZA, V. C. O.; BARBOSA Jr., F. Exploiting dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) for sequential determination of trace elements in blood using a dilute-and-shoot procedure. **Analytica Chimica Acta**, v. 639, p. 13-18, 2009.
- BRASIL. Portaria IBAMA n.º 1.522 de 19 de dezembro de 1989. **Lista Oficial das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção**. 1989. Disponível em: <www.mma.gov.br/estruturas/179/_arquivos/lista_1989.pdf>. Acesso em: 08 dez. 2015.
- CAMACHO, M.; ORÓS, J.; BOADA, L. D.; ZACCARONI, A.; SILVI, M.; FORMIGARO, C.; LÓPEZ, P.; ZUMBADO, M.; LUZARDO, O. P. Potential adverse effects of inorganic pollutants on clinical parameters of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): results from a nesting colony from Cape Verde, West Africa. **Marine Environmental Research**, v. 92, p. 15-22, 2013.

CAURANT, F.; BUSTAMANTE, P.; BORDES, M.; MIRAMAND, P. Bioaccumulation of Cadmium, Copper and Zinc in some tissues of three Species of Marine Turtles stranded along the French Atlantic coasts. **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 1085-1091, 1999.

DAVISON, A. J.; BERELE, R.; EHLERS, B.; HAYWARD, G.; McGEOCH, D. J.; MINSON, A. C.; PELLET, P. E.; ROIZMAN, B.; STUDDERT, M. J.; THIRY, E. The order Herpesvirus. **Archives of Virology**, v. 154, p.171-177, 2009.

GODLEY, B.; THOMPSON, D.; FURNESS, R. Do heavy metal concentrations pose a threat to Marine turtles from the Mediterranean sea? **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, n. 6, p. 497-502, 1999.

GORDON, A. N.; POPLE, A. R.; NG, J. Trace metal concentrations in livers and kidneys of sea turtles from South-eastern Queensland, Australia. **Marine & Freshwater Research**, v. 49, n. 5, p. 409-414, 1998.

HAMANN, M.; GODFREY, M. H.; SEMINOFF, J. A.; ARTHUR, K.; BARATA, P. C. R.; BJORNDAAL, K. A.; BOLTON, A. B.; BRODERICK, A. C.; CAMPBELL, L. M.; CARRERAS, C.; CASALE, P.; CHALOUPEK, M.; CHAN, S. K. F.; COYNE, M. S.; CROWDER, L. B.; DIEZ, C. E.; DUTTON, P. H.; EPPERLY, S. P.; FITZSIMMONS, N. N.; FORMIA, A.; GIRONDOT, M.; HAYS, G. C.; CHENG, I. J.; KASKA, Y.; LEWISON, R.; MORTIMER, J. A.; NICHOLS, W. J.; REINA, R. D.; SHANKER, K.; SPOTILA, J. R.; TOMAS, J.; WALLACE, B. P.; WORK, T. M.; ZBINDEN, J.; GODLEY, B. J. Global research priorities for sea turtles: informing management and conservation in the 21st century. **Endangered Species Research**, v. 11, p. 245-269, 2010.

HEINZ, G. H. Selenium in birds. In: BEYER, W. N.; HEINZ, G. H.; REDMON-NORWOOD, A. W. (Ed.). **Environmental contaminants in wildlife: interpreting tissues concentrations**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1996. p. 447-458.

HERBST, L. H. Fibropapillomatosis of marine turtles. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 4, p. 389-425, 1994.

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

INNIS, C.; TLUSTY, M.; PERKINS, C.; HOLLADAY, S.; MERIGO, C.; WEBER, E. S. Trace metal and organochlorine pesticide concentrations in cold-stunned juvenile kemp's Ridley turtles (*Lepidochelys kempii*) from Cape Cod, Massachusetts. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 7, p. 230-239, 2008.

IUCN 2015. **IUCN Red List of Threatened Species**. Versão 2015-4. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 12 dez. 2015.

JEREZ, S.; MOTAS, M.; CANOVAS, R. A.; TALAVERA, J.; ALMELA, R. M.; DEL RIO, A. B. Accumulation and tissue distribution of heavy metals and essential elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Spanish Mediterranean coastline of Murcia. **Chemosphere**, v. 78, p. 256-264, 2010.

KOMOROSKE, L. M.; LEWISON, R. L.; SEMINOFF, J. A.; DEUSTCHMAN, D. D.; DEHEYN, D. D. Pollutants and the health of green sea turtles resident to an urbanized estuary

in San Diego Bay, CA. **Chemosphere**, v. 84, n. 5, p. 544-552, 2011.

LAM, J. C. W.; TANABE, S.; CHAN, S. K. F.; YUEN, E. K. W.; LAM, M. H. W.; LAM, P. K. S. Trace element residues in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) from South China Waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, p. 174-182, 2004.

LEY-QUIÑONEZ, C.; ZAVALA-NORZAGARAY, A. A.; ESPINOSA-CARREON, T., L.; PECKHAM, H. MARQUEZ-HERRERA, C.; CAMPOS-VILLEGAS, L. AGUIRRE, A. A. Baseline metals and metalloid values in blood of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Baja California Sur, Mexico. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 9, p. 1979-1983, 2011.

MOFFET, D. B.; EL-MASRI, H. A.; FOWLER, B. A. General considerations on dose-effect and dose-response relationships. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. (Ed.). **Handbook on the toxicology of metals**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. p. 101-116.

SAEKI, K.; SAKAKIBARA, H.; KUNITO, T.; TANABE, S. Arsenic accumulation in three species of sea turtles. **Biomaterials**, v. 13, p. 241-250, 2000.

SAKAI, H.; SAEKI, K.; ICHIHASHI, H., SUGANUMA, H.; TANABE, S.; TATSUKAWA, R. Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, p. 701-709, 2000.

SILVA, C. C.; KLEIN, R. D.; BARCAROLLI, I. F.; BIANCHINI, A. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 42-51, 2016.

STORELLI, M. M.; MARCOTRIGIANO, G. O. Heavy metal residues in tissues of marine turtles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, n. 4, p. 397-400, 2003.

SUN, H. J.; RATHINASABAPATHI, B.; WU, B.; LUO, J.; PU, L. P.; MA, L. Q. Arsenic and selenium toxicity and their interactive effects in humans. **Environment International**, v. 69, p. 148-158, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). International Agency for Research on Cancer (IARC). **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry**. Lyon: IARC, 1993. v. 58, Disponível em <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol58/mono58.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2015.

11 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos com contaminantes químicos são difíceis de interpretar. Há muitas variáveis a serem consideradas, mesmo quando estes são realizados em ambientes controlados. Variações genéticas, etárias, ambientais, alimentares e muitas outras devem ser levadas em consideração. Quando trabalhamos com tartarugas-verdes há muitas outras considerações a lembrar: são animais ectotérmicos, cuja taxa metabólica varia com a temperatura ambiente; fazem migrações para se reproduzir, às vezes, atravessando o oceano Atlântico; e mudam sua dieta alimentar radicalmente de onívora quando filhotes (até aproximadamente 0,29m, na costa brasileira) para totalmente herbívora na fase juvenil.

Neste estudo, não tivemos a pretensão de comprovar que poluentes inorgânicos estavam diretamente ligados à presença da fibropapilomatose, mas sim a de identificar e quantificar alguns destes elementos que possivelmente poderiam interferir no desenvolvimento desta doença, verificando se existia alguma correlação entre estas concentrações e presença dos sinais clínicos da fibropapilomatose. O status da contaminação das tartarugas-verdes amostradas neste estudo já pode, por si só, ser utilizado como um dado basal para o biomonitoramento nesta quatro áreas. Destacamos também que a homogeneidade dos dados de Fernando de Noronha – Pernambuco, são sugestivos de utilização como um dado para a espécie nas águas brasileiras.

Por fim, acreditamos que estes dados iniciais poderão ser agregados a outros estudos com tartarugas-verdes na costa brasileira, aumentando nosso entendimento quanto às ameaças e, conseqüentemente, à conservação da espécie.

REFERÊNCIAS

- ADNYANA, W.; LADDS, P. W.; BLAIR, D. Observations of fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*) in Indonesia. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 10, p. 737-742, 1997.
- AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B.; GALEY, F. D. Organic contaminants and trace metals in the tissues of green turtle (*Chelonia mydas*) afflicted with fibropapillomas in the Hawaiian islands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 28, n.2, p. 109-114, 1994.
- AGUIRRE, A. A.; SPRAKER, T. R.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B. Spirochids and fibropapillomas in green turtles from the Hawaiian Islands. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 1, p. 91-98, 1998.
- AGUSA, T.; TAKAGI, K.; IWATA, H.; TANABE, S. Arsenic species and their accumulation features in green turtles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 57, p. 782-789, 2008.
- ALFARO-NUÑEZ, A.; BERTELSEN, M. F.; BOJENSEN, A. M.; RASMUSSEN, I.; ZEPEDA-MENDONZA, L.; OLSEN, M. T.; GILBERT, M. T. P. Global distribution of Chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus among clinically healthy sea turtles. **BMC Evolutionary Biology**, v. 14, p. 206-216, 2014.
- ANAN, T.; KUNITO, T.; SAKAI, H.; TANABE, S. Subcellular distribution of trace elements in the liver of sea turtle. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, p. 224-229, 2002.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa, 2003. 340 p.
- BALAZS, G. H. **Synopsis of biological data on green turtle in the Hawaiian Islands**. Honolulu, Hawaii: Department of Commerce, NOAA-TM-NMFS-SWFSC-7, 1980. 141 p.
- BAPTISTOTTE, C.; SCALFONE, J. T.; GALLO, B. M. G.; SANTOS, A. S.; CASTILHOS, J. C.; LIMA, E. H. S. M.; BELLINI, C.; BARATA, P. C. R. Prevalence of sea turtle fibropapillomatosis in Brazil. In: ANNUAL SYMPOSIUM ON SEA TURTLE BIOLOGY AND CONSERVATION, 21., 2001, Philadelphia, Pennsylvania. **Proceedings...** Pennsylvania: International Sea Turtle Society, 2004. p. 111-112.
- BAPTISTOTTE, C. **Caracterização espacial e temporal da fibropapilomatose em tartarugas marinhas da costa brasileira**. 2007. 63 p. Tese (Doutorado em Ecologia

Aplicada) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

BAPTISTOTTE, C. Workshop Brasileiro de Fibropapilomatose em Tartarugas Marinhas. Vitória –ES, 2014.

BARBIERI, E. Concentration of heavy metals in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) sampled in the Cananeia Estuary, Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 57, n. 3, p. 243-248, 2009.

BEZERRA, M.; LACERDA, L.; LIMA, E.; MELO, M. T. D. Monitoring Mercury in green sea turtles using keratinized carapace fragments (scutes). **Marine Pollution Bulletin**, v. 77, n. 1-2, p. 424-427, 2013.

BICHO, R.; JOAQUIM, N.; MENDONÇA, V.; KIYUMI, A.; MAHMOUD, I. Y.; KINDI, A. Levels of heavy metals and antioxidants enzymes in green turtles (*Chelonia mydas*) in the Arabian sea, Sultanate of Oman. In: ANNUAL SYMPOSIUM ON SEA TURTLE BIOLOGY AND CONSERVATION, 6., 2006, Athens, Greece. **Proccedings...** Greece: International Sea Turtle Society, 2006. p. 49-50.

BJORNDAL, K. A. Nutritional and grazing behavior of the green turtle, *Chelonia mydas*. **Marine Biology**, v. 56, p. 147-154, 1980.

BJORNDAL, K. A. Foraging ecology and nutrition of sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Ed.). **The Biology of sea turtles**. Boca Raton: CRC Press, p. 199-232, 1997.

BOWEN, B. W.; MEYLAN, A. B.; ROSS, J. P.; LIMPUS, C. J.; BALAZS, G. H.; AVISE, J. C. Global population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. **Evolution**, v. 46, n. 4, p. 865-881, 1992.

BRASIL. Portaria IBAMA n.º 1.522 de 19 de dezembro de 1989. **Lista Oficial das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção**. Disponível em: <www.mma.gov.br/estruturas/179/_arquivos/lista_1989.pdf>. Acesso em: 08 dez. 2015.

CAMACHO, M.; LUZARDO, O. P.; BOADA, L. D.; JURADO, L. F. L.; MEDINA, M.; ZUMBADO, M.; ORÓS, J. Potential adverse health effects of persistent organic pollutants on sea turtles: Evidences from a cross-sectional study on Cape Verde loggerhead sea turtles. **Science of the Total Environment**, v. 458-460, p. 283-289, 2013.

CAURANT, F.; BUSTAMANTE, P; BORDES, M.; MIRAMAND, P. Bioaccumulation of Cadmium, Copper and Zinc in some tissues of three Species of Marine Turtles stranded along the French Atlantic coasts. **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 1085-1091, 1999.

COMMITTEE ON ANIMALS AS MONITORS OF ENVIRONMENTAL HAZARDS. Board on Environmental Studies and Toxicology. Comission on Life Sciences. **Animals as Sentinels of Environmental Health Hazards**. Washington, D.C.: National Academy Press, 1991. 176 p.

CURRY, S. S.; BROWN, D. R.; EHRHART, L. M.; BAGLEY, D. A.; SCHAF, S. A.; MORETTI, R. H.; JACOBSON, E. R.; KLEI, P. A. Detection of antibodies to a disease-associated Herpesvirus of the green turtle, *Chelonia mydas*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 10, p. 3572-3577, 2000.

DAVISON, A. J.; BERELE, R.; EHLERS, B.; HAYWARD, G.; McGEOCH, D. J.; MINSON, A. C.; PELLET, P. E.; ROIZMAN, B.; STUDDERT, M. J.; THIRY, E. The order herpesvirus. **Archives of Virology**, v. 154, p. 171-177, 2009.

DAVISON, A. J. Evolution of herpesviruses. **Veterinary Microbiology**, v. 86, n. 1-2, p. 69-88, 2002

EHRHART, L. M.; SINDLER, R. B.; WITHERINGTON, B. E. **Preliminary investigation of papillomatosis in green turtles**: phase I – frequency and effects on turtles in the wild and in captivity. Charleston, South Carolina: National Marine Fisheries Service, Miami Laboratory, 1986. 46 p. Contract n. 40-GENF-6-0061: Final Report to U. S. Department of Commerce, National Oceanographic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service, Miami Laboratory.

EHRHART, L. M. **Fibropapillomas in green turtles of the Indian river lagoon, Florida**: distribution over time and area. [S.l]: NOAA – Technical Memorandum - TM-NMFS-SWFSC-156, 1991. p. 59-61.

ENE, A.; SU, M.; LEMAIRE, S.; ROSE, C.; SCHAFF, S.; MORETTI, R.; LENZ, J.; HERBST, L. H. Distribution of chelonid fibropapillomatosis associated herpesvirus variants in Florida: molecular genetic evidence for infection of turtles following recruitment to neritic developmental habitats. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 3, p. 489-497, 2005.

ERNST, C. H.; BARBOUR, R. W. **Turtles of the world**. Washington: Smithsonian Intitution Press, 1989. 303 p.

GLADSTONE W. **Trace metals in sediments, indicator organisms and traditional**

seafoods of the Torres Strait. Townsville, Australia: Great Barrier Reef Marine Park Authority, 1996.

GODLEY, B.; THOMPSONÀ, D.; FURNESSÀ, R. Do heavy metal concentrations pose a threat to Marine turtles from the Mediterranean sea? **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, n. 6, p. 497-502, 1999.

GORDON, A. N.; POPLE, A. R.; NG, J. Trace metal concentrations in livers and kidneys of sea turtles of sea turtles from South-eastern Queensland, Australia. **Marine & Freshwater Research**, v. 49, n. 5, p. 409-414, 1998.

GREENBLATT, R. J.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H.; SUTTON, C. A.; CASEY, R. N.; CASEY, J. W. The *Ozobranchus* leech is a candidate mechanical vector for the fibropapilloma-associated turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtle (*Chelonia mydas*). **Virology**, v. 321, p. 101-110, 2004.

HAMANN, M.; GODFREY, M. H.; SEMINOFF, J. A.; ARTHUR, K.; BARATA, P. C. R.; BJORN DAL, K. A.; BOLTEN, A. B.; BRODERICK, A. C.; CAMPBELL, L. M.; CARRERAS, C.; CASALE, P.; CHALOUPKA, M.; CHAN, S. K. F.; COYNE, M. S.; CROWDER, L. B.; DIEZ, C. E.; DUTTON, P. H.; EPPERLY, S. P.; FITZSIMMONS, N. N.; FORMIA, A.; GIRONDOT, M.; HAYS, G. C.; CHENG, I. J.; KASKA, Y.; LEWISON, R.; MORTIMER, J. A.; NICHOLS, W. J.; REINA, R. D.; SHANKER, K.; SPOTILA, J. R.; TOMAS, J.; WALLACE, B. P.; WORK, T. M.; ZBINDEN, J.; GODLEY, B. J. Global research priorities for sea turtles: informing management and conservation in the 21st century. **Endangered Species Research**, v. 11, p. 245-269, 2010.

HERBST, L. H. Fibropapillomatosis of marine turtles. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 4, p. 389-425, 1994.

HERBST, L. H.; KACOBSON, E. R.; MORETTI, R.; BROWN, T.; SUNDBERG, J. P.; KLEIN, P. A. Experimental transmission of green turtle fibropapillomatosis using cell-free tumor extract. **Disease of Aquatic Organisms**, v. 22, p. 1-12, 1995.

HERBST, L. H.; GREINER, E. C.; EHRART, L. M.; BAGLEY, D. A.; KLEIN, P. A. Serological association between spirorchidiasis, herpesvirus infection and fibropapillomatosis in green turtles from Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 3, p. 496-507, 1998.

HERBST, L.; ENE, A.; SU, M.; DESALLE, R.; LENZ, J. Tumor outbreaks in marine turtles are not due to recent herpesvirus mutations. **Current Biology**, v. 14, n. 17, p. 697-699, 2004.

HIRTH, H. F. **Synopsis of the biological data on the green turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758)**. Washington, DC, USA: US Fish and Wildlife Service, 1997. (Biological Report, n. 97).

INNIS, C.; TLUSTY, M.; PERKINS, C.; HOLLADAY, S.; MERIGO, C.; WEBER, E. S. Trace metal and organochlorine pesticide concentrations in cold-stunned juvenile kemp's Ridley turtles (*Lepidochelys kempii*) from Cape Cod, Massachussets. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 7, p. 230-239, 2008.

IUCN 2015. **IUCN Red List of Threatened Species**. Versão 2015-4. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 12 dez. 2015.

JACOBSON, E. R.; MANSELL, J. L.; SUNDBERG, J. P.; HAJAR, L.; REICHMANN, M. M.; EHRHART, L. M.; WALSH, M.; MURRU, F. Cutaneous fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 101, p. 39-52, 1989.

JACOBSON, E. R.; BUERGELT, C.; WILLIAMS, B.; HARRIS, R. K. Herpesvirus in cutaneous fibropapillomas of green turtle *Chelonia mydas*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 12, n. 1, p. 1-6, 1991.

KANG K. L.; TORRES-VELEZ, F. J.; ZHANG, J.; MOORE, P. A.; MOORE, P. D.; RIVERA, S.; BROWN, C. C. Localization of fibropapillomas-associated turtle herpesvirus in Green Turtle (*Chelonia mydas*) by in-situ hybridization. **Journal of Comparative Pathology**, v. 139, p. 218-225, 2008.

KOMOROSKE, L. M.; LEWISON, R. L.; SEMINOFF, J. A.; DEUSTCHMAN, D. D.; DEHEYN, D. D. Pollutants and the health of green sea turtles resident to an urbanized estuary in San Diego Bay, CA. **Chemosphere**, v. 84, n. 5, p.544-552, 2011.

KORTENKAMP, A.; MARTIN, O.; FAUST, M.; EVANS, R.; McKINLAY, R.; ORTON, F., ROSIVATZ, E. **State of the art assessment of endocrine disrupters – Final report**. European Commission, DG Environmet, 2011. 135 p. Disponível em: <http://ec.europa.eu/environment/endocrine/documents/4_SOTA%20EDC%20Final%20Report%20V3%206%20Feb%2012.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2015.

LAM, J. C. W.; TANABE, S.; CHAN, S. K. F.; YUEN, E. K. W.; LAM, M. H. W.; LAM, P. K. S. Trace element residues in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) from South China Waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, p. 174-182, 2004.

LUTCAVAGE, M. E.; PLOTKIN, P.; WHITERINGTON, B.; LUTZ, P. L. Human impacts on sea turtle survival. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Ed.). **The biology of sea turtles**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 387-409.

MARCOVALDI, M. A. A. G.; SANTOS, A. S. dos; SALES, G. (Org.). **Plano de ação nacional para a conservação das Tartarugas marinhas**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2011. 120 p. (Série Espécies Ameaçadas, n. 25).

MATUSHIMA, E. R. **Fibropapilomas em tartarugas marinhas**: aspectos histológicos, imuno-histoquímicos e ultra-estruturais. 2003. 113 p. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MEYLAN, A. B.; MEYLAN, P. A. Introducción a la evolución, historias de vida y Biología de las tortugas marinas. In: ECKERT, K. L.; BJORNDALE, K. A.; ABREU-GROBOIS, F. A.; DONNELLY, M (Ed). **Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas**. Pennsylvania: Consolidates Grafic Communications, 2000. n.º4, p. 3-8.

NARO-MACIEL, E.; BECKER, J. H.; LIMA, H. S. M.; MARCOVALDI, M. A.; DESALLE, R. Testing dispersal hypotheses in foraging Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) of Brazil. **Journal of Heredity**, v. 98, n. 1, p. 29-39, 2007.

NORTON, T. M.; JACOBSON, E. R.; SUNDBERG, J. P. Cutaneous fibropapillomas and renal myxofibroma in a green turtle, *Chelonia mydas*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 26, n. 2, p. 265-270, 1990.

PLOTKIN, P. Adult migrations and habitat use. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A.; WYNEKEN, J. (Ed.). **The biology of sea turtles**. Boca Raton, USA: CRC Press, 1997. v. 2, p. 225-241.

PRITCHARD, P. C. H.; MORTIMER, J. A. Taxonomía, morfología externa e identificación de las especies. In: ECKERT, K. L.; BJORNDALE, K. A.; ABREU-GROBOIS, F. A.; DONNELLY, M (Ed.). **Técnicas de Investigación Y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas**. Washington, DC: IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group, 2000. p. 23-41.

QUACKENBUSH, S. L.; CASEY, R. N.; MURCEK, R. J.; PAUL, T. A.; WORK, T. M.; LIMPUS, C. J.; CHAVES, A.; DUTOIT, L.; PEREZ, J. V.; AGUIRRE, A. A.; SPRAKER, T. R.; HORROCKS, J. A.; VERMEER, L. A.; BALAZS, G. H.; CASEY, J. W. Quantitative analysis of herpesvirus sequences from normal tissue and fibropapillomas of marine turtles with real-time PCR. **Virology**, v. 287, p. 105-111, 2001.

RILEY, L. E. L. Herpes simplex virus. **Seminars in Perinatology**, v. 22, p. 284-292, 1988.

ROSSI, S.; ZWARG, T.; SANCHES, T. C.; CESAR, M. O.; MERNECK, M.; MATUSHIMA, E. Hematological profile of *Chelonia mydas* (Testudines, Cheloniidae) according to the severity of fibropapillomatosis or its absence. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 12, p. 974-978, 2007.

SAKAI, H.; SAEKI, K.; ICHIHASHI, H.; SUGANUMA, H.; TANABE, S.; TATSUKAWA, R. Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, p. 701-709, 2000.

SANTOS, R. G.; MARTINS, A. S.; TOREZANI, E.; BAPTISTOTTE, C.; FARIAS, J. N.; HORTA, P. A.; WORK, T. M.; BALAZS, G. H. Relationship between fibropapillomatosis and environmental quality: a case study with *Chelonia mydas* of Brazil. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 89, p. 87-95, 2010.

SILVA, C. C.; KLEIN, R. D.; BARCAROLLI, I. F.; BIANCHINI, A. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 42-51, 2016.

SMITH, G. M.; COATES, C. W. Fibroepithelial growths of the skin in large marine turtles *Chelonia mydas*, **Zoologica**, New York, v. 23, p. 93-96, 1938.

STACY, B. A.; WELLEHAN, J. F. X.; FOLEY, A. M.; COBERLEY, S. S.; HERBST, L. H.; MANIRE, C. A.; GARNER, M. M.; BROOKINS, M. D.; CHILDRESS, A. L.; JACOBSON, E. R. Two herpesvirus associated with disease in wild Atlantic loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). **Veterinary Microbiology**, v. 126, p. 63-73, 2008.

STORELLI, M. M.; MARCOTRIGIANO, G. O. Heavy metal residues in tissues of marine turtles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, n. 4, p. 397-400, 2003.

TAN, F.; WANG, M.; WANG, W.; AGUIRRE, A. A.; LU, Y. Validation of an in vitro cytotoxicity test for four heavy metals using cell lines from a green sea turtle (*Chelonia mydas*). **Cell Biology and Toxicology**, v. 26, p. 255-263, 2010.

TOREZANI, E.; BAPTISTOTTE, C.; MENDES, S. L.; BARATA, P. C. R. Juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) in the effluent discharge channel of a steel plant, Espírito Santo, Brasil, 2000-2006. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 90, n. 2, p. 1-14, 2009.

VAN DE MERWE, J. P.; HODGE, M.; OLSZOWY, H. A.; WHITTIER, J. M.; LEE, S. Y.

Using blood samples to estimate persistent organic pollutants and metals in green sea turtles (*Chelonia mydas*). **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 579-588, 2010.

WORK, T. M.; BALAZS, G. H. Causes of green turtle (*Chelonia mydas*) morbidity and mortality in Hawaii. In: ANNUAL SYMPOSIUM ON SEA TURTLE BIOLOGY AND CONSERVATION, 7., 1997, Orlando, Florida. **Proceedings...** Florida: International Sea Turtle Society, 1997. p. 308.

WORK, T. M; BALAZS, G. H. Tumours in sea turtles: the insidious menace of Fibropapillomatosis. **The Wildlife professional**, p. 45-47, 2013.

ANEXO A – ILUSTRAÇÕES DO TRABALHO DE CAMPO

Figura 1 – pescadores montando curral de pesca em Almofala – CE

Fonte: Arquivo Projeto Tamar

Figura 2 – entrega de tartaruga-verde capturada em curral de pesca - CE

Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 3 – entrega de tartaruga-verde capturada em Fernando de Noronha -

PE

Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 4 – colheita de sangue em Fernando de Noronha - PE

Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 5 – captura intencional por tarrafa no efluente da Arcelor-Mittal - ES

Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 6 – soltura de tartaruga-verde logo após colheita de material biológico em Almofala – CE

Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 7 – necropsia realizada na base do Projeto Tamar em Fernando de Noronha - PE

Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 8 – necropsia realizada na base do Projeto Tamar em Ubatuba –SP

Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 9 – necropsia realizada na base do Projeto Tamar em Almofala – CE. Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 10 – preparo de amostras para leitura em ICP –MS. Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

Figura 11 – leitura das amostras em ICP-MS. Fonte: Arquivo do Grupo de Pesquisa de Fibropapilomatose em Tartarugas-marinhas.

ANEXO B – TABELAS DE CORRELAÇÃO (TESTE DE CORRELAÇÃO DE SPERMAN)
DA CONCENTRAÇÃO DE SEIS ELEMENTOS QUÍMICOS TESTADOS EM TECIDOS
DE TARTARUGAS-VERDES (*Chelonia mydas*) NECROPSIADAS NO LITORAL
BRASILEIRO

Tabela 1 - Correlação da concentração de elementos detectados no baço de 81 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no Brasil.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,76	< 0,01
	Pb	-0,32	< 0,01
	Cd	0,41	< 0,01
	Hg	0,50	< 0,01
Zn x	Cd	0,27	0,02
	Hg	0,28	0,02
As x	Pb	-0,32	< 0,01
	Cd	0,37	< 0,01
	Hg	0,50	< 0,01
Pb x	Cd	-0,27	0,01
	Hg	-0,45	< 0,01
Cd x	Hg	0,60	< 0,01

Tabela 26 - Correlação da concentração de elementos detectados no fígado de 85 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado do Espírito Santo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,88	< 0,01
	Cd	0,59	< 0,01
	Hg	0,70	< 0,01
Zn x	Hg	0,53	0,01
As x	Cd	0,52	< 0,01
	Hg	0,68	< 0,01
Cd x	Hg	0,87	< 0,01

Tabela 3- Correlação da concentração de elementos detectados no baço de 40 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado de São Paulo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,57	< 0,01
	Pb	-0,59	< 0,01
	Cd	0,42	< 0,01
	Hg	0,51	< 0,01
As x	Pb	-0,59	< 0,01
	Hg	0,50	< 0,01
Pb x	Cd	-0,47	< 0,01
	Hg	-0,78	< 0,01

Tabela 4 - Correlação da concentração de elementos no fígado de 85 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no Brasil.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	Zn	0,30	0,01
	As	0,76	< 0,01
	Cd	0,58	< 0,01
	Hg	0,57	< 0,01
Zn x	Pb	0,30	0,01
	Cd	0,34	< 0,01
	Hg	0,26	0,02
As x	Pb	-0,36	< 0,01
	Cd	0,35	< 0,01
	Hg	0,32	< 0,01
Cd x	Hg	0,46	< 0,01

Tabela 5 - Correlação da concentração de elementos no fígado de 30 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado do Espírito Santo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,87	< 0,01
	Pb	-0,56	< 0,01
	Cd	0,51	0,01
	Hg	0,47	0,03
As x	Pb	-0,50	0,01
	Cd	0,41	0,02
	Hg	0,47	0,03
Cd x	Hg	0,64	< 0,01

Tabela 6 - Correlação da concentração de elementos no fígado de 41 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado de São Paulo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	Zn	0,44	< 0,01
	As	0,62	< 0,01
	Cd	0,60	< 0,01
	Hg	0,69	< 0,01
Zn x	As	0,33	0,04
	Cd	-0,33	0,04
	Hg	0,43	0,01
As x	Pb	-0,35	< 0,01
Cd x	Hg	0,63	< 0,01

Tabela 7 - Correlação da concentração de elementos na glândula de sal de 76 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no Brasil.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	Zn	0,25	0,02
	As	0,77	< 0,01
	Cd	0,41	< 0,01
	Hg	0,57	< 0,01
Zn x	Hg	0,45	< 0,01
As x	Cd	0,26	0,02
	Hg	0,55	< 0,01
Cd x	Hg	0,36	< 0,01

Tabela 827 - Correlação da concentração de elementos na glândula de sal de 29 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado do Espírito Santo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	Zn	0,40	0,04
	As	0,90	< 0,01
	Cd	0,55	< 0,01
	Hg	0,65	< 0,01
Zn x	Cd	0,48	0,01
	Hg	0,63	0,01
As x	Cd	0,54	< 0,01
	Hg	0,65	< 0,01

Tabela 9 - Correlação da concentração de elementos na glândula de sal de 39 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado de São Paulo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	Zn	0,33	0,04
	As	0,59	< 0,01
	Pb	-0,36	0,03
	Cd	0,41	0,01
	Hg	0,61	< 0,01
Zn x	Hg	0,46	< 0,04
As x	Hg	0,51	< 0,01
Cd x	Hg	0,35	0,03

Tabela 10 - Correlação da concentração de elementos no músculo esquelético de 86 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no Brasil.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,63	< 0,01
	Hg	0,43	< 0,01
Zn x	Cd	0,48	< 0,01
As x	Hg	0,61	< 0,01

Tabela 11 - Correlação da concentração de elementos no músculo esquelético de 30 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado do Espírito Santo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,74	< 0,01
	Hg	0,57	0,01
Zn x	Cd	0,39	0,03
As x	Hg	0,75	< 0,01

Tabela 12 - Correlação da concentração de elementos no músculo esquelético de 42 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado de São Paulo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,42	0,01
	Hg	0,43	0,01
Zn x	Cd	0,53	< 0,01
As x	Hg	0,50	< 0,01
Cd x	Hg	0,35	0,03

Tabela 13 - Correlação da concentração de elementos no tecido ósseo de 75 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no Brasil.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	Pb	-0,31	0,01
	Hg	0,49	< 0,01
Zn x	Pb	-0,28	0,02
	Cd	0,36	< 0,01
As x	Cd	0,32	0,01
Pb x	Cd	-0,28	0,02

Tabela 14 - Correlação da concentração de elementos no tecido ósseo de 23 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado do Espírito Santo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,81	< 0,01
	Pb	-0,57	0,01
Zn x	Cd	0,60	< 0,01
As x	Pb	-0,57	0,01
	Cd	0,44	0,04

Tabela 15 - Correlação da concentração de elementos no tecido ósseo de 40 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado de São Paulo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	Cd	0,36	0,02
	Hg	0,47	< 0,01
As x	Cd	0,39	0,01
Cd	Hg	0,33	0,04

Tabela 16 - Correlação da concentração de elementos nos rins de 85 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no Brasil.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,77	< 0,01
	Pb	-0,24	0,03
	Cd	0,32	< 0,01
	Hg	0,63	< 0,01
Zn x	Cd	0,41	< 0,01
	Hg	0,37	< 0,01
As x	Pb	-0,32	< 0,01
	Hg	0,54	< 0,01
Pb x	Hg	-0,47	< 0,01
Cd x	Hg	0,43	< 0,01

Tabela 17 - Correlação da concentração de elementos nos rins de 30 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado do Espírito Santo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,90	< 0,01
	Hg	0,59	< 0,01
Zn x	Pb	0,40	0,03
	Cd	0,54	< 0,01
	Hg	0,46	0,03
As x	Hg	0,63	< 0,01
Pb x	Cd	-0,46	0,01
	Hg	-0,51	0,02
Cd x	Hg	0,71	< 0,01

Tabela 18 - Correlação da concentração de elementos nos rins de 41 tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) necropsiadas no estado de São Paulo.

Variáveis comparadas		ρ	Valor de p
Se x	As	0,61	< 0,01
	Cd	0,37	0,02
	Hg	0,65	< 0,01
As x	Pb	-0,40	0,01
	Hg	0,57	< 0,01
Pb x	Hg	-0,55	< 0,01
Cd x	Hg	0,46	< 0,01

Legenda: As = Arsênio; Cd = Cádmio; Pb = Chumbo; Se = Selênio; Zn = Zinco; Hg = Mercúrio.

Nota: Interpretação dos valores de Correlação de Spearman (ρ):

- 0,35 = correlação fraca;
- 0,36 e 0,60 = correlação moderada;
- 0,61 e 1,00 = correlação forte.

de 0,00 a

entre

entre