



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE**

**ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS E ELEMENTOS TRAÇO EM TECIDOS DE
TARTARUGAS MARINHAS NO NORDESTE DO BRASIL**

GIULIA DE ANDRADE LIMA BERTOTTI

Recife, 2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE**

**ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS E ELEMENTOS TRAÇO EM TECIDOS DE
TARTARUGAS MARINHAS NO NORDESTE DO BRASIL**

GIULIA DE ANDRADE LIMA BERTOTTI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade da UFRPE para obtenção do título de Mestre pela aluna Giulia de Andrade Lima Bertotti, com orientação do Prof. Dr. Geraldo Jorge Barbosa de Moura (UFRPE) e Coorientação dos Prof. Dr. Pierre Castro (UFRPE) e Dr. Renato da Silva Carreira (PUC-Rio)

Recife, 2022

**ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS E ELEMENTOS TRAÇO EM TECIDOS DE
TARTARUGAS MARINHAS NO NORDESTE DO BRASIL**

GIULIA DE ANDRADE LIMA BERTOTTI

BANCA EXAMINADORA

Geraldo Jorge Barbosa de Moura - UFRPE (Presidente)

Gilvan Tagoshi Yogui – UFPE (Titular)

Simone Almeida Galvilan - UERN (Titular)

Midiã da Silva Rodrigues – UFRPE (Suplente)

Daniel Nunes Araújo Gonçalves – UFRPE (Suplente)

Recife, 2022

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus avós, Guilhermina e Odilon e aos meus Nonos, Claudete e José Antônio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa de mestrado concedida e ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Ao meu orientador, Professor Geraldo Jorge Barbosa de Moura pela confiança, suporte, aprendizado e amizade.

Agradeço também aos meus coorientadores, Professor Renato da Silva Carreira e Professor Pierre de Castro Soares pela incrível oportunidade de trabalharmos em conjunto.

Ao projeto Cetáceos da Costa Branca - UERN e a ONG ECOASSOCIADOS – PE pela parceria durante a realização do trabalho.

Agradeço aos meus pais José Antônio Bertotti Júnior e Karla Simões de Andrade Lima Bertotti, que são os meus maiores exemplos.

À minha irmã e melhor amiga Carolina de Andrade Lima Bertotti.

Aos amigos que fiz durante a pós-graduação, Paula Araújo, Mateus Bonfim, Alexandre Dantas e Daniel Praia, os quais foram a minha força para traçar essa caminhada.

Ao Professor Dr. Gilvan Yogui, Professora Dra. Simone Almeida, Dra. Midiã Rodrigues e Dr. Daniel Nunes, pela honra de tê-los em minha banca.

SUMÁRIO

1. REVISÃO DA LITERATURA10

- 1.1 Classificação das tartarugas marinhas10
- 1.2 Distribuição no litoral nordestino11
- 1.4. Ciclo de vida12
- 1.5. Ecologia trófica13
- 1.6. Ameaças à conservação das tartarugas marinhas15
- 1.7. Ecotoxicologia do petróleo17
- 1.8. Hidrocarbonetos do petróleo20
- 1.9. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos21
- 1.10. Elementos-traço21

Análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em diferentes tecidos de tartarugas marinhas no Nordeste do Brasil35

- 1. INTRODUÇÃO37
- 2. MATERIAL E MÉTODOS40
 - 2.1 Área de estudo40
 - 2.2 Coleta de dados40
 - 2.3 Procedimentos laboratoriais42
 - 2.4 Quantificação e qualificação dos hidrocarbonetos42
 - 2.4.1 Preparação das amostras42
 - 2.4.2 Análise instrumental43
 - 2.5 Análises estatísticas44
- 3. RESULTADOS44
 - 3.1 Concentração de HPAs nos tecidos45

Artigo a ser submetido à revista: Tropical Ecology (normas da revista em anexo)1

Análises de elementos-traço nos tecidos hepáticos e musculares de *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no período pré e pós derramamento de óleo no nordeste brasileiro em 2019 1

- 1. INTRODUÇÃO4

- 2. MATERIAL E MÉTODOS6
 - 2.1 Área de estudo**Error! Bookmark not defined.**
 - 2.2 Coleta de dados**Error! Bookmark not defined.**
 - 2.3 Triagem do material7
 - 2.4 Preparo das amostras8
 - 2.4.1 Quantificação e qualificação dos elementos-traço8
 - 2.4.2 Digestão8
 - 2.5. Determinação do limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD)9
 - 2.6. Quantificação dos minerais9
 - 2.5 Análises estatísticas10
- 3. RESULTADOS10
 - 3.1 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)11
 - 3.2 Concentrações de elementos-traço nos tecidos11
- 3. DISCUSSÃO14
- 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS17
- 5. AGRADECIMENTOS18

ANEXOS1

RESUMO

No segundo semestre de 2019 ocorreu o maior derramamento de petróleo já registrado na zona costeira Nordeste do Brasil, ambiente fundamental para a reprodução e desenvolvimento das tartarugas marinhas. O contato direto ou indireto com as substâncias presentes no petróleo pode causar diversos danos à saúde das tartarugas, como ineficiência de órgãos vitais em decorrência da bioacumulação de compostos tóxicos. Hidrocarbonetos e elementos-traço são algumas das substâncias presentes no petróleo capazes de trazer sérios riscos aos organismos vivos, a exemplo das tartarugas marinhas, com isso, torna-se necessário avaliar a presença desses compostos nos organismos, que no processo de transferência de energia, pode acarretar danos para toda a biodiversidade. Com isso, o objetivo deste trabalho é realizar a análise quali-quantitativa de hidrocarbonetos e elementos-traço em diferentes tecidos de tartarugas marinhas encalhadas no litoral do Nordeste do Brasil, antes (2016-2018) e depois (2020-2021) do desastre ambiental do derramamento de petróleo de 2019. Foram coletados 44 animais entre 2016 e 2018 (Grupo 1) e 38 entre 2020 e 2021 (Grupo 2), os quais foram encontrados mortos ao longo de praias do litoral nordestino. Todos os indivíduos do Grupo 1 são *Chelonia mydas* e apresentaram média de 61,65 cm e 57,64 cm para o Comprimento Curvilíneo da Carapaça (CCC) e Largura Curvilínea da Carapaça (LCC) respectivamente. No Grupo 2, 79% são *Chelonia mydas*, 15% *Lepidochelys olivacea* e 11% *Caretta caretta*. CCC e LCC para este grupo apresentaram médias de 61,65 cm e 57,64 cm. Os animais foram dissecados e tiveram amostras da musculatura peitoral e do fígado coletados. As amostras foram submetidas à homogeneização e posteriormente armazenadas em recipientes de vidro. Em seguida, foram encaminhadas para laboratório onde foi realizada a análise dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), através de extração pelo método *Sohxlet* seguida por quantificação espetrofotométrica e a quantificação dos elementos Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn, através de digestão úmida em forno digestor microondas PROVECTO 3000 e espectrometria de absorção atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Foram identificados 40 HPAs nos indivíduos do grupo 2, no qual a média do somatório dos HPAs totais foi de 202,21 ng/g para o fígado e 231,10 ng/g para o músculo. Os naftalenos, pireno, fenantreno e fluorantreno foram os mais abundantes, os quais indicam a contaminação dos animais por resíduos derivados do petróleo. A porcentagem de HPAs alquilados, que também indica a presença do petróleo, foi alta tanto no fígado quanto no músculo. Não foi identificada diferença significativa nas concentrações de HPAs observadas nos diferentes tecidos, no entanto, a análise de cluster separou as amostras em dois perfis de contaminação, um petrogênico e outro pirogênico. Quanto aos elementos-traço, foram identificados 10 minerais nos diferentes tecidos analisados dos animais pertencentes aos Grupo 1 e 2. Para os dois grupos, os elementos mais abundantes foram Zn, Al, Cu e Ni, no entanto, para o grupo 2, além dos elementos citados as concentrações de Pb também apresentaram altas quantidades em relação aos demais. Os dois grupos analisados apresentaram maiores concentrações no fígado do que no músculo tendo o Grupo 1 apresentado maiores concentrações quando comparado ao Grupo 2. Ambos os grupos não demonstraram diferenças significativas entre as medidas biométricas dos animais e a concentração de substâncias. Os resultados obtidos indicam que as tartarugas marinhas são grandes vítimas da intoxicação. Os altos valores de HPAs contabilizados nos espécimes sugerem a intensa contaminação desses animais em decorrência de atividades antrópicas *off-shore* que envolvem extração e transporte do petróleo. Além disso, foi observado que parte do perfil dos HPAs encontrados nas tartarugas marinhas é similar ao do petróleo proveniente do derramamento documentado em 2019 no Nordeste. Os elementos-traço quantificados também sugerem altos níveis de poluição marinha, no entanto, não foi observado o aumento na retenção das substâncias nos tecidos em decorrência do derramamento, o que pode ocorrer devido ao curto tempo de exposição desses animais ao resíduo.

Palavras-chave: Testudines, Petróleo, Impacto Ambiental, Poluição Marinha, Zonas Costeiras

ABSTRACT

In the second semester 2019, it was documented the largest oil spill registered in Northeast coast of Brazil, an essential environment for reproduction and development of for sea turtles. Direct or indirect contact with substances present in petroleum can cause several health damages, such as the inefficiency of vital organs due to the bioaccumulation of toxic compounds. Hydrocarbons and trace elements are some substances present in the oil which can bring serious risks to the organisms, bioaccumulating, which in the process of transferring of nutrients, can cause damage to the whole the biodiversity. Therefore, the objective of this work is to do a qualitative and quantitative analysis of hydrocarbons and trace elements in different tissues of stranded sea turtles on the coast of Northeast Brazil, before (2016-2018) and after (2020-2021) the environmental disaster of the oil spill. 44 stranded sea turtles were collected in the coast of Northeast of Brazil between 2016 and 2018 (Group 1) and 38 were collected enter 2020 and 2021 (Group 2). All the individuals of Group 1 are *Chelonia mydas* and averages of 61.65 cm and 57.65 cm for the Length Curvature Carapace (LCC) and Width Curvature Carapace (WCC). In Group 2, 79% are *Chelonia mydas*, 15% *Lepidochelys olivaceae* and 11% *Caretta caretta*. LCC and WCC for this group presented means of 61.65 cm and 57.64 cm. The animals were dissected and was collected the liver and peitoral muscle. The samples were homogenized and stored in glasses recipients. The samples from Group 2 were send to laboratory where the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons was performed by the *Sohxlet* extraction and gas chromatography and the quantification of the elements Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb and Zn was performed through wet digestion and plasma-coupled atomic absorption spectrometry. For group 2, 40 PAHs were identified in the analyzed tissues. The main sum of total PAH was 202.2.21 ng/g in the liver and 231,10 ng/g in the muscle, being naphthalene, pyrene, phenanthrene and fluorene the most abundant, which indicate the contamination by oil spills. The percentage of alkylated PAHs, which also indicates the presence of oil, was high in both tissues. No difference was observed for PAH concentrations according to the tissues, however, cluster analysis identified two PAHs retention profiles, one pyrogenic and one petrogenic. As for the trace elements, 10 minerals were identified in the different tissues analyzed from the animals belonging to Groups 1 and 2. For both groups, the most abundant elements were Zn, Al, Cu and Ni, however, for group 2, in addition to of the mentioned elements the concentrations of Pb also presented high amounts in relation to the others. The two groups analyzed had higher concentrations in the liver than in the muscle, with Group 1 showing higher concentrations when compared to Group 2. Both groups did not show significant differences between the biometric measurements of the animals and the concentration of substances. The results obtained indicate that sea turtles are major victims of pollution. The high values of PAHs recorded in the specimens suggest the intense contamination of these animals as a result of offshore human activities that involve extraction and transport of oil. In addition, it was observed that part of the profile of PAHs found in sea turtles is similar to the oil from the spill documented in 2019 in the Northeast. The quantified trace elements also suggest high levels of marine pollution, however, an increase in the accumulate of substances in the tissues as a result of the spill was not observed, which may occur due to the short time of exposure of these animals to the residue.

Key-words: Testudines, Oil, Environmental Impact, Marine Pollution, Coastal Zones

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Classificação das tartarugas marinhas

As tartarugas marinhas estão inseridas no filo Chordata, compondo parte da ordem Testudinata, cuja principal característica desse grupo é a presença de uma carapaça óssea sobre o corpo, formada através da fusão das vértebras e costelas (RAPHAEL, 2003). A ordem dos Testudines atuais contém 14 famílias pertencentes a duas subordens, caracterizadas pelo mecanismo de retração da cabeça. Os representantes da subordem Cryptodira retraem a cabeça para dentro do casco através do curvamento do pescoço no plano vertical, e os indivíduos da subordem Pleurodira curvam o pescoço lateralmente (GAFFNEY e MEYLAN, 1988; MEYLAN, 1999). A subordem Cryptodira compreende 11 famílias, onde estão agrupadas as duas famílias atuais de tartarugas marinhas, Cheloniidae e Dermochelyidae. Contudo, os representantes das famílias que agrupam as tartarugas marinhas, perderam a capacidade de retração da cabeça, devido às adaptações evolutivas (MEYLAN, 1999; SHAFFER, 2009).

A família Cheloniidae engloba seis das sete espécies de tartarugas marinhas viventes, sendo essas *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758), *Caretta caretta* (LINNAEUS, 1758), *Eretmochelys imbricata* (LINNAEUS, 1766), *Lepidochelys olivacea* (ESCHSCHOLTZ, 1829), *Lepidochelys kempii* (GARMAN, 1880) e *Natator depressus* (GARMAN, 1880), no qual as quatro primeiras ocorrem no litoral nordestino brasileiro (MOURA, 2011a). Os indivíduos da família Cheloniidae são caracterizados pela presença de uma carapaça rígida e achatada, constituída de tecido ósseo recoberto por escudos queratinizados epidérmicos (WYNEKEN, 2001). Esses escudos, juntamente com as placas córneas presentes na cabeça, variam em número e tamanho, possibilitando a identificação das espécies a partir dessas características (PRITCHARD e MORTIMER, 1999). Outro aspecto capaz de auxiliar na identificação das espécies dessa família é a morfologia da ranfoteca. A ranfoteca é um bico córneo que reveste a mandíbula, auxiliando os animais na sua alimentação, sendo assim, essa estrutura varia de acordo com a dieta predominante da espécie (WYNEKEN, 2001).

A família Dermochelyidae apresenta apenas uma espécie vivente, a *Dermochelys coriacea* (LINNEAUS, 1766). A principal característica dessa espécie é a presença de uma carapaça com ossos reduzidos, composta por uma fina e resistente camada epidérmica com milhares de pequenas placas ósseas, formando sete quilhas ao longo do seu comprimento (BARATA e FABIANO, 2002). Diferente das espécies da família Cheloniidae, os escudos córneos apenas compõem a carapaça dos filhotes recém-eclodidos (PRITCHARD e MORTIMER, 1999). Essa espécie também possui registros de ocorrência no litoral nordestino (GANDU et al., 2014).

1.2 Distribuição no litoral nordestino

As diferentes espécies de tartarugas marinhas estão distribuídas de forma circungalbal, sendo encontradas comumente em mares tropicais e subtropicais, podendo também serem registradas em ambientes temperados. Esses animais normalmente migram longas distâncias entre a sua área de alimentação e as praias de desova (PRITCHARD, 1997). A depender da espécie, o tempo entre as migrações das áreas de alimentação e reprodução varia de um a quatro anos (IUCN Marine Turtle Specialist Group - <http://iucn-mtsg.org/about-turtles/species>). Na costa Nordeste, há ocorrência de registros reprodutivos e não reprodutivos das cinco espécies ocorrentes no Brasil: *C. mydas*, *C. caretta*, *E. imbricata*, *L. olivacea* e *D. coriacea*, sendo a última de rara ocorrência e registro de desova (GUIMARÃES et al., 2010; GANDU et al., 2014).

C. mydas ocorre em todo o litoral nordestino, possuindo maior registro de desovas nas ilhas oceânicas de Fernando de Noronha e Atol das Rocas. No entanto, várias áreas de alimentação importantes para essa espécie se encontram na costa continental do Nordeste do Brasil, como por exemplo, no litoral do estado do Ceará, que registra o forrageio de *C. mydas* juvenis e adultos desde 1964 (LIMA et al., 2012). *C. mydas* é a espécie com o maior número de registros próximos à costa, devido ao seu hábito alimentar majoritariamente herbívoro durante maior parte de sua vida (DE PÁDUA ALMEIDA et al., 2011).

E. imbricata é conhecida como a espécie mais tropical entre as tartarugas marinhas. Tem como local de maior densidade de ninhos o litoral sul do Rio Grande do Norte (SANTOS et al., 2013), no entanto, a maior quantidade de ninhos por temporada é registrada no litoral norte da Bahia. Apresenta também ocorrência de desova importante no estado de Sergipe (BANCO DE DADOS DO TAMAR, 2012). Possuem como principais áreas de forrageio para juvenis o litoral brasileiro as ilhas oceânicas de Fernando de Noronha e Atol das Rocas (MARCOVALDI et al., 2011)

Para *C. caretta*, os locais que apresentam o maior número de desova no Brasil são os litorais dos estados de Sergipe e Bahia. Contudo, também apresentam alto registro de desova nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo (MARCOVALDI e CHALOUPKA 2007). A distribuição dessa espécie no litoral brasileiro se dá em duas sub-populações, sendo a primeira delas composta pelos indivíduos que reproduzem no litoral do nordeste e a segunda, no litoral do sudeste (SANTOS et al., 2011). Os indivíduos em fase juvenil avançada de *C. caretta* podem ser encontrados em ambientes neríticos, enquanto os demais juvenis e adultos são amplamente documentados em zonas oceânicas (BOLTEN, 2003; MONTEIRO et al. 2006).

L. olivaceae tem como principal sítio reprodutivo no Brasil o litoral de Sergipe e o litoral norte da Bahia. Os indivíduos dessa espécie que desovam no Nordeste se deslocam por toda a costa brasileira e também são encontrados em zonas oceânicas equatoriais (SILVA et al., 2007; SILVA et al., 2011). As áreas de alimentação de *L. olivaceae* podem ocorrer em zonas costeiras tropicais sendo também registradas em latitudes mais altas e profundidades maiores (POLOVINA et al. 2004; BOWEN e KARL 2007).

D. coriacea possui distribuição muito ampla ao redor dos oceanos, sendo reconhecida como a espécie de tartaruga marinha mais adaptada devido às suas estruturas corpóreas, que possibilitam a sobrevivência em ambientes muito frios e profundos (MORTIMER, 1999). No entanto, essa espécie é raramente registrada no litoral nordestino, possuindo relatos esporádicos de desovas nos estados da Bahia, Rio Grande do Norte e PiauÍ (LOEBMANN et al. 2008; GANDU et al., 2014) Seu sítio regular de desova no Brasil corresponde ao litoral do estado do Espírito Santo. *D. coriacea* vive a maior parte de sua vida em zonas oceânicas, onde se alimentam desde a superfície até zonas profundas (DOYLE et al. 2008, DE PÁDUA ALMEIDA, 2011)

1.4. Ciclo de vida

O litoral do Nordeste brasileiro é reconhecido como uma área muito importante para diferentes fases do ciclo de vida das tartarugas marinhas, funcionando como área de migração, alimentação, crescimento e reprodução. Nessa região, todos os anos é documentada a desova de um grande número de fêmeas das espécies *C. mydas* (LINNAEUS, 1758), *C. caretta* (LINNAEUS, 1758), *E. imbricata* (LINNAEUS, 1766) e *L. olivacea* (ESCHSCHOLTZ, 1829) (MARCOVALDI; MARCOVALDI, 1999).

O ciclo de vida das tartarugas marinhas tem início com o desenvolvimento embrionário dos ovos em um ninho construído em ambiente terrestre pela fêmea (FRAZIER, 2003). Quando estão totalmente formados, os filhotes são capazes de romper a casca do ovo com o auxílio de um espinho presente em seu bico, denominado carúncula (MCARTHUR et al., 2008). Após a eclosão, acontece um processo conhecido por “facilitação social”, no qual os filhotes auxiliam uns aos outros a saírem do ninho permanecendo próximos durante a ida para o mar, mantendo-se protegidos de predadores (CARR e HIRTH, 1961).

Os primeiros anos das tartarugas marinhas são conhecidos como “os anos perdidos”, tendo em vista o pouco conhecimento a respeito desse estágio de vida dos filhotes. No entanto, alguns estudos demonstram a grande influência das diferentes correntes marinhas na dispersão dos animais nos primeiros meses de vida (LOPEZ et al., 2013).

O desenvolvimento dos indivíduos juvenis ocorre em águas pelágicas e nas zonas costeiras e o desenvolvimento de sub-adultos e adultos é atingido em ambientes neríticos. Esses animais possuem um processo de maturação sexual lento, levando cerca de 20 a 30 anos, a depender da espécie, para atingir a maturidade. Essa característica gera o aumento do número de óbitos desses animais antes da sua reprodução quando entram em contato com estressores tanto naturais quanto antrópicos (HEPPEL et. al, 2003).

Após o alcance da maturidade sexual, os adultos migram para as áreas de reprodução, onde ocorre a cópula. A reprodução das tartarugas marinhas é sazonal, ocorrendo uma vez por ano (HAMANN et al., 2003). O processo de vitelogênese das fêmeas dura cerca de 16 a 36 semanas e ocorre antes da migração para as áreas reprodutivas (PAOLUCCI et al., 2001). O hábito sexual desses animais durante os eventos reprodutivos é chamado de poliandria, o que caracteriza a possibilidade de vários machos fecundarem uma única fêmea, conferindo uma grande variabilidade genética para suas populações (BOWEN; KARL, 2007).

Posteriormente à cópula, os machos retornam para as áreas de alimentação e as fêmeas seguem para a praia onde ocorre a nidificação. As fêmeas de tartarugas marinhas tendem a realizar a postura de seus ovos no mesmo local onde nasceram, devido a cristais de magnetita que são desenvolvidos no cérebro dos filhotes, os quais fazem o papel de uma bússola, permitindo que esses memorizem o campo magnético de onde nasceram (LUSCHI et al., 2007).

As fêmeas realizam de três a sete posturas com intervalos de aproximadamente quatorze dias. Cada ninho possui cerca de 120 ovos, os quais levam de 50 a 60 dias para eclodir, a partir do primeiro dia de incubação. A temperatura do ninho é um fator determinante para a definição do sexo dos filhotes, uma vez que quanto menor a temperatura, são gerados mais machos e quanto maior a temperatura, são geradas mais fêmeas (REIS e GOLDBERG, 2017). Após o período reprodutivo e finalização das posturas, as fêmeas retornam para o mar migrando novamente para as áreas de alimentação (FRAZIER, 2003).

1.5. Ecologia trófica

As tartarugas marinhas podem apresentar diferentes posições na teia trófica, a partir da grande variação da dieta entre as espécies ou entre as fases do ciclo de vida (LEÓN e BJORN DAL, 2002). Essa característica confere as tartarugas marinhas fundamental importância para o fluxo energético dos ecossistemas nos quais estão inseridas, uma vez que essas migram longas distâncias, auxiliando o transporte de nutrientes (FRAZIER, 2005; REIS e GOLDBERG, 2017).

Dados obtidos a partir de pesquisas de marcação e recaptura dos animais mostram que os eventos migratórios das tartarugas marinhas podem alcançar milhares de quilômetros entre as suas áreas de reprodução e alimentação. Isso implica na utilização de uma grande diversidade de habitats, como por exemplo ambientes recifais, bancos de gramíneas marinhas, águas oceânicas e zonas costeiras (GOATLEY et al., 2012). Devido à ampla distribuição, as preferências alimentares também podem variar de acordo com a população que o animal pertence, ou o local em que ele se encontra (POLOVINA et al. 2004; MCMAHON et al., 2007).

Durante os primeiros meses de vida, para todas as espécies de tartarugas marinhas, é comum que os filhotes vivam em zonas pelágicas associados a bancos de algas, se alimentando dos nutrientes disponíveis no local. Os filhotes possuem dieta majoritariamente carnívora, se alimentando de diferentes organismos neustônicos, como crustáceos, celenterados e ctenóforos (HASBÚN, 2002; ARTHUR et al., 2008; WITHERINGTON et al., 2012)

Na fase juvenil, os hábitos alimentares começam a variar de acordo com a espécie. *C mydas*, a partir dos 5 anos de idade, inicia a migração de zonas pelágicas para zonas neríticas, onde passam a se alimentar preferencialmente de macroalgas ou fanerógamas marinhas, mantendo este hábito alimentar em seus estágios de vida posteriores. (REICH et al., 2007, DE PÁDUA ALMEIDA et al., 2011). Já *C. caretta*, durante o estágio juvenil, migra para águas rasas, apresentando uma dieta generalista, preferencialmente carnívora, se alimentando de peixes, moluscos, cnidários e hidrozoários, entre outros organismos (BJORNDAL, 2017; TOMAS et al., 2001, PARKER, 2005, BOYLE e LIMPUS, 2008).

E. imbricata possui hábito alimentar onívoro em sua fase juvenil, alimentando-se de ovos de peixe, cnidários, moluscos, hidrozoários e equinodermos. No entanto, ao se aproximar da fase adulta, os indivíduos dessa espécie passam a se alimentar preferencialmente de poríferos ou outros animais que vivem associados a recifes de corais. A morfologia da ranfoteca (bico córneo) de *E. imbricata*, possibilita que busquem alimentos em fendas rochosas (CARR et al., 1978; SANCHES e BELLINI et al., 2000; LEÓN e BJORNDAL, 2002).

L. olivaceae, apesar de ser prioritariamente carnívora quando filhote, nas demais fases de vida é preferencialmente onívora, se alimentando de macroalgas, crustáceos, moluscos, peixes, urochordados e outros animais. (SPOTILA 2004; REIS e GOLDBERG, 2017). *D. coriaceae*. Também modifica seu hábito alimentar nas fases de vida subsequentes à fase inicial. Essa espécie vive a maior parte de sua vida em ambientes profundos, se alimentando de zooplâncton gelatinoso disperso na coluna d'água (CARR et al., 1997; DE PÁDUA-ALMEIDA et al., 2011).

1.6. Ameaças à conservação das tartarugas marinhas

Apesar de serem protegidas integralmente pela portaria do IBAMA n.º 1.522 de 19 de dezembro de 1989 (BRASIL, 1989), as cinco espécies de tartarugas marinhas que ocorrem no litoral brasileiro encontram-se ameaçadas de extinção a nível regional, nacional e global, de acordo com os dados do Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (ICMBio/MMA, 2018), do PAN para a Conservação das Tartarugas Marinhas (ICMBio/MMA, 2017) e da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN, 2021). A nível regional e nacional, *C. caretta* está classificada como Em Perigo (EN) possuindo status A2abcd, *C. mydas* está classificada como Vulnerável (VU) com status A2ab, *E. imbricata* como Criticamente Ameaçada (CR) com status A2abcde, *L. olivacea* como Em Perigo (EN) com status A2abcde e *D. coriacea* está classificada como Criticamente Ameaçada (CR) possuindo status A2ab. Para nível internacional, *C. caretta* está classificada como Vulnerável (VU), *C. mydas* como Em perigo (EN), *E. imbricata* como Criticamente ameaçada (CR), *L. olivacea* como Vulnerável (VU) e *D. coriacea* também como Vulnerável (VU). Além disso, todas as espécies de tartarugas marinhas que ocorrem na costa brasileira apresentam suas populações em decréscimo.

As principais ameaças às tartarugas marinhas são de origem antrópica (MATTOS, 2017), as quais envolvem exploração desordenada de recursos naturais, descaracterização de habitats, interferência humana nas áreas de desova, ingestão de resíduos sólidos, derramamento de óleo e pesca direta ou indireta (SHIGENAKA et al., 2003; MACEDO et al., 2011; REIS et al., 2011). Com o avanço contínuo da interferência humana nas zonas marinhas e costeiras, essas e demais atividades antrópicas conferem sérios riscos ao desenvolvimento e bem-estar das tartarugas marinhas, resultando na redução significativa das populações desses animais (BUGONI, et. al, 2001; ICMBio, 2017).

A pesca incidental de tartarugas marinhas vem sendo reconhecida como o principal fator de ameaça à conservação das suas espécies (MARCOVALDI et al., 2002; WALLACE, 2010), tanto em escala de pesca industrial como artesanal. Em escala industrial, a pesca de espinhel pelágica e redes de deriva são as que possuem maior risco de interação com as tartarugas, e em escala artesanal, as capturas incidentais em redes de emalhe são as mais significativas (SALES et al., 2008; HAZAN et al., 2020; FIEDLER et al., 2012; GAGLIARDI, 2018). No Brasil, as espécies mais susceptíveis a capturas pelas atividades pesqueira, são *C. mydas*, *D. coriacea* e *C. caretta*. *C. mydas*, por apresentar hábitos alimentares majoritariamente costeiros, se torna mais susceptível a captura pelas técnicas de pesca artesanal, apresentando alta incidência de encalhe nessas regiões, devido ao alto nível de óbito proveniente desta captura (LEWISON et

al., 2004). *D. coriacea* e *C. caretta* são as mais susceptíveis a capturas pela pesca industrial, uma vez que passam grande parte dos seus ciclos de vida em zonas oceânicas (SANTOS et al., 2011; SALES et al., 2008; GAGLIARDI, 2018).

A descaracterização dos habitats costeiros e marinhos em grande escala também tem implicado na redução ou extinção de diversas populações ou comunidades inteiras, devido ao exercício crescente de superexploração de recursos, turismo e urbanização nessas áreas (AMARAL, 2005). Uma das principais ameaças provenientes da descaracterização de habitats para as tartarugas marinhas ocorre pela interferência humana nas áreas de desova. A iluminação artificial, a diminuição da faixa de areia e a condução de veículos na praia dificulta ou impede a nidificação das fêmeas e a ida dos filhotes recém-eclodidos para o mar. Além disso, esses e outros fatores como a estrapolação da capacidade de carga nas zonas costeiras, também podem atuar como grande ameaça à conservação dos ninhos durante o período de incubação (LYRIO, 2003; SILVA et al., 2007, SILVA et al., 2012, LOPEZ, et. al, 2015).

Outro fator capaz de promover riscos para as populações de testudines marinhos é o fenômeno das mudanças climáticas. O aumento da temperatura dos oceanos interfere nas áreas de alimentação dos animais, diminuindo a qualidade e quantidade das fontes de alimento e vias nutricionais. Como consequência, ocorrem oscilações nas taxas de desenvolvimento e reprodução, as quais estão diretamente relacionadas com a aquisição energética (HAMANN et. al, 2003). As mudanças de temperatura também podem influenciar na embriogênese das tartarugas, no qual o aumento da temperatura nas áreas de desova pode causar uma mudança significativa na geração de fêmeas interferindo no equilíbrio das populações (LIMA, 2021). Além disso, o aumento do nível do mar pode gerar interferências nas áreas de desova e em aspectos abióticos como precipitação, umidade, salinidade e trocas gasosas, que são fundamentais no sucesso do desenvolvimento dos filhotes (ACKERMAN, 1997; HAMANN et. al, 2003; FUENTES, et. al, 2009).

Por fim, destaca-se como uma das principais ameaças para esses animais, a contaminação marinha, tanto por lixo sintético quanto por derramamento de óleo. A ingestão de lixo por tartarugas marinhas é considerada um problema mundial, sendo capaz de promover a obstrução do trato digestivo dos animais, configurando alta taxa de mortalidade para as espécies de tartarugas (BJORNDAL et al., 1994; PIERCE et al., 2004; RIZZI et al., 2019). As tartarugas são os vertebrados mais susceptíveis a ingestão de materiais plásticos descartados, os quais representam um dos maiores poluentes do ambiente marinho. A interação com esses materiais varia de intensidade de acordo com o estágio de vida, hábito alimentar e o habitat que o animal

se encontra (IVAR DO SUL e COSTA, 2014; SCHUYLER et al., 2014; LOPEZ-MARTÍNEZ et al., 2021).

Os eventos de derramamento de óleo, por sua vez, também são responsáveis por causar diversas injúrias as populações de tartarugas marinhas, que implicam na redução populacional de suas espécies. Contaminação cutânea, efeitos fisiológicos causados pelo contato com petróleo cru, contaminação das áreas de desova e alimentação são alguns dos principais impactos causados a esses animais pelos escapes de petróleo. Além desses efeitos, também se destaca a bioacumulação de substâncias tóxicas nas tartarugas marinhas, fenômeno capaz de causar sérios efeitos patológicos para os indivíduos a curto ou a longo prazo (YLITALO et al. 2017, HARMS et. al, 2014, MICHEL et. al, 2015). Estudos recentes têm relatado a presença de substâncias tóxicas presentes no petróleo, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de baixo peso molecular e elementos-traço, em tecidos de tartarugas marinhas (CAMACHO et al., 2013; CAMACHO et al., 2014; SINAIE e ZARE, 2019; VILCA et al. 2018; YAGHMOUR et al. 2020; FROSSARD, 2020; DE FARIAS et al., 2022)

O petróleo afeta as tartarugas marinhas de formas diferentes de acordo com seus estágios de vida, no qual cada um desses estágios apresenta maior ou menor potencial à toxicidade dos elementos presentes no resíduo. Os primeiros estágios de vida desses animais geralmente se encontram em maior risco à contaminação do que os indivíduos adultos. Este fato ocorre por conta de questões metabólicas, uma vez que organismos mais jovens não são capazes de realizar processos eficazes de desintoxicação. Além disso, nos primeiros estágios da vida das tartarugas, observa-se uma grande concentração de lipídeos em seu organismo, substância que apresenta grande grau de afinidade com os hidrocarbonetos presentes no petróleo (MILTON e LUTZ, 2003)

1.7. Ecotoxicologia do petróleo

A ecotoxicologia é uma vertente da toxicologia ambiental que estuda os aspectos da contaminação do meio ambiente por poluentes naturais ou sintéticos liberados na natureza a partir de atividades humanas. Tal estudo busca documentar e entender os efeitos negativos causados à dinâmica dos ecossistemas em consequência de agentes químicos ou físicos externos ao meio (MAGALHÃES e FERRÃO-FILHO, 2008).

Os estudos ecotoxicológicos também são responsáveis pela determinação dos níveis de compostos poluentes nos organismos que compõe o ecossistema, a partir de análises químicas e físicas. Dessa forma, é possível estimar os níveis de poluição de uma área, ou a capacidade

poluidora de um determinado contaminante, como o petróleo cru e seus derivados (COSTA et al. 2008).

O petróleo cru é composto majoritariamente de arranjos estruturais de carbono e hidrogênio, denominados hidrocarbonetos, os quais constituem 97% da sua composição. Os outros 3% são compostos por elementos como nitrogênio, oxigênio e enxofre, sais minerais e elementos metálicos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1985).

Desde o período Permiano, quando as primeiras jazidas de petróleo foram formadas, este vem sendo liberado de forma natural no ambiente marinho através de escapes submarinos ou pela erosão de rochas sedimentares (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2003). No entanto, o ritmo crescente na industrialização vem causando um desequilíbrio na liberação do petróleo em ambientes aquáticos, que recebem diretamente o despejo das milhares das substâncias químicas presentes neste resíduo (SILVA, 2004).

A exploração de petróleo no mar, e conseqüentemente a poluição desse ambiente, ocorre de forma crônica, prejudicando recursos naturais vulneráveis e a biodiversidade que utiliza deles. Além desses episódios, os eventos de derramamento de óleo de larga escala, causados muitas vezes por acidentes nos processos de extração, transporte e consumo do petróleo podem ser responsáveis pela degradação rápida e intensa de um determinado habitat, podendo acarretar diversas conseqüências, como o desaparecimento de populações inteiras. Além disso, tais eventos impactam significativamente nas atividades turísticas e pesqueiras das zonas costeiras, provocando impactos negativos no âmbito socioeconômico (WENZL e ZELINKOVA, 2019).

Nos dias atuais, a população mundial é altamente dependente do petróleo, na qual sua indústria gera bilhões de dólares a cada ano (JURBERG, 2016). Embora esse resíduo seja um dos mais importantes na movimentação da economia mundial, também é reconhecido como uma das maiores fontes de poluição ao ambiente marinho, comprometendo a manutenção de espécies chaves, como as representantes das tartarugas marinhas.

As populações de tartarugas marinhas são consideradas altamente vulneráveis a poluição por petróleo. Nos últimos 60 anos, foram documentados mais de 2 mil eventos de derramamento de óleo em zonas importantes para reprodução, alimentação e desenvolvimento de tartarugas marinhas. No entanto, os efeitos negativos causados às suas populações foram documentados em menos de 10% desses eventos (WALLACE et al., 2020).

Em 2010, no Golfo do México, ocorreu o maior derramamento de petróleo já registrado até os dias atuais, o Deepwater Horizon, no qual foram liberados mais de 750 milhões de litros de óleo no mar (NRDA TRUSTEES, 2016).

Pesquisas realizadas após esse evento, apontaram alguns dos efeitos resultantes às populações de tartarugas marinhas, em diferentes espécies, estágios de vida e habitats, como a presença de resíduos oleosos em exemplares encontrados vivos ou mortos durante o recolhimento do petróleo na zona pelágica e nerítica (YLITALO et al. 2017); efeitos patológicos e fisiológicos causados às tartarugas pelo contato com petróleo cru (HARMS et al. 2014) e impactos do derramamento e do recolhimento dos resíduos nos sítios de nidificação de tartarugas durante a época de desova (MICHEL et al. 2015).

Recentemente, foi documentada a contaminação por petróleo cru em 882 localidades costeiras do Nordeste do Brasil, por uma extensão de mais de 4.000 quilômetros (SOARES et al. 2020; IBAMA, 2020). Ambientes costeiros, estuarinos, coralíneos e pelágicos foram atingidos, nas quais os efeitos causados por esse derramamento ainda estão sob análise (MAGALHÃES et al., 2021).

Desde o começo do aparecimento do petróleo na zona costeira do Nordeste, foram feitos constantes reportes de animais encontrados totalmente oleados, entre estes, as tartarugas marinhas foram as mais atingidas, documentando-se 105 animais nesse estado até o começo de 2020 (IBAMA, 2020). Após uma série de investigações a respeito do ocorrido, a polícia federal constatou que o navio petroleiro grego Bouboulina foi o responsável pelo derrame. porém, sabe-se que atividades ilegais de exploração petroleira, que funcionam sem o monitoramento e fiscalização efetiva, contribuem para a ocorrência desses acidentes, representando ameaça intensa à biodiversidade (DISNER e TORRES, 2020).

O despejo de contaminantes presentes no petróleo e seus derivados cria um cenário vulnerável para a vida marinha, sendo mais uma das consequências causadas em prol atividades antrópicas realizadas nesse habitat (DISNER e TORRES, 2020; FIORAVANTI, 2020)

Conforme citado anteriormente, tais eventos impactam diretamente as tartarugas marinhas, que quando entram em contato com petróleo presente na água podem sofrer danos como ineficiência no seu desenvolvimento, contaminação dos sistemas e órgãos vitais, além de propiciar a bioacumulação de substâncias tóxicas nos animais, acarretando riscos à longo prazo (NEGRÃO, 2009).

Quanto a bioacumulação de tais substâncias, tem-se como exemplo, evidências de que alguns dos elementos metálicos, também denominados elementos traço, presentes no petróleo bruto, como arsênio (As), cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni), chumbo (Pb), manganês (Mn) e cádmio (Cd), quando acumulados em tecidos vivos são responsáveis por causar várias

enfermidades, incluindo neurotoxicidade, desenvolvimento de tumores e imunotoxicidade (ATSDR, 2009).

1.8. Hidrocarbonetos do petróleo

O petróleo é uma substância originada a partir de matéria orgânica, que foi sujeita à diversas transformações em sua composição devido a ações microbianas e posteriormente submetida a altas pressões e temperaturas (SPEERS e WITHEHEAD, 1969). Cada óleo formado a partir desses processos, apresenta diferentes características, tanto físicas como químicas, o que torna impossível uma definição categórica do petróleo. No entanto, a grande quantidade de hidrocarbonetos presente neste produto, faz deles os maiores indicadores da poluição por derramamentos de óleo (SZEWCZYK, 2006).

Os hidrocarbonetos que fazem parte da composição do petróleo são compostos formados por carbono e hidrogênio sendo divididos de acordo com o arranjo estrutural dos seus átomos e o seu peso molecular (DOERFFER, 2013; SZEWCZYK, 2006). Tais hidrocarbonetos são divididos em saturados, aromáticos, cíclicos e oleofinas. Os hidrocarbonetos saturados do petróleo são representados majoritariamente por alcanos, que são compostos de cadeia aberta e possuem apenas ligações simples entre os elementos carbono e hidrogênio. Também podem estar presentes na composição do petróleo os hidrocarbonetos saturados cicloalcanos, os quais apresentam a mesma estrutura de carbono e hidrogênio, porém os carbonos são ligados uns aos outros em forma de anéis (NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al., 2003).

Os hidrocarbonetos aromáticos são compostos de carbono e hidrogênio que contém pelo menos um anel benzênico em sua estrutura. Essas substâncias podem representar até 20% da composição total do petróleo. Os hidrocarbonetos aromáticos podem ser divididos em monoaromáticos e policíclicos aromáticos. Os monoaromáticos apresentam apenas um anel benzênico, sendo geralmente referenciados como compostos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno). Já os policíclicos aromáticos, ou polinucleados, apresentam dois ou mais anéis aromáticos em sua composição (COLLIER, et al. 2014).

As oleofinas são hidrocarbonetos insaturados, apresentando pelo menos uma ligação dupla entre dois carbonos. Esses hidrocarbonetos são raramente encontrados no petróleo cru (NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al., 2003).

Dentre os compostos citados, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) podem ser considerados os mais tóxicos dessa classe de substâncias, uma vez que são poluentes persistentes, solúveis em água e muitos deles apresentam potencial carcinogênico e/ou mutagênico para homens e animais (BANSAL et al., 2015).

1.9. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos orgânicos presentes no petróleo cru e seus derivados, que possuem dois ou mais anéis benzênicos conjugados por cinco ou seis átomos de carbono adjacentes. Os HPAs são classificados como pirolíticos ou petrogênicos. Os HPAs pirolíticos são derivados da queima incompleta de matéria orgânica e os petrogênicos são aqueles derivados do petróleo (COLLIER, et al. 2014). Os HPAs petrogênicos contém geralmente baixo peso molecular, possuindo de 2 a 3 anéis aromáticos fundidos, geralmente apresentando algum dos seus átomos de carbono substituídos por radicais alquilas (etil, metil, dimetil, trimetil, entre outros). Já os HPAs pirolíticos possuem maior peso molecular, apresentando de 4 a 7 anéis aromáticos fundidos e não possuem substituições alquila em suas estruturas (COLLIER et al. 2014; ROMERO et al., 2018).

Os HPAs são vastamente distribuídos na natureza, sendo encontrados na atmosfera, água, sedimentos e biota. Suas características físico-químicas e seus processos de transformação como solubilidade, volatilização, fotoquímica, adsorção e degradação, determinam o destino desses compostos do meio ambiente (NEFF, 2002; STOUT et al., 2002; WANG e STOUT, 2007). A estrutura espacial dos HPAs faz com esses compostos sejam altamente resistentes à biodegradação, o que se torna preocupante visto que são contaminantes potencialmente cancerígenos quando bioacumulados e biotransformados pelo metabolismo dos animais e seres humanos (LOURENÇO et al., 2016; BAIRD e CANN, 2011; MANAHAN, 2000), tendo a capacidade de modificar a estrutura do DNA que pode implicar na formação de tumores (IGWE e UKAOGO, 2015).

Quanto às tartarugas marinhas, estudos tem registrado a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos retidos em diferentes tecidos dos animais, indicando contaminação (ALAM e BRIM, 2000; DWH NRDA TRUSTEES 2016, CAMACHO et al., 2012; CAMACHO et al., 2013 SHIGENAKA et al. 2003; MITCHELMORE et al. 2017, VILCA, 2018). No entanto, os estudos que envolvem os níveis de toxicidade sob as tartarugas marinhas são muito mais focados nos efeitos físicos causados pelo contato com o resíduo (WALLACE, 2020).

1.10. Elementos-traço

Os elementos traço são caracterizados por metais catiônicos e aniônicos quando se encontram retidos em baixas concentrações (aproximadamente $< 0,1 \text{ dag kg}^{-1}$) (ESSINGTON, 2004). De acordo com sua classificação e concentração, esses elementos tratam-se de componentes associados à poluição e a alta toxicidade (HOMEM, 2001).

Para os organismos vivos, os elementos-traço podem ser classificados como essenciais ou não essenciais, além daqueles que podem estar casualmente presentes. Os elementos traço essenciais são aqueles que são indispensáveis para a vida dos organismos. No entanto, esses devem estar presentes em uma determinada concentração, pois, a partir de certa quantidade se tornam tóxicos. Alguns exemplos de elementos traço essenciais são o zinco (Zn), o cobre (Cu), o manganês (Mn), o selênio (Se), o ferro (Fe), o níquel (Ni), o cobalto (Co) e o alumínio (Al). Os elementos traço não essenciais, também chamados de tóxicos ou popularmente de “metais pesados”, são aqueles que são nocivos aos organismos ainda que em diminutas concentrações, tendo-se como exemplo os elementos bário (Ba), chumbo (Pb), cromo (Cr) e mercúrio (Hg) (LIMA e MERÇON, 2011, RODRIGUEZ, 2019; AGOSTINHO, et al., 2020).

Esses compostos podem ser lançados na natureza por diversas ações antrópicas como os mais variados processos industriais, queima de combustíveis fósseis, mineração, e derramamentos de petróleo, causando inúmeros prejuízos à saúde de ambientes pelágicos e costeiros, como os manguezais (ALENCAR, et al., 2016). Uma vez despejadas, essas substâncias geralmente ficam dissolvidas na coluna d’água ou associadas a elementos orgânicos na forma de complexos organo-metálicos (HAYASHI, 2001).

Parte desses componentes apresentam alto potencial ecotoxicológico e não atuam em processos bioquímicos naturais dos organismos. Com isso, a ingestão ou o contato com elementos como chumbo, cádmio e mercúrio, por exemplo, pode acarretar uma série de patologias em organismos vivos, como desordens gastrointestinais, neurológicas, respiratórias, reprodutivas, imunológicas, cancerígenas e entre outras, mesmo que esses estejam em pequenas concentrações (MARCOTRIGIANO e STORELLI, 2003; JÄRUP, 2003; PRIOSTE, 2016). Tais patologias e riscos à saúde dos organismos depende do elemento em questão e das características metabólicas do organismo, as quais envolvem os processos bioquímicos do elemento e sua excreção (JAKIMSKA et al., 2011).

As tartarugas marinhas são caracterizadas como susceptíveis a bioacumulação desses compostos poluentes, visto que estão expostas a diversos habitats no ecossistema marinho e possuem grande variabilidade em sua alimentação (MAFFUCCI et al., 2005; JEREZ et al., 2010; FINLAYSON et al., 2016). A contaminação dos indivíduos por elementos traço podem contribuir significativamente para o comprometimento da sua atividade imunológica, não só para as tartarugas, mas para toda a fauna marinha.

Para os testudines marinhos, alguns estudos relacionam a presença de contaminantes nos animais com patologias fisiológicas ou morfológicas (CAMACHO et al., 2013; PRIOSTE,

2016; ÁLVAREZ-VARAS et al., 2017; SILVA et al., 2016; CORTÉS-GÓMEZ et al., 2018; MIGUEL, et al., 2022).

Sabe-se que existe relação entre a presença de doenças imunológicas, como a fibropapilomatose, e as concentrações de elementos como Pb, Cd e Fe (SILVA et al., 2016). Esses resultados mostram que a presença de tais elementos tornam as tartarugas susceptíveis a contaminação pelo vírus do fibropapiloma, causando tumores ao longo do seu corpo e dificultando a sua locomoção, propiciando a ocorrência de encalhes (FLINT et al., 2015).

Também foi identificada aspectos adversos na população de tartarugas verdes que forrageiam próximo a Foz do Rio Doce, que caracteriza uma área contaminada devido ao derramamento de rejeitos minerais, contendo altos níveis de arsênio (As), cádmio (Cd), cobre (Cu), cromo (Cr), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), manganês (Mn), níquel (Ni) e selênio (Se) (IGAM, 2015; MB, 2016). Em comparação com outra população de tartarugas verdes, que forrageia fora do raio de contaminação acometido pelos rejeitos, os indivíduos apresentaram níveis significativamente maiores de concentrações de metais pesados no fluido sanguíneo, assim como maior presença de fibropapilomatose ao longo do corpo e ectoparasitos em sua carapaça. Os níveis de metais no sangue também foram relacionados significativamente com disfunções fisiológicas causadoras de danos hepáticos e renais.

Esses resultados indicam que os animais que forrageiam próximos as áreas contaminadas tendem a desenvolver um déficit fisiológico que pode resultar em sérios danos imunológicos, portanto, sugere que áreas atingidas por acidentes ambientais que envolvem a dispersão de contaminantes seus organismos monitorados (MIGUEL et al., 2022).

A quantificação da concentração de elementos traço essenciais e não essenciais em diferentes tecidos de tartarugas marinhas, as quais são expostas de forma crônica a esses poluentes em todas as fases do seu ciclo de vida, possibilita avaliar os impactos que a bioacumulação desses compostos traz direta ou indiretamente para o desenvolvimento dos animais. Tal análise também permite conhecer a saúde dos ambientes estudados, através de pesquisas de biomonitoramento, utilizando as tartarugas marinhas como espécie modelo (FINLAYSON et al., 2016; PREEZ et al., 2018).

2. REFERÊNCIAS

ACKERMAN, R. A. The nest environment and the embryonic development of sea turtles. In: **The biology of sea turtles**. CRC Press, Boca Raton, p. 83-106, 2017.

AGOSTINHO, K. F. F. et al. Trace elements in green turtles (*Chelonia mydas*) from Rocas Atoll, NE Brazil: Baseline reference from a pristine nesting site. **Marine Pollution Bulletin**, v. 157, p. 111271, 2020.

ALAM, S. K.; BRIM, M. S. Organochlorine, PCB, PAH, and metal concentrations in eggs of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from northwest Florida, USA. **Journal of Environmental Science & Health Part B**, v. 35, n. 6, p. 705-724, 2000.

ALENCAR, T. D. S. et al. Contaminação por metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo: uma ameaça para os manguezais. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego, Campo dos Goytacazes/RJ**, v. 10, n. 2, p. 7-24, 2016.

ÁLVAREZ-VARAS, R. et al. Ecology, health and genetic characterization of the southernmost green turtle (*Chelonia mydas*) aggregation in the Eastern Pacific: implications for local conservation strategies. **Latin american journal of aquatic research**, v. 45, n. 3, p. 540-554, 2017.

AMARAL, C. Z. et al. Avaliação e Ações Prioritárias para a Conservação da Biodiversidade da Zona Costeira e Marinha. **Workshop - Base De Dados Tropical**. Coordenadores: AMARAL, C. Z.; MORGADO, E. H.; PEREIRA, F. P.; GIANUCA, M. N. 2005.

ANDERSSON, J. T.; ACHTEN, C. Time to say goodbye to the 16 EPA PAHs? Toward an up-to-date use of PACs for environmental purposes. **Polycyclic aromatic compounds**, v. 35, n. 2-4, p. 330-354, 2015.

ARTHUR, K. E.; BOYLE, M. C.; LIMPUS, C. J. Ontogenetic changes in diet and habitat use in green sea turtle (*Chelonia mydas*) life history. **Marine Ecology Progress Series**, v. 362, p. 303-311, 2008.

ATSDR (U.S. Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry). **Children's Exposure to Elemental Mercury: A National Review of Exposure Events**, 2009. Disponível em www.atsdr.cdc.gov/mercury/docs/MercuryRTCFinal2013345.pdf Acesso em: 4 de maio de 2022.

BAIRD, C., CANN, M. **Química Ambiental**. Bookman, Porto Alegre, 4a ed., 50p., 2011.
BARATA, P. C. R.; FABIANO, F. F. C. Evidence for Leatherback Sea Turtle (*Dermochelys coriacea*) Nesting in Arraial do Cabo, State of Rio de Janeiro, and a Review of Occasional Leatherback Nests in Brazil. **Marine Turtle Newsletter**, v. 96, n. 1, p. 13-16, 2002.

BJORNDAL, Karen A. Foraging ecology and nutrition of sea turtles. In: **The biology of sea turtles**. CRC press, Orlando, p. 199-231, 2017.

BJORNDAL, K. A.; BOLTEN, A. B.; LAGUEUX, C. J. Ingestion of marine debris by juvenile sea turtles in coastal Florida habitats. **Marine pollution bulletin**, v. 28, n. 3, p. 154- 158, 1994.

BOLTEN, A.B. et al. Variation in sea turtle life history patterns: neritic vs. oceanic developmental stages. **The biology of sea turtles**, v. 2, p. 243-257, 2003.

BOWEN, B. W.; KARL, S. A. Population genetics and phylogeography of sea turtles. **Molecular ecology**, v. 16, n. 23, p. 4886-4907, 2007.

BOYLE, M. C.; LIMPUS, C. J. The stomach contents of post-hatchling green and loggerhead sea turtles in the southwest Pacific: an insight into habitat association. **Marine Biology**, v. 155, n. 2, p. 233-241, 2008.

BRASIL. **Lista oficial de espécies de fauna brasileira ameaçada de extinção**, PORTARIA Nº 1.522, DE 19 DE DEZEMBRO DE 1989. Disponível em <www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/1989/p_ibama_1522_1989_e_p_ibama_45_n_1992_revogada_listaespeciesameacadasextincao_alterada_p_ibama_28_1998_revogada_in_mma_03_2003.pdf> Acesso: 03 de maio de 2022.

BRASIL. **Plano de Ação Nacional para a Conservação das Tartarugas Marinhas**, PORTARIA Nº 287, DE 26 DE ABRIL DE 2017. Disponível em <www.icmbio.gov.br/centrotamar/plano-de-acao-nacional-para-conservacao-das-tartarugas-marinhas>. Acesso em: 9 de abril de 2021.

BUGONI, L.; KRAUSE, L.; PETRY, M. V. Marine debris and human impacts on sea turtles in southern Brazil. **Marine pollution bulletin**, v. 42, n. 12, p. 1330-1334, 2001.

CAMACHO, M. et al. Comparative study of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plasma of Eastern Atlantic juvenile and adult nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 9, p. 1974-1980, 2012.

CAMACHO, M. et al. Crude oil as a stranding cause among loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the Canary Islands, Spain (1998–2011). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 49, n. 3, p. 637-640, 2013.

CAMACHO, M. et al. Monitoring organic and inorganic pollutants in juvenile live sea turtles: results from a study of *Chelonia mydas* and *Eretmochelys imbricata* in Cape Verde. **Science of the Total Environment**, v. 481, p. 303-310, 2014.

CARR, A.; HIRTH, H. Social facilitation in green turtle siblings. **Animal Behaviour**, v. 9, n. 1-2, p. 68-70, 1961.

CARR, A. F.; CARR, M. H.; MEYLAN, A. B. The ecology and migrations of sea turtles. 7, The West Caribbean green turtle colony. **Bulletin of the AMNH**; v. 162, n. 1. 1978.

COLLIER, T. K. Forensic Ecotoxicology. In: **From Sources to Solution**. Springer, Singapore, p. 503-506, 2014.

CORTÉS-GÓMEZ, A. A. et al. Molecular oxidative stress markers in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) and their relation to metal concentrations in wild populations. **Environmental Pollution**, v. 233, p. 156-167, 2018.

DE FARIAS, D. S. D. et al. Bioaccumulation of total mercury, copper, cadmium, silver, and selenium in green turtles (*Chelonia mydas*) stranded along the Potiguar Basin, northeastern Brazil. **Chemosphere**, v. 299, p. 134331, 2022.

DE PÁDUA ALMEIDA, A. et al. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira-BioBrasil*, n. 1, 2011.

DE SANTANA CAMPELO, R. P. et al. Oil spills: The invisible impact on the base of tropical marine food webs. *Marine Pollution Bulletin*, v. 167, p. 112281, 2021.

DISNER, G. R.; TORRES, M. The environmental impacts of 2019 oil spill on the Brazilian coast: Overview. *Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade*, v. 7, n. 15, p. 241-256, 2020.

DOERFFER, J. W. **Oil spill response in the marine environment**. Pergamon Press, Polônia, 245 p. 2013.

DOYLE, T. K. et al. Leatherback turtles satellite-tagged in European waters. *Endangered Species Research*, v. 4, n. 1-2, p. 23-31, 2008.

DWH NRDA (Deepwater Horizon Natural Resource Damage Assessment) Trustees. Deepwater Horizon oil spill programmatic damage assessment and restoration plan and programmatic environmental impact statement. **DWH NRDA**, 2016. Disponível em Acesso: Junho de 2021.

EHRHARDT, M. G.; BURNS, K. A.; BICEGO, M. C. Sunlight-induced compositional alterations in the seawater-soluble fraction of a crude oil. *Marine Chemistry*, v. 37, n. 1-2, p. 53-64, 1992.

ESSINGTON, M. E. **Soil and water chemistry: an integrative approach**. CRC Press, Boca Raton, 534p., 2004.

FIEDLER, F. N. et al. Driftnet fishery threats sea turtles in the Atlantic Oceanic. *Biodiversity Conservation*, v. 21, p. 915-931, 2012.

FINLAYSON, K. A. The current state and future directions of marine turtle toxicology research. *Environment international*, v. 94, p. 113-123, 2016.

FIORAVANTI, C. **Os caminhos da mancha**. 2019. Disponível em <revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2019/12/048-050_Oleo_286.pdf> Acesso em: 2 de abril de 2020.

FLINT, M. et al. Clinical and pathological findings in green turtles (*Chelonia mydas*) from Gladstone, Queensland: investigations of a stranding epidemic. *EcoHealth*, v. 12, n. 2, p. 298-309, 2015.

FRAZIER, J. G. Prehistoric and ancient historic interactions between humans and marine turtles. *The biology of sea turtles*, v. 2, p. 1-38, 2003.

FRAZIER, J. G. Marine turtles: the role of flagship species in interactions between people and the sea. *Mast*, v. 4 n. 1 p. 5 – 38, 2005.

- FROSSARD, A. Avaliação ecotoxicológica de metais em testudines. **Tese de Doutorado**, Universidade de Vila Velha, Espírito Santo, Brasil, 2020.
- FUENTES, M. M. P. B. et al. Proxy indicators of sand temperature help project impacts of global warming on sea turtles in northern Australia. **Endangered Species Research**, v. 9, n. 1, p. 33-40, 2009.
- GAFFNEY, E. S., P. A. MEYLAN. A phylogeny of turtles. In: **The phylogeny and classification of the tetrapods**, v. 1, p. 157–219, Clarendon Press, Oxford, 1988.
- GAGLIARDI, T. R.; LOPES, T. C.; SERAFINI, T. Z. Interação de tartarugas marinhas e a pesca no Brasil: Uma revisão da literatura. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 51, n. 1, p.101-124, 2018.
- GANDU, M. D. Evidence of Leatherback Nesting Activity in Northern Bahia, Brazil Mariana Duarte Gandu, Daphne Wrobel Goldberg, Gustave Gilles Lopez & Frederico Tognin. **Marine Turtle Newsletter**, v. 141, p. 10-12, 2014.
- GOATLEY, C. H. R et al. The role of turtles as coral reef macroherbivores. *PloS one*, v. 7, n. 6, p. 39979, 2012.
- GUIMARÃES, E. S.; MOURA, G. J. B.; LINS, E. A. M. Aspectos Ecológicos de *Eretmochelys imbricata* entre os anos 2000 e 2008 nas praias de Ipojuca-PE e lista comentada das espécies de tartarugas marinhas ocorrentes no Estado de Pernambuco. In: MOURA, G. J. B.; SANTOS, E. M.; OLIVEIRA, M. A. B.; CABRAL, M. C. C. **Herpetologia do Estado de Pernambuco**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, p.305-317, 2010.
- HAMANN, M. et al. Reproductive cycles of males and females. In: **The Biology of Sea Turtles**; LUTZ, P. L., MUSICK, J. A., WYNEKEN, J. Eds, p. 135-161, 2003.
- HARITASH, A. K.; KAUSHIK, C. P. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. **Journal of hazardous materials**, v. 169, n. 1-3, p. 1-15, 2009.
- HARMS C. A. Clinical pathology effects of crude oil and dispersant on hatchling loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). In: **Proc 45th Annual Meet Int Association Aquatic Animal Medicine**, Gold Coast, 2014.
- HASBÚN, C. R. Observations on the first day dispersal of neonatal hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*). **Marine Turtle Newsletter**, v. 96, p. 7-10, 2002.
- HAYASHI, A.M. Remoção de cromo hexavalente através de processos de biossorção em algas marinhas. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Unicamp, Campinas – SP, 2001.
- HAZAN, A. et al. Reconstrução dos conhecimentos sobre pesca acidental de tartarugas marinhas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 31217-31233, 2020.
- HEPPELL, S. S.; SNOVER, M. L.; CROWDER, L. B. 11 Sea Turtle Population Ecology. In: **The Biology of Sea Turtles**; LUTZ, P. L., MUSICK, J. A., WYNEKEN, J. Volume II, v. 2, p. 275, 2003.

HOMEM, E. M. Remoção de chumbo, níquel e zinco em zeólita utilizando sistema de leito fluidizado. 112p. **Dissertação de mestrado** - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP, 2001.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Boletim Fauna Atingida: Manchas de Óleo, Nordeste brasileiro. Brasília, 2020.

ICMBio/MMA. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília, DF. v. 1, 1º ed., 492 p., 2018.

IGAM, 2015. **Relatório Técnico Acompanhamento da Qualidade das Águas do Rio Doce Após o Rompimento da Barragem da Samarco no distrito de Bento Rodrigues**. Disponível em <www.igam.mg.gov.br/component/content/article/16/1632monitoramento-da-qualidadedas-aguas-superficiais-do-rio-doce-no-estado-de-minas-gerais>. Acesso: 29 de abril de 2022.

IGWE, J. C.; UKAOGO, P. O. Environmental effects of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Natural Sciences Research**, v. 5, n. 7, p. 117-132, 2015.

IUCN. The IUCN **Red List of Threatened Species**. Versão 2021. Disponível em <www.iucnredlist.org> Acesso em: 21 de dezembro de 2021.

IVAR DO SUL, J. A.; COSTA, M. F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. **Environmental pollution**, v. 185, p. 352-364, 2014.

JAKIMSKA, A. et al. Bioaccumulation of Metals in Tissues of Marine Animals, Part I: the Role and Impact of Heavy Metals on Organisms. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 20, n. 5, 2011.

JÄRUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **British medical bulletin**, v. 68, n. 1, p. 167-182, 2003.

JEREZ, S. et al. Accumulation and tissue distribution of heavy metals and essential elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Spanish Mediterranean coastline of Murcia. **Chemosphere**, v. 78, n. 3, p. 256-264, 2010.

JURBERG, R. F. A evolução da indústria petrolífera mundial e os impactos no comércio internacional de petróleo do século XXI após o início da exploração de fontes não convencionais pelos Estados Unidos. **Monografia**, Instituto de Economia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2016.

LEÓN, Yolanda M.; BJORNDAL, Karen A. Selective feeding in the hawksbill turtle, an important predator in coral reef ecosystems. **Marine Ecology Progress Series**, v. 245, p. 249-258, 2002.

LEWISON, R. L. et al. Understanding impacts of fisheries bycatch on marine megafauna. **Trends in ecology & evolution**, v. 19, n. 11, p. 598-604, 2004.

LIMA, E. H. S. M. et al. Green turtle found dead on the coast of Ceará, Brazil. **Marine Turtle Newsletter**, n. 135, p. 18, 2012.

- LIMA, V. F.; MERÇON, F. Metais pesados no ensino de química. **Química nova na escola**, v. 33, n. 4, p. 199-205, 2011.
- LOEBMANN, D. et al. Dermochelys coriacea (leatherback sea turtle) nesting. **Herpetological Review**, p. 81, 2008.
- LÓPEZ, G. G. et al. Desvendando o mistério dos “anos perdidos”: telemetria por satélite de juvenis de tartaruga cabeçuda (*Caretta caretta*) nos estágios iniciais de vida. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE HERPETOLOGIA**, Salvador, BA. Anais, p. 362, 2013.
- LOPEZ, G. G. et al. Coastal development at sea turtles nesting ground: Efforts to establish a tool for supporting conservation and coastal management in northeastern Brazil. **Ocean & Coastal Management**, v. 116, p. 270-276, 2015.
- LÓPEZ-MARTÍNEZ, Sergio et al. Overview of global status of plastic presence in marine vertebrates. **Global Change Biology**, v. 27, n. 4, p. 728-737, 2021.
- LOURENÇO, R. A. et al. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in a produced water disposal area in the Potiguar Basin, Brazilian equatorial margin. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 17, p. 17113-17122, 2016.
- LUSCHI, P. et al. Marine turtles use geomagnetic cues during open-sea homing. **Current Biology**, v. 17, n. 2, p. 126-133, 2007.
- LYRIO, R. S. Revisão do Diagnóstico Sócio-Ambiental, consolidado numa proposta de zoneamento e plano de gestão. **GOVERNO DO ESTADO DA BAHIA, SECRETARIA DE MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS (SEMARH) & CENTRO DE RECURSOS AMBIENTAIS (CRA)**, 2003.
- MACEDO, G. R. et al. Ingestão de resíduos antropogênicos por tartarugas marinhas no litoral norte do estado da Bahia, Brasil. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1938-1941, 2011.
- MAFFUCCI, F. et al. Trace element (Cd, Cu, Hg, Se, Zn) accumulation and tissue distribution in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the Western Mediterranean Sea (southern Italy). **Chemosphere**, v. 58, n. 5, p. 535-542, 2005.
- MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. **A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos**. 2008.
- MAGALHÃES, K. M. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. **Marine Pollution Bulletin**, v. 175, p. 113334, 2022.
- MANAHAN, S.E., 2000. **Environmental Chemistry** 7^o ed. Lewis Publisher, Boca Raton, Florida
- MARCOVALDI, M. A. et al. Brazilian plan for reduction of incidental sea turtle capture in fisheries. **Marine Turtle Newsletter**, v. 96, p. 24-25, 2002.
- MARCOVALDI, M. A.; CHALOUPIKA, M. Conservation status of the loggerhead sea turtle in Brazil: an encouraging outlook. **Endangered Species Research**, v. 3, n. 2, p. 133-143, 2007.

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

MARCOVALDI, M. A. et al. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira-BioBrasil*, n. 1, 2011.

MATTOS, V. R. et al. Resíduos antropogênicos no ambiente marinho, Uma ameaça à sobrevivência das Tartarugas Marinhas que ocorrem na costa brasileira. **XII Semana Científica Unisalle (SEFIC)**, Canoas – RS, 2016.

Relatório de levantamento hidroceanográfico da Marinha do Brasil, Navio de pesquisa hidroceanográfico “Vital de Oliveita”, 2016 Disponível em <agenciabrasil.ebc.com.br/sites/_agenciabrasil2013/files/files/Levantamento_Ambiental_Marinha.pdf>. Acesso em: 28 de abril de 2022.

MCARTHUR, S.; WILKINSON, R.; MEYER, J. **Medicine and surgery of tortoises and turtles**. John Wiley & Sons, 2008.

MEYLAN, A. B. Status of the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in the Caribbean region. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 3, n. 2, p. 177-184, 1999.

MICHEL J.; FEGLEY S.; DAHLIN J. Deepwater Horizon Sandy Beach injury assessment. **Technical Report DWH-AR 010 4418**, 2015.

MIGUEL, C. et al. Health condition of *Chelonia mydas* from a foraging area affected by the tailings of the collapsed dam in southeast Brazil. **Science of The Total Environment**, p. 153353, 2022.

MITCHELMORE, C. L.; BISHOP, C. A.; COLLIER, T. K. Toxicological estimation of mortality of oceanic sea turtles oiled during the Deepwater Horizon oil spill. **Endangered Species Research**, v. 33, p. 39-50, 2017.

MILTON, S. L.; LUTZ, P. L. Physiological and genetic responses to environmental stress. **The biology of sea turtles**, v. 2, 2003.

MONTEIRO, D.; BUGONI, L.; ESTIMA, S. Strandings and sea turtle fisheries interactions along the coast of Rio Grande do Sul state, Brazil. In: **Book of Abstracts**, p. 257, 2007.

MORTIMER, J. A. Reducing threats to eggs and hatchlings: hatcheries. In: Research and management techniques for the conservation of sea turtles. Washington, DC: IUCN/SSC **Marine Turtle Specialist Group**, p. 175-178, 1999.

MOURA, G. J. B. et al. Distribuição geográfica e caracterização ecológica dos répteis do estado de Pernambuco. **Herpetologia do Estado de Pernambuco**, v. 1, p. 229-290, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. **Oil in the sea: inputs, fates, and effects**. National Academies Press, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. **Oil in the sea III: inputs, fates, and effects**. National Academies Press, 2003.

NEFF, J. M. **Bioaccumulation in marine organisms: effect of contaminants from oil well produced water**. Elsevier, 439p, Massachusetts, 2002.

NEGRÃO, R. G. Tartarugas Marinhas: Hábitos e Aspectos da Biologia da Reprodução e as Causas da Extinção Devido a Ação Antrópica. 2009. Disponível em: www.webartigos.com. Acesso em: 20 de julho de 2020.

OHIOZEBAU, E. et al. Potential health risks posed by polycyclic aromatic hydrocarbons in muscle tissues of fishes from the Athabasca and Slave Rivers, Canada. **Environmental geochemistry and health**, v. 39, n. 1, p. 139-160, 2017.

PAOLUCCI, M.; ROCCO, M.; VARRICCHIO, E. Leptin presence in plasma, liver and fat bodies in the lizard *Podarcis sicula*: fluctuations throughout the reproductive cycle. **Life Sciences**, v. 69, n. 20, p. 2399-2408, 2001.

PARKER, D. M.; COOKE, W. J.; BALAZS, G. H. Diet of oceanic loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the central North Pacific. **Fishery Bulletin**, v. 103, p. 142-152, 2005.

PIERCE, K. E. et al. Obstruction and starvation associated with plastic ingestion in a Northern gannet *Morus bassanus* and a Greater shearwater *Puffinus gravis*. **Marine Ornithology**, v. 32, p. 187-189, 2004.

POLOVINA, J. J. et al. Forage and migration habitat of loggerhead (*Caretta caretta*) and olive ridley (*Lepidochelys olivacea*) sea turtles in the central North Pacific Ocean. **Fisheries Oceanography**, v. 13, n. 1, p. 36-51, 2004.

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. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2016.

PRITCHARD, P. C. Una nueva interpretación de las tendencias poblacionales de las tortugas golfinas y loras en México. **Noticiero de Tortugas Marinas**, v. 76, p. 12-14, 1997.

PRITCHARD, P. C. H.; J. A. MORTIMER. Taxonomy, External Morphology, and Species Identification, p. 21-38. In: Karen L. Eckert, Karen A. Bjorndal, F. Alberto, Abreu G. and Marydele Donnelly (eds.), Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC **Marine Turtle Specialist Group**, n. 4, 1999.

RAPHAEL, B. L. Chelonians (turtles, tortoises). **Zoo and Wild Animal Medicine**. p. 48-58, 2003.

REICH, K. J.; BJORNDAL, K. A.; BOLTEN, A. B. The 'lost years' of green turtles: using stable isotopes to study cryptic lifestages. **Biology letters**, v. 3, n. 6, p. 712-714, 2007.

REIS, E. C.; DE MOURA, J. F.; SICILIANO, S. Tartarugas marinhas do estado do Rio de Janeiro, Brasil: diversidade, distribuição, sazonalidade e ameaças. **V Jornada De Pesquisa e Conservação De Tartarugas Marinhas Do Atlântico Sul Ocidental (ASO)**, p. 27, 2011.

REIS, E. C.; GOLDBERG, D. W. Biologia, ecologia e conservação de tartarugas marinhas. In: Reis, Estéfane Cardinot; Curbelo-Fernandez, Maria Patrícia, editoras. Mamíferos, quelônios e

aves: caracterização ambiental regional da Bacia de Campos, Atlântico Sudoeste. Rio de Janeiro: **Elsevier**. Habitats, v. 7. p. 63-89, 2017.

RIZZI, M. et al. Ingestion of plastic marine litter by sea turtles in southern Brazil: abundance, characteristics and potential selectivity. **Marine pollution bulletin**, v. 140, p. 536-548, 2019.

RODRIGUEZ, C. A. B. et al. Mercury and methylmercury in carapace of the marine turtle *Caretta caretta*, in northeastern Brazil and its potential for environmental monitoring. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.

ROMERO, I. C. et al. Decadal assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in mesopelagic fishes from the Gulf of Mexico reveals exposure to oil-derived sources. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 19, p. 10985-10996, 2018.

SALES, G.; GIFFONI, B. B.; BARATA, P. C. Incidental catch of sea turtles by the Brazilian pelagic longline fishery. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 88, n. 4, p. 853-864, 2008.

SANTOS, A. J. B. et al. Northeast Brazil shows highest hawksbill turtle nesting density in the South Atlantic. **Endangered Species Research**, v. 21, n. 1, p. 25-32, 2013.

SANTOS, A. S. et al. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Caretta caretta* Linnaeus, 1758 no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*, n. 1, 2011

SHAFFER, H. Bradley. Turtles (Testudines). **The timetree of life**, v. 398, p. 401, 2009.

SHIGENAKA, G.; LUTZ, P.; MILTON, S. Oil toxicity and impacts on sea turtles. Oil and Sea Turtles: Biology, Planning, and Response. **NOAA National Ocean Service**, p. 35-47, 2003.

SCHUYLER, Q. et al. Global analysis of anthropogenic debris ingestion by sea turtles. **Conservation biology**, v. 28, n. 1, p. 129-139, 2014.

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

SILVA, A. C. C. D. et al. Satellite-tracking Reveals Multiple Foraging Strategies and Threats for Olive ridley Turtles in Brazil. **Marine Ecology Progress Series**, v. 443, p. 237-247, 2011.

SILVA, A. C. C. D. et al. 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.

SILVA, P. R. **Transporte marítimo de petróleo e derivados na costa brasileira: Estrutura e implicações ambientais**. Tese de Doutorado, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil, 2004.

SILVA, G. C.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M.; MARACINI, P. Análise de encalhes de tartarugas marinhas (Testudines: Cheloniidae e Dermochelyidae) nos Municípios Da Baixada Santista, Iguape e Cananéia no período de 2004. **Revista Ceciliana**, v. 4, n. 2, p. 9-15, 2012.

SINAEI, M.; ZARE, R. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and some biomarkers in the green sea turtles (*Chelonia mydas*). **Marine pollution bulletin**, v. 146, p. 336-342, 2019.

SOARES, M. O. et al. Brazil oil spill response: Time for coordination. **Science**, v. 367, n. 6474, p. 155-155, 2020.

SPEERS, G. C.; WHITEHEAD, E. V. Crude petroleum. In: **Organic geochemistry**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1969. p. 638-675.

SPOTILA, J. R. **Sea turtles: a complete guide to their biology, behavior, and conservation**. JHU Press, Maryland, 2004.

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

STOUT, S. et al. Chemical fingerprinting of hydrocarbons. **In: Introduction to environmental forensics**, MURPHY, B. e MORRISON R., Academic Press. p. 168-170, 2002.

SZEWCZYK, S. B. O. Processos envolvidos em um derramamento de óleo no mar. In: **Seminário e Workshop em Engenharia Oceânica (SEMENGO)**, 2006.

TOMAS, J.; AZNAR, F. J.; RAGA, J. A. Feeding ecology of the loggerhead turtle *Caretta caretta* in the western Mediterranean. **Journal of Zoology**, v. 255, n. 4, p. 525-532, 2001.

VILCA, F. Z. et al. Concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in liver samples of juvenile green sea turtles from Brazil: Can these compounds play a role in the development of fibropapillomatosis? **Marine pollution bulletin**, v. 130, p. 215-222, 2018.

WALLACE, B. P. et al. Global patterns of marine turtle bycatch. **Conservation letters**, v. 3, n. 3, p. 131-142, 2010.

WALLACE, B. P. et al. Oil spills and sea turtles: documented effects and considerations for response and assessment efforts. **Endangered Species Research**, v. 41, p. 17-37, 2020.

WANG, Z.; STOUT, S.A. Chemical fingerprinting of spilled or discharged petroleum - Methods and factors affecting petroleum fingerprints in the environment. **Oil spill environmental forensics: fingerprinting and source identification**, Workshop, Salvador – BA, p. 1-53, 2007.

WENZL, T.; ZELINKOVA, Z. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Food and Feed. **Encyclopedia of Food Chemistry**, p. 455-469, 2019.

WITHERINGTON, B.; HIRAMA, S., HARDY, R. Young sea turtles of the pelagic Sargassum-dominated drift community: habitat use, population density, and threats. **Marine Ecology Progress Series**, v. 463, p. 1-22, 2012.

WYNEKEN, J. Guide to the anatomy of sea turtles. **Jacksonville: NOAA Technical Memorandum MNFS-SEFSC**. 470p., 2001.

YAGHMOUR, F.; SAMARA, F.; ALAM, I. Analysis of polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in the tissues of green sea turtles, *Chelonia*

mydas, (Linnaeus, 1758) from the eastern coast of the United Arab Emirates. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, p. 111574, 2020.

YLITALO, G. M. et al. Determining oil and dispersant exposure in sea turtles from the northern Gulf of Mexico resulting from the Deepwater Horizon oil spill. **Endangered Species Research**, v. 33, p. 9-24, 2017.

Análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em diferentes tecidos de tartarugas marinhas no Nordeste do Brasil

GIULIA DE ANDRADE LIMA BERTOTTI¹, RENATO DA SILVA CARREIRA²,
GERALDO JORGE BARBOSA DE MOURA^{3*}

¹*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos. Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação - UFRPE.*

² *Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, Laboratório de Estudos Marinhos e Ambientais – PUC-Rio.*

³*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos. Programa de Pós-graduação em Biodiversidade-UFRPE. Programa de Pós-graduação em Biociência Animal-UFRPE, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais-UFRPE.*

*Autor de Correspondência: geraldo.jbmoura@ufrpe.br

RESUMO

O derramamento de óleo nos oceanos é reconhecido por causar um impacto importante na saúde das tartarugas marinhas, potencializando o processo de bioacumulação de substâncias tóxicas em seus tecidos. A partir disto, o objetivo desse trabalho foi realizar a análise dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) presentes nos tecidos hepático e muscular de tartarugas marinhas encontradas encalhadas no Nordeste do Brasil, local recentemente atingido

pelo maior evento de derramamento de óleo já documentado na costa brasileira. Trinta e oito (38) animais foram coletados ao longo dos litorais de Pernambuco, Rio Grande do Norte e Ceará, sendo 26 juvenis e 12 adultos. *Chelonia mydas* representou 79% dos espécimes coletados. As medidas biométricas da carapaça apresentaram médias de 61,65 cm para CCC e 57,64 cm para LCC. Necrópsias foram realizadas para remover o fígado e o tecido muscular peitoral do animal. A determinação dos HPAs foi realizada por extração em aparelho Soxhlet, purificação por cromatografia de permeação e análise por cromatografia fase gasosa e espectrometria de massas (GC-MS). Foram identificados 40 HPAs individuais, incluindo compostos parentais e alquilados, com concentrações totais de $231,10 \pm 152,08 \text{ ng g}^{-1}$ (peso seco) no músculo e $202,21 \pm 84,97 \text{ ng g}^{-1}$ no fígado. Naftaleno, pireno, fenantreno e fluoreno, incluindo respectivos homólogos alquilados, foram os HPAs mais abundantes. Não houve diferença significativa entre as concentrações nos tecidos, no entanto os naftalenos se mostraram mais abundantes no fígado e o pireno no músculo. Há prevalência geral de HPAs leves (LMW) sobre os pesados (HMW), particularmente nas amostras de fígado. Além disso, os HPAs alquilados representaram cerca de $50 \pm 20 \%$ do total de HPAs em ambos os tecidos. Através de análise de agrupamento, foi definido um conjunto de amostras com perfil de HPAs indicativos de queima incompleta de combustíveis (pirolíticos), enquanto outro conjunto tinha indicação de resíduos de petróleo (petrogênico). Os resultados revelam alto grau de contaminação dos animais coletados, com fortes evidências de exposição ao óleo derramado na região, mas também por outras fontes de natureza antrópica. Mais importante, os resultados obtidos podem ser considerados como indicadores de exposição de curto a médio prazo após o derrame nas áreas estudadas, sendo importante acompanhar a evolução do quadro de exposição das tartarugas no médio-longo prazo.

Palavras-chave: Testudines, Petróleo, Impacto Ambiental, Poluição Marinha

ABSTRACT

Oil spills in the oceans is recognized for having an important impact on the health of sea turtles, enhancing the process of biomagnification of toxic substances in their tissues. From this, the objective of this work was to analyse the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) presented in the hepatic and muscular tissues of sea turtles in the Northeast of Brazil, a place recently affected by the largest oil spill event already documented on the Brazilian coast. Thirty eight

animals (38) was collected along the coasts of Pernambuco, Rio Grande do Norte and Ceará, being 12 adult animals of 26 juveniles. *Chelonia mydas* represented 79% of the individuals. The biometric measurements of the carapace showed medium of 61.65 cm for CCC and 57.64 cm for LCC. Necropsies were performed to remove the liver and muscle tissue from the animal's chest. The determination of PAHs was carried out by spectrography using a Soxhlet apparatus, emission by permeation chromatography and gas phase analysis and mass measurement (GC-MS). 40 PAHs were identified as individuals, including compounds and alkylates. Naphthalene, pyrene, phenanthrene and fluorene, including their respective alkylated homologues, were the most abundant PAHs. There was no significant difference between the concentrations in the tissues. There is a general prevalence of lower weight PAHs (LMW) over high weight (HMW), particularly in the liver samples. Furthermore, alkylated PAHs represent about $50 \pm 20\%$ of the total PAHs in both tissues. By means of cluster analysis, a set of samples was defined with a PAH profile indicative of the burning of a set of compounds (pyrolytics), another had an indication of oil residues (petrogenic). The results reveal a high degree of contamination of the animals collected, with strong evidence of exposure to oil spilled in the region, but also from other sources of an anthropic activities. More important, the results obtained can be considered as indicators of exposure in the short to medium term after the spill in the studied areas, being important to follow the evolution of the situation of exposure of turtles in the medium to long term.

Key-words: Testudines, Petroleum, Environmental Impact, Marine Pollution

1. INTRODUÇÃO

O Nordeste do Brasil possui o registro de cinco espécies de tartarugas marinhas, sendo essas *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758), *Caretta caretta* (Linnaeus 1758), *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus 1766) *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz 1829) (Marcovaldi e Marcovaldi 1999) e *Dermochelys coriacea* (Linnaeus 1766) (Moura et al. 2011). Todas essas

espécies são listadas como ameaçadas de extinção em algum grau (ICMBio 2018). Esses animais estão susceptíveis a ameaças em todos os estágios do seu ciclo de vida, sendo as principais de origem antrópica, como a poluição marinha, a pesca acidental e a destruição de habitats (Shigenaka et al. 2003; Projeto tartarugas marinhas do Arvoredo 2008; Macedo et al. 2011; Reis et al. 2011).

Entre as variadas formas de poluição que acometem os oceanos, a poluição marinha por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) é reconhecida por causar um impacto importante no equilíbrio populacional das tartarugas marinhas (Camacho et al. 2013). Tais substâncias estão dispersas no ambiente marinho naturalmente devido a processos biogênicos, erosão de rochas e queimadas naturais. No entanto, as atividades antrópicas nas regiões costeiras, associadas com a produção, transporte, refino e consumo de petróleo, assim como acidentes com derramamento de petróleo e derivados, são todos fatores que aumentam as concentrações de HPAs em ambientes aquáticos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2003)

Os HPAs são contaminantes ambientais potencialmente cancerígenos quando bioacumulados e biotransformados pelo metabolismo dos animais marinhos (Lourenço et al. 2016; Baird e Cann 2011; Manahan 2000), tendo a capacidade de modificar a estrutura do DNA, que implica na formação de tumores, podendo levar à morte (Igwe e Ukaogo 2015).

Esses compostos podem ter origem pirogênica, a qual geralmente deriva-se da queima incompleta de combustíveis fósseis, ou então, origem petrogênica, que está relacionada com as atividades provenientes da extração, transporte e refino do petróleo. Os HPAs pirolíticos possuem geralmente maior peso molecular, apresentando de 4 a 7 anéis aromáticos fundidos em sua estrutura. Os HPAs petrogênicos contém geralmente baixo peso molecular, possuindo de 2 a 3 anéis aromáticos, apresentando algum dos seus átomos de carbono substituídos por radicais alquilas (etil, metil, dimetil, trimetil, entre outros) (Collier et al. 2014; Lawal 2017).

Os HPAs de baixo peso molecular são frequentemente encontrados em animais que foram expostos a derramamentos de petróleo, uma vez que esses possuem maior dificuldade para metabolizá-los (Romero et al. 2018; De Santana Campelo et al. 2021), dessa forma, os HPAs leves, como o naftaleno (N), funcionam como indicadores dessa contaminação.

No segundo semestre de 2019 e no início do ano de 2020 foi documentado o maior evento de derramamento de petróleo da história do Brasil, atingindo a zona costeira de todos os estados da região Nordeste e uma parte da região Sudeste (Soares et. al 2020; IBAMA 2020). Os ambientes que sofreram contaminação são fundamentais para o desenvolvimento e reprodução de tartarugas marinhas, e a exposição desses animais às substâncias presentes no petróleo pode impactar diretamente no equilíbrio de suas populações.

As tartarugas foram destacadas como os animais marinhos mais afetados diretamente pelo derramamento de óleo de 2019, no qual o IBAMA documentou 105 animais encontrados totalmente oleados durante o período de recolhimento dos resíduos (IBAMA, 2020). O contato epidérmico, a inalação ou ingestão do petróleo presente na água pode acarretar danos aos indivíduos, como ineficiência no desenvolvimento, problemas respiratórios, comprometimento do sistema imunológico, sangue, sistema digestório e glândulas de sal, além de propiciar a bioacumulação de substâncias tóxicas nos seus diversos tecidos, em especial músculo e fígado (Negrão 2009; DWH NRDA Trustes 2016).

Por este motivo, é importante avaliar a presença dos hidrocarbonetos, que estão presentes em grande quantidade no petróleo cru, nos tecidos das tartarugas marinhas, e como esses compostos podem prejudicar as teias alimentares que as tartarugas estão inseridas, uma vez que no processo de transferência de energia acarreta danos para todo o ecossistema. Nessa perspectiva, o objetivo deste trabalho foi analisar a concentração e o perfil de distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) nos tecidos hepático e muscular de tartarugas marinhas encontradas encalhadas no Nordeste do Brasil. Pelo conjunto de até 40 HPAs, incluindo compostos parentais e alquilados entre 2 e 6 anéis de benzeno, foi possível avaliar a

origem e estabelecer padrões de incorporação dessa família de compostos para os tecidos estudados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O litoral nordestino é a maior divisão do litoral brasileiro apresentando 3.317 quilômetros de extensão, abrangendo as zonas costeiras entre a Baía de São Marcos – Maranhão e a Baía de Todos os Santos – Bahia (Silveira 1964). O litoral do Nordeste possui uma série de variações climáticas, apresentando de climas superúmidos a semiáridos. No entanto, a repartição sazonal é majoritariamente tropical, possuindo um período chuvoso (março a agosto) e um período de estiagem (setembro a fevereiro) e uma variação pluviométrica de 1250 até 2000 mm (Macedo et. al 2004). As massas de água presentes na área são originadas no Leste e transportadas pela corrente Equatorial Sul, dividida em dois ramos ao alcançar o litoral Paraibano, gerando a Corrente do Brasil. A corrente do Brasil quando localizada na zona costeira do Nordeste, apresenta temperatura média de 27°C e salinidade de 37‰ (Trujillo e Thurman 2005). A plataforma continental nordestina é dividida em três frações, sendo essas a Plataforma Interna, Plataforma Média e Plataforma externa (Coutinho 1976). A plataforma interna possui relevo suave, presença de recifes e grandes influências de canais e ondulações. A plataforma média possui elevações sendo mais irregular e a plataforma externa apresenta relevo predominantemente plano com uma leve declividade à medida que se aproxima da quebra (Oliveira 2009).

2.2 Coleta de dados

Foram coletados 38 exemplares de tartarugas marinhas encontradas mortas nos anos de 2020 e 2021, as quais estão indicados no apêndice 1. As coletas ocorreram ao longo da faixa litorânea representada na figura 1, a qual abrange o estado de Pernambuco, nos municípios de Olinda,

Recife, Jaboatão dos Guararapes, Cabo de Santo Agostinho e Ipojuca, no estado do Rio Grande do Norte, nos municípios de Grossos, Guamaré, Macau e Areia Branca e no estado do Ceará, nos municípios de Aracati, Beberibe, Aquiraz e Icapuí.

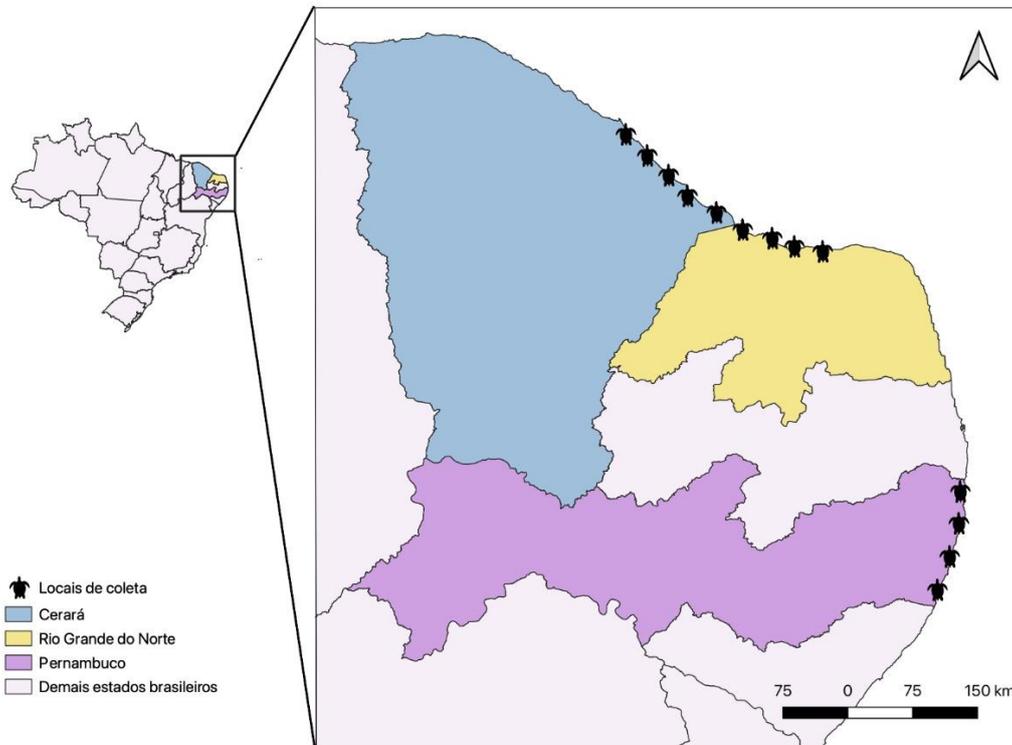


Figura 1. Representação Gráfica dos locais de coletas dos espécimes de tartarugas marinhas encontrados encalhados.

Antes da coleta, foi realizada a análise da condição da carcaça do animal, sendo utilizados apenas os espécimes encontrados nas fases D1, D2 ou D3 de decomposição, de acordo com a classificação de Flint et. al (2009). As coletas realizadas no litoral de Pernambuco contaram com o auxílio da ONG ECOASSOCIADOS e os espécimes foram transportados para o Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LEHP). Os exemplares coletados no Rio Grande do Norte e no Ceará foram coletados e processados com o auxílio da equipe do Centro de Estudos e Monitoramento Ambiental do Projeto Cetáceos da Costa Branca (PCCB).

2.3 Procedimentos laboratoriais

Durante os procedimentos laboratoriais, medidas biométricas tais como o comprimento da curvatura da carapaça (CCC) e largura da curvatura da carapaça (LCC) foram realizadas para a identificação do estágio de desenvolvimento dos espécimes de tartarugas marinhas (Bolten 1999). Posteriormente, foram realizadas necrópsias com a finalidade de remover o fígado e o tecido muscular esquelético do animal, de acordo com as técnicas descritas para tartarugas (Wyneken 2001).

As amostras de fígado e musculatura coletadas foram armazenadas em recipientes de vidro, que foram rotulados e refrigerados. Na sequência, as amostras de cada tecido, foram enviadas para o Laboratório de Estudos Marinhos e Ambientais (LabMAM) localizado na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio).

2.4 Quantificação e qualificação dos hidrocarbonetos

2.4.1 Preparação das amostras

No LabMaM foram separados 0,25 g dos tecidos hepáticos e musculares recolhidos, os quais foram pesados sobre papel alumínio utilizando-se balança analítica. Cada fração de 0,25 g foi misturada em bécher de vidro descontaminado (aquecimento em forno mufla a 450 °C/8horas) com 10 g de sulfato de sódio anidro, para a retenção da água presente na amostra. Posteriormente, as amostras homogeneizadas foram transferidas para cartuchos com fundo poroso de vidro sinterizado, e adicionado o padrão sub-rogado *p*-terfenil- d_{14} (100 μ L de solução 5,0 ng μ L⁻¹) na amostra. Os cartuchos de vidro contendo as amostras foram inseridos e mantidos por 8 horas em extratores do tipo *Soxhlet* (volume do extrator = 60 mL). Os cartuchos foram acoplados a balões volumétricos de 125 mL comportando 80 mL de mistura *n*-hexano e diclorometano (1:1, v:v), ambos de grau pesticida. Após a extração e resfriamento do sistema, os extratos foram concentrados a 1 mL, utilizando evaporador rotativo com pressão reduzida.

A extração das amostras por *Soxhlet* foi realizada seguindo os cuidados dispostos no protocolo da USEPA 3540C.

A purificação dos extratos foi realizada em duas etapas. Na purificação inicial, foi retirado o volume de 0,9 mL de cada amostra e eluído com 80 mL de mistura *n*-hexano com diclorometano (1:1, v:v) de grau pesticida, através de coluna de vidro (25 cm de altura x 1,5 cm de diâmetro interno). A coluna possui 8 g de sílica gel sobre 16 g de alumina e 1 g de sulfato de sódio no topo. A sílica e a alumina foram desativadas a 5% com água (água deionizada e extraída com *n*-hexano grau pesticida).

Para purificação complementar, o eluato restante foi concentrado a 0,5 mL e injetado em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência). Para o monitoramento da eluição dos HPA nas colunas foi utilizado o detector UV/visível em comprimento de onda igual a 254 nm. A fração de 0 a 30 min foi descartada, e a fração contendo os HPAs foi coletada entre 30 e 40 min.

Os extratos contendo os HPAs foram concentrados para 0,9 mL e adicionado o padrão interno (mix de naftaleno- d_8 , acenafteno- d_{10} , fenantreno- d_{10} , criseno- d_{12} e perileno- d_{12} , 100 μ L de solução a 5,0 ng μ L⁻¹ cada).

2.4.2 Análise instrumental

O método de identificação e quantificação dos HPAs seguiu o protocolo EPA-8270E, que tem como base a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). A calibração do equipamento foi feita com curva de calibração com 12 concentrações (0,50; 1,0; 2,0; 5,0; 10; 20; 50; 100; 200; 400; 1000 e 2000 ng mL⁻¹) de solução contendo os 16 HPAs controlados pelo método (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(ghi)perileno), dibenzotiofeno, perileno e benzo(e)pireno. O método também inclui os seguintes compostos

alquilados: 1-metil-naftaleno, 2-metilnaftaleno, C2 naftalenos, C3 naftalenos, C4 naftalenos, C1 fluorenos, C2 fluorenos, C3 fluorenos, C1 dibenzotiofenos, C2 dibenzotiofenos, C3 dibenzotiofenos, C1 (fenantrenos + antracenos): C2 (fenantrenos + antracenos), C3 (fenantrenos + antracenos), C4 (fenantrenos+antracenos), C1 pirenos, C2 pirenos, C1 crisenos e C2 crisenos. Os alquilados foram identificados com base na curva do seu composto parental correspondente.

2.5 Análises estatísticas

Para testar a normalidade dos dados analisados, em cada uma das espécies estudadas, foi utilizado o teste Kolmogorov-Smirnov, através do programa inStat 3.0. Para testar se houve diferença significativa entre a retenção de HPAs e os tecidos analisados foram realizados os testes estatísticos T de student (paramétrico) e Mann-Whitney (não paramétrico). Foi também realizada a análise hierárquica de agrupamento (Cluster) baseado na distância euclidiana e no método de Ward, utilizando a matriz de dados normalizada. A normalização dos dados se deu pela concentração total da amostra, considerando-se assim a sua distribuição relativa, com posterior padronização Z-Score. Os gráficos referentes aos resultados obtidos foram gerados no programa R Studio.

3. RESULTADOS

Foram coletados 38 exemplares de tartarugas marinhas encontradas encalhadas entre janeiro de 2020 e agosto de 2021, das quais 17 foram recolhidas ao longo da faixa litorânea de Pernambuco, 12 ao longo do litoral norte do Rio Grande do Norte e 9 no litoral sul do Ceará. As localidades de coleta, em cada um dos estados, estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Quantidade de indivíduos recolhidos no litoral do Nordeste brasileiro nos anos de 2020 e 2021 e seus respectivos locais de coleta.

Localidade	Indivíduos Coletados
Ipojuca/PE	10

Recife/PE	4
Jaboatão dos Guararapes/PE	2
Cabo de Santo Agostinho/PE	1
Olinda/PE	2
Aracati/CE	4
Beberibe/CE	1
Aquiraz/CE	2
Icapuí/CE	2
Areia Branca/RN	5
Grossos/RN	2
Guamaré/RN	1
Macau/RN	1

Dentre os espécimes coletados, foram identificados 29 exemplares da espécie *Chelonia mydas* (79%), 5 exemplares da espécie *Lepidochelys olivacea* (13%) e 4 exemplares da espécie *Caretta caretta* (11%).

O comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) apresentou média de 61,65 cm e desvio padrão de 23,75, variando de 22 a 105,5 cm; e a largura da curvatura da carapaça (LCC) apresentou média de 57,64 e desvio padrão de 23,54, variando de 18,5 a 101 cm.

Quanto ao estágio de vida, 28 dos exemplares (74%) foram classificados como juvenis e 10 (26%) como adultos.

3.1 Concentração de HPAs nos tecidos

As concentrações dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) no fígado e músculo das tartarugas marinhas coletadas estão representadas na Tabela 2, apontando seus valores médios, mínimos e máximos. Também estão apontados os somatórios dos HPAs identificados, dos HPAs de baixo peso molecular, dos HPAs de alto peso molecular e dos HPAs alquilados. A razão entre os HPAs de baixo peso molecular e alto peso molecular também foi descrita, assim como a porcentagem dos HPAs principais e dos HPAs alquilados. Foram identificados 16 HPAs principais, de acordo com a classificação USEPA, sendo esses: naftaleno (N), acenafteno (ACF), acenaftileno (ACE), fluoreno (F), antraceno (A), fenantreno (Ph),

fluoranteno (Fl), pireno (Py), benzo(A)antraceno (BaA), criseno (Ch), benzo(B)fluoranteno (Bbfl), benzo(K)fluoranteno (Bkfl), benzo(A)pireno (BaPy), indeno(1,2,3-Cd)pireno (I-Py), benzo(Ghi)perileno (BghiPe) e dibenzo(Ah)antraceno (DBahA). Além dos HPAs principais, foram identificados 23 HPAs individuais, também classificados pela USEPA, sendo esses C1-naftaleno (C1N), C2-naftaleno (C2N), C3-naftaleno (C3N), C4-naftaleno (C4N), C1-fluoreno (C1F), C2-fluoreno (C2F), C3-fluoreno (C3F), dibenzotiofeno (DBT), C1-dibenzotiofeno (C1DBT), C2-dibenzotiofeno (C2DBT), C3-dibenzotiofeno (C3DBT), C4-dibenzotiofeno (C4DBT), C1-fenantreno-antraceno (C1Ph), C2-fenantreno-antraceno (C2Ph), C3-fenantreno-antraceno (C3Ph), C4-fenantreno-antraceno (C4Ph), C1-fluoranteno-pireno (C1-Fl/Py), C2-fluoranteno-pireno (C2-Fl/Py), C3-fluoranteno-pireno (C3-Fl/Py), C1-criseno (C1Ch), C2-criseno (C2Ch), benzo(e)pireno (BePy) e perileno (Pe).

As somas dos 16 HPAs principais e dos 40HPAs individuais foram maiores no músculo ($\sum 16\text{HPA} = 132,5 \pm 106,7 \text{ ng/g}$; $\sum 40\text{HP} = 231,1 \pm 152,1 \text{ ng/g}$), que no fígado ($\sum 16\text{HPA} = 99,04 \pm 55,13 \text{ ng/g}$; $\sum 40\text{HP} = 202,2 \pm 84,97 \text{ ng/g}$). Os 16HPAs principais representaram $51,03 \pm 23,00\%$ da soma total dos HPAs no tecido hepático e $57,34 \pm 13,38 \%$ no tecido muscular. A relação entre a soma dos HPAs de baixo peso molecular e alto peso molecular ($\sum \text{LMH}/\sum \text{HMH}$), foi significativamente maior no fígado ($\sum \text{LMH}/\sum \text{HMH} = 5,97$) do que no músculo ($\sum \text{LMH}/\sum \text{HMH} = 0,89$) e a porcentagem de HPAs alquilados foi de $48,24 \pm 23,35 \%$ no fígado, e $41,03 \pm 13,09 \%$ no músculo.

Tabela 2. Médias, desvio padrão (DP), valores mínimos e máximos das concentrações (ng/g) de HPAs no fígado e músculo das tartarugas marinhas analisadas.

HPAS	Fígado				Músculo			
	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo
N	55,01	35,18	11,15	131,68	38,69	31,39	<LQ	126,35
C1N	35,28	31,17	<LQ	105,90	24,04	26,66	<LQ	73,03
C2N	25,13	21,87	<LQ	79,09	16,67	14,09	<LQ	44,22
C3N	15,84	11,63	<LQ	42,56	12,90	8,35	<LQ	25,05
C4N	1,94	4,70	<LQ	17,55	2,50	4,00	<LQ	9,93

ACF	0,15	0,43	<LQ	1,45	0,14	0,59	<LQ	2,56
ACE	1,23	1,59	<LQ	4,91	0,99	1,64	<LQ	6,36
F	8,10	5,86	<LQ	18,91	7,92	6,72	<LQ	24,00
C1F	1,30	2,95	<LQ	9,72	2,11	3,35	<LQ	9,09
C2F	1,88	4,28	<LQ	15,05	2,34	3,67	<LQ	9,11
C3F	0,86	3,73	<LQ	16,25	1,36	4,33	<LQ	17,31
DBT	2,76	5,68	<LQ	25,63	2,86	5,35	<LQ	25,17
C1DBT	0,51	1,23	<LQ	4,11	1,06	1,79	<LQ	4,63
C2DBT	0,87	2,68	<LQ	9,12	2,21	4,72	<LQ	19,64
C3DBT	0,79	2,18	<LQ	7,83	1,81	3,19	<LQ	11,14
C4DBT	0,00	0,00	<LQ	0,00	0,23	0,95	<LQ	3,91
Ph	9,76	8,44	<LQ	33,03	12,52	11,82	<LQ	40,06
C1Ph	6,22	6,45	<LQ	18,35	7,52	5,82	<LQ	18,10
C2Ph	1,96	5,24	<LQ	18,62	4,28	7,13	<LQ	24,46
C3Ph	0,73	2,29	<LQ	8,62	2,00	3,49	<LQ	11,21
C4Ph	0,74	2,08	<LQ	8,37	0,74	1,56	<LQ	4,50
A	1,82	2,21	<LQ	6,36	2,09	2,54	<LQ	8,66
Fl	4,34	5,90	<LQ	24,42	10,55	17,31	<LQ	67,43
Py	13,73	24,21	<LQ	110,66	51,56	84,45	<LQ	348,68
C1-Fl/Py	4,04	5,86	<LQ	19,40	6,27	6,19	<LQ	22,06
C2-Fl/Py	1,98	4,94	<LQ	18,98	2,30	3,70	<LQ	10,30
C3-Fl/Py	1,86	4,87	<LQ	16,92	2,38	4,62	<LQ	14,18
B(c)F	0,00	0,00	<LQ	0,00	0,00	0,00	<LQ	0,00
BaA	1,16	3,25	<LQ	12,56	0,83	1,48	<LQ	5,55
Ch	0,46	1,05	<LQ	3,47	0,72	1,25	<LQ	4,09
C1Ch	0,96	2,26	<LQ	7,20	1,83	3,11	<LQ	9,81
C2Ch	0,33	1,42	<LQ	6,20	0,29	1,16	<LQ	4,95
BbFl	1,38	2,63	<LQ	9,60	1,91	3,33	<LQ	12,28
BkFl	0,10	0,34	<LQ	1,42	<LQ	0,00	<LQ	0,00
BePy	0,80	1,25	<LQ	3,50	0,88	1,52	<LQ	5,07
BaPy	2,53	7,24	<LQ	33,41	0,88	1,49	<LQ	4,86
Per	0,00	0,00	<LQ	0,00	0,03	0,11	<LQ	0,46
I-Py	0,96	2,78	<LQ	10,40	0,23	0,40	<LQ	1,20
DBahA	0,39	1,66	<LQ	7,03	<LQ	0,00	<LQ	<LQ
BghiPer	1,63	3,23	<LQ	11,56	3,46	8,14	<LQ	38,47
∑16HPA	99,04	55,13	14,35	208,15	132,50	106,70	8,94	480,14
∑40HPA	202,21	84,97	23,63	323,62	231,10	152,08	20,44	638,83
∑LMW	77,84	24,58	40,90	125,94	62,35	34,72	0,00	143,19
∑HMW	26,51	37,51	0,00	170,62	70,16	104,05	0,00	428,88
LMH/HMH	5,97	5,03	0,62	18,18	0,89	4,68	0,00	15,07
∑HPAalq	101,10	70,56	5,95	226,51	94,83	58,87	7,32	177,22
%∑16HPA	51,03	23,00	11,43	94,64	57,34	13,38	30,16	79,45
%∑alq	48,24	23,35	2,70	88,57	41,03	13,09	19,39	67,69

LQ – Limite de Quantificação das concentrações; N – naftaleno; ACF - acenafteno; ACE – acenaftileno; F – fluoreno; A - antraceno; Ph – fenantreno; Fl – fluoranteno; Py – pireno; BaA - benzo(A)antraceno; Ch – criseno; Bbfl - benzo(B)fluoranteno; Bkfl -benzo(K)fluoranteno; BaPy - benzo(A)pireno; I-Py - indeno(1,2,3-Cd)pireno; BghiPe -benzo(Ghi)perileno; DBahA - dibenzo(Ah)antraceno; C1N - C1-naftaleno; C2N - C2-naftaleno; C3N - C3-naftaleno; C4N - C4-naftaleno; C1F - C1-fluoreno; C2F - C2-fluoreno; C3F - C3-fluoreno; DBT -

dibenzotiofeno; C1DBT - C1-dibenzotiofeno; C2DBT - C2-dibenzotiofeno; C3DBT - C3-dibenzotiofeno, C4DBT - C4-dibenzotiofeno, C1Ph - C1-fenantreno-antraceno; C2Ph - C2-fenantreno-antraceno; C3Ph - C3-fenantreno-antraceno; C4Ph - C4-fenantreno-antraceno; C1-FI/Py - C1-fluoranteno-pireno; C2-FI/Py - C2-fluoranteno-pireno; C3-FI/Py - C3-fluoranteno-pireno; C1Ch - C1-criseno; C2Ch - C2-criseno; BePy - benzo(e)pireno; Pe - perileno; $\Sigma 16\text{HPA}$ – somatório dos 16 HPAs principais de acordo com a USEPA; $\Sigma 40\text{HPA}$ – somatório dos 40 HPAs individuais de acordo com a USEPA; ΣLMW – Somatório das concentrações dos HPAs de baixo peso molecular (Low Molecular Weight) ΣHMW – Somatório das concentrações dos HPAs de alto peso molecular (High Molecular Weight) LMH/HMH – Razão entre as concentrações de ΣLMW e ΣHMW ; ΣHPAalq – Somatório das concentrações dos HPAs alquilados; $\% \Sigma 16\text{HPA}$ - Porcentagem $\Sigma 16\text{HPA}$; $\% \Sigma \text{alq}$ – Porcentagem $\% \Sigma \text{alq}$.

O fenantreno, o fluoreno e o naftaleno foram os compostos que apresentaram maior frequência nas amostras analisadas, estando presentes em 84,78% destas (Fig. 2). Os HPAs alquilados, incluindo o C1-naftaleno, C2-naftaleno, C3-naftaleno, C4-naftaleno, além do pireno, foram os compostos que apresentaram os registros mais altos de ocorrência (Tabela 3).

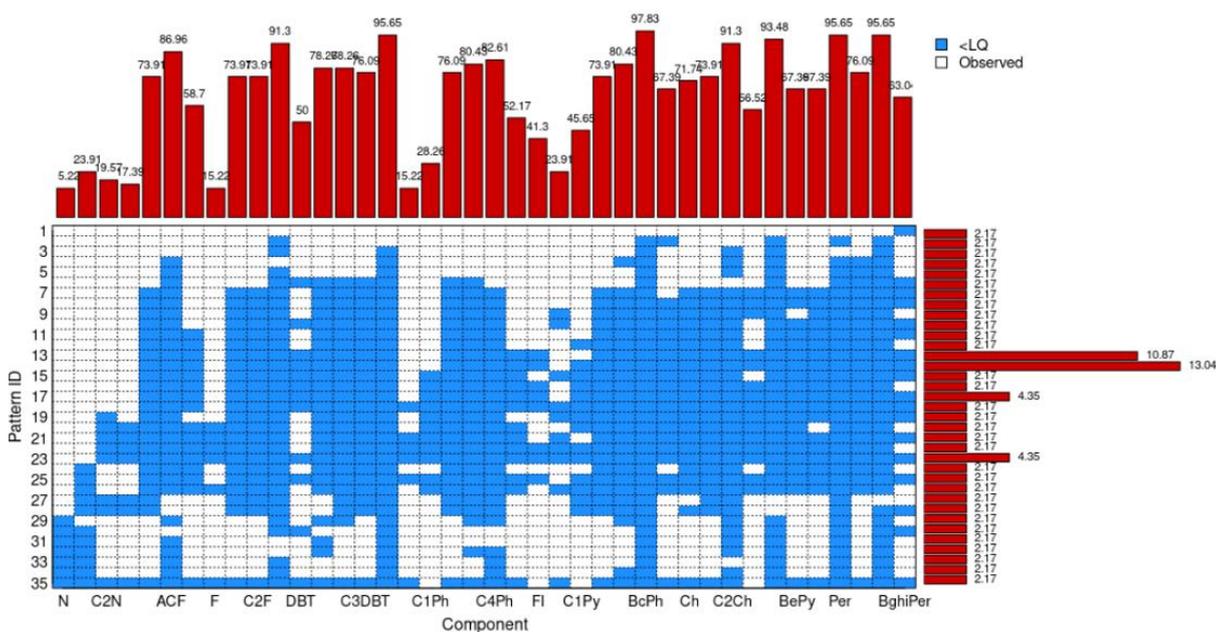


Figura 2. Relação de cada identificado (eixo X inferior) com a respectiva frequência de ocorrência do composto, representada pela área branca do gráfico I.

Tabela 3. Porcentagem (%) de não ocorrência dos HPAs identificados nos tecidos das tartarugas marinhas analisadas.

N	C1N	C2N	C3N	C4N
15.22	23.91	19.57	17.39	73.91
DBT	C1DBT	C2DBT	C3DBT	C4DBT
50	78.26	78.26	76.09	95.65
FI	Py	C1Py	C2Py	C3Py
41.3	23.91	45.65	73.91	80.43

BkFl	BePy	BaPy	Per	I.Py
93.48	67.39	67.39	95.65	76.09
DBahA	BghiPer	ACE	F	C1F
95.65	63.04	58.7	15.22	73.91
C2F	C3F	C1Ph	C2Ph	C3Ph
73.91	91.3	28.26	76.09	80.43
ACF	BcPh	BaA	Ch	C1Ch
86.96	97.83	67.39	71.74	73.91
Ph	C4Ph	A	C2Ch	BbFl
15.22	82.61	52.17	91.3	56.52

A análise estatística inferencial a respeito da retenção das concentrações nos tecidos foi feita apenas para *Chelonia mydas*, em decorrência da predominância de indivíduos dessa espécie e do baixo número de representantes das demais espécies coletadas (*Caretta caretta* e *Lepidochelys olivacea*). Os box-plots com a distribuição dos HPAs de fígado e músculo de *Chelonia mydas* (Fig. 3) indica que em ambos os tecidos foram relevantes as presenças de naftaleno e seus alquilaods (C1–C4), fluorantreno, fluoreno, pireno e fenantreno. No entanto, no tecido hepático, nota-se a maior retenção dos naftalenos e no tecido muscular a predominância do pireno e fluoreno (Figura 3).

Embora alguns dos compostos identificados tenham apresentado maiores concentrações a depender do tecido analisado, os testes estatísticos T de *Student* (paramétrico) para a soma dos 16HPAs principais ($p = 0,5060$), e Mann-Whitney (não paramétrico) para os 40HPAs totais ($p=0,3968$), não demonstraram diferença significativa de tais concentrações entre os tecidos. Os mesmos testes foram realizados para cada HPA individualmente e os resultados também estiveram acima do nível de significância ($p = 0,05$).

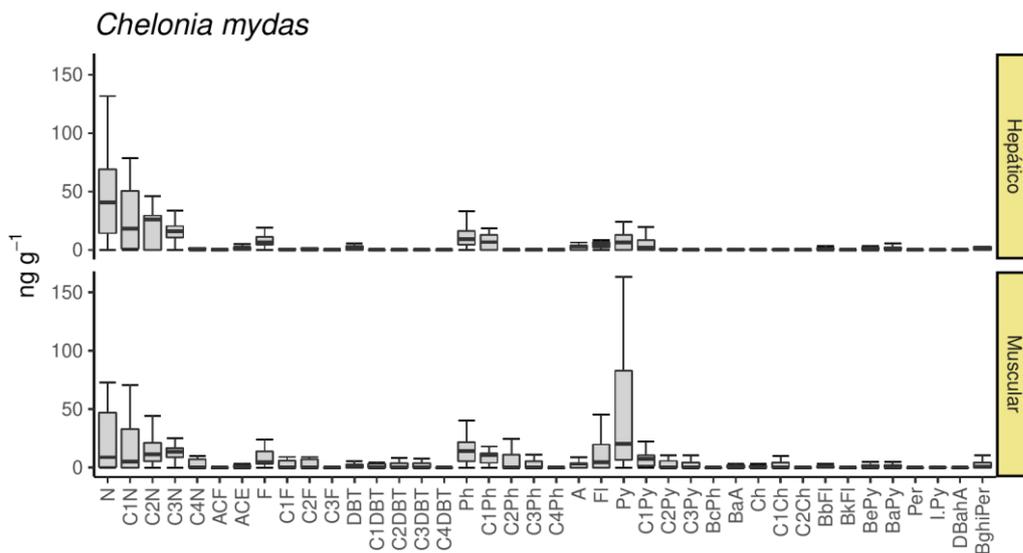


Figura 3. Histograma dos HPA's identificados nas amostras, separado de acordo com os tecidos hepático e muscular das tartarugas marinhas coletadas. Linha horizontal – mediana; Box – percentis; Whiskers – valores mínimos e máximos.

A análise de agrupamento separou as amostras de *Chelonia mydas* em dois conjuntos de amostras com padrões de acúmulo distintos (Fig. 4). O painel superior inclui amostras com forte influência de naftalenos, e o segundo grupo tem maior influência de pirenos. Observa-se ainda que o perfil dos naftalenos é diferente entre os grupos. No painel superior, o grupo dos naftalenos está disposto em ordem decrescente e os HPA's de alto peso molecular (de 5 a 6 anéis) são raros. No painel inferior, o perfil dos naftalenos está disposto em forma “sino”, no qual o C3N é o mais abundante, assim como há contribuições relevantes de fenantreno (Ph), fluoreno (Fl) e pireno (Py).

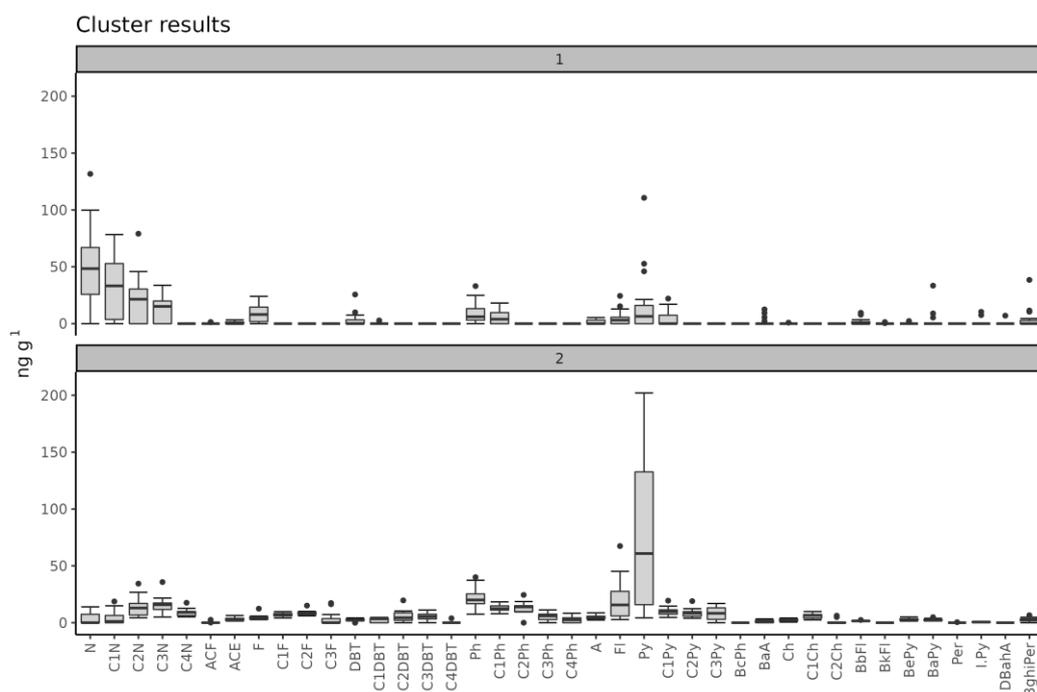


Figura 4. Grupos de perfis de HPAs gerados pela análise de agrupamentos considerando todas as amostras analisadas da espécie *Chelonia mydas*.

4. DISCUSSÃO

As tartarugas marinhas são caracterizadas como grandes vítimas da contaminação ambiental, tendo em vista seu longo ciclo de vida e seus diversificados papéis na teia trófica (Shigenaka et al. 2003). Os rejeitos de atividades industriais costeiras e os eventos de derramamento de petróleo, como o que ocorreu no segundo semestre de 2019 no Nordeste brasileiro, acometem as zonas de desenvolvimento, reprodução e alimentação das tartarugas, representando uma ameaça direta para esses animais. As substâncias liberadas por esses fenômenos, além de ficarem dispersas na coluna d'água e em suas áreas de nidificação, podem contaminar os seus componentes alimentares, propiciando a bioacumulação, e consequentemente a intoxicação, por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (DWH NRDA Trustees 2016; Camacho et al. 2013; Vilca et al. 2018; Ylitalo et al. 2017; Lawal 2017).

Em uma análise geral, os resultados obtidos neste estudo identificaram um nível de contaminação por HPAs nos animais analisados que pode ser considerado elevado, visto que

$\Sigma 40\text{HPAs}$ (fígado) = $202,2 \pm 84,97 \text{ ng g}^{-1}$ e $\Sigma 40\text{HPAs}$ (músculo) = $231,1 \pm 152,1 \text{ ng g}^{-1}$). As altas contribuições relativas de HPAs de baixo peso molecular (ΣLMW) e de HPAs alquilados (ΣHPAalq) indicam que a contaminação dos animais ocorreu por resíduos derivados do petróleo, ou seja, de origem petrogênica (Stogiannidis e Laane 2015; Soares et al. 2021). No fígado, a quantidade de HPAs de baixo peso molecular foi superior à quantidade encontrada no músculo, o que pode ocorrer devido ao fígado funcionar como órgão metabolizador desses HPAs, e também pela afinidade desses compostos com células lipídicas presentes nesse tecido (Milton e Lutz 2003). Destaca-se, também, a grande quantidade de naftalenos, os quais foram abundantes em ambos os tecidos analisados, estando presentes em todas as amostras de fígado (Tabela 2). A presença significativa dos naftalenos, assim como do pireno, fenantreno e fluorantreno nas amostras também é característica da contaminação petrogênica, particularmente nos resíduos recolhidos no Nordeste, sendo também identificada em demais trabalhos que analisaram a presença de HPAs em biota após o derramamento de óleo (Soares et al. 2021; Magalhães et al. 2022).

Os HPAs de maior peso molecular e não alquilados, denominados pirolíticos, não são comumente derivados do petróleo. Esses são originados da queima incompleta de combustíveis fósseis nas zonas costeiras ou embarcações. No entanto, assim como os HPAs petrogênicos, os HPAs pirolíticos apresentam alta toxicidade, estando mais associados a efeitos mutagênicos. Dessa classe de HPAs, o pireno foi o mais abundante nos animais analisados, no entanto, como já citado anteriormente, apesar de possuir alto peso molecular (4 anéis aromáticos) este composto está fortemente relacionado com a contaminação por resíduos do petróleo (Magalhães et al. 2022).

Ylitalo et al. realizou em 2017 um estudo envolvendo a análise de HPAs em diferentes órgãos de tartarugas marinhas, em distintas escalas de exposição ao óleo derramado durante o acidente (explosão) da plataforma Deep Water Horizon no Golfo do México, em 2011. Para os animais que apresentavam resíduos visíveis de óleo, ele encontrou concentrações de HPAs

significativamente maiores no fígado ($\sum 40\text{HPAs} = 140 \pm 210 \text{ ng}^{-1}$; do que nos animais não oleados visivelmente ($\sum 40\text{HPAs} = 14 \pm 7.1 \text{ ng/g}$). No presente estudo, todos os animais coletados não apresentavam resíduos visíveis de óleo, no entanto, os resultados encontrados no fígado ($\sum 40\text{HPAs} = 202,2 \pm 84,97 \text{ ng}^{-1}$) foram mais similares com os obtidos para tartarugas visivelmente oleadas após o DWH, ou seja, com maior intensidade de contaminação (Ylitalo et al. 2017). É possível que este resultado tenha relação com o tempo de exposição dos animais ao petróleo. No estudo de Ylitalo et al. (2017), os espécimes foram coletados imediatamente após o DWH, ao contrário desse estudo, em que a maioria dos indivíduos foram coletados meses depois do desastre. O maior tempo de exposição ao petróleo dissolvido na água pode propiciar o aumento das concentrações dos contaminantes nos animais, assim como o consumo de alimento contaminado (Stacy et al. 2013; Honda e Susuki 2020).

As análises estatísticas inferenciais para *Chelonia mydas* mostraram que não houve diferença de retenção de substâncias entre os tecidos, segundo os testes de ManWhitney e T de student, indicando a não preferência de acumulação de HPAs entre esses tecidos. Esse resultado difere do encontrado por Yaghmour et al., em 2020, que analisou as concentrações de HPAs em músculo e fígado de tartarugas marinhas no Golfo de Omã - Emirados Árabes Unidos, local com histórico constante de eventos de derramamento de petróleo e alta atividade industrial (Burt et al., 2016; Jupp et al., 2019; Vaughan et al., 2019). Yaghmour, por sua vez, observou diferença significativa entre as concentrações de HPAs nos tecidos, no qual o fígado apresentou maior acumulação em relação ao músculo. Isso pode estar relacionado com a exposição desses animais a menores níveis de contaminação, tendo em vista que no estudo de Yaghmour, as concentrações de HPAs são, no geral, menores do que as encontradas no Nordeste.

Neste estudo, as concentrações dos naftalenos (HPAs compostos por 2 anéis aromáticos) predominaram no fígado, enquanto os HPAs pesados foram raros (Fig. 3). Isto pode ocorrer devido à capacidade metabólica do fígado, que é o principal tecido envolvido em processos de desintoxicação, diminuindo a quantidade desses HPAs de maior peso molecular, que possuem

maior facilidade de metabolização (Lake et al. 1994; Muñoz 2021). Por outro lado, nota-se que no tecido muscular, além de estarem presentes altos valores de hidrocarbonetos de baixo peso molecular, HPAs mais pesados como o pireno estão concentrados em maior quantidade do que no fígado, possivelmente em decorrência da menor capacidade metabólica desse tecido.

Os grupos gerados pela análise de cluster separou as amostras em dois perfis distintos (Fig. 4). O primeiro perfil apresenta as concentrações de naftalenos em ordem decrescente. Esse padrão indica a origem pirogênica da contaminação nestas amostras, de acordo com o estudo de Boehm et al. (2018). No segundo perfil, nota-se que os naftalenos estão representados em forma de “sino”, no qual o C3N é o mais abundante dentre os demais, esse padrão indica a origem petrogênica da contaminação em questão, também referenciado pelo estudo de Boehm citado anteriormente. Além desse padrão de distribuição em forma de “sino” para os naftalenos, as altas concentrações de pireno e fenantreno são indicadoras da contaminação petrogênica (Magalhães et al. 2022). Apesar dos perfis dos grupos serem notadamente distintos, tal diferenciação não reflete nas amostras de acordo com os critérios de coleta. Não foi observada diferença entre os locais onde os animais foram recolhidos, tanto entre os estados (Pernambuco, Rio Grande do Norte e Ceará) quanto entre os municípios, o que pode ocorrer devido ao pequeno número de amostras para cada município de coleta e também ao tipo de amostragem, que não permite conhecer o local exato que a tartaruga veio a óbito e sim seu ponto de encalhe. Dessa forma, não se pode concluir o local exato de origem dos animais. Também não foi significativa a diferença de concentrações entre as diferentes espécies estudadas. Isso pode ocorrer devido a pouca quantidade de indivíduos coletados das espécies *Lepidochelys olivaceae* e *Caretta caretta* em relação à *Chelonia mydas*, fazendo com que o espaço amostral não fosse susceptível a comparação.

5. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados demonstram que as tartarugas marinhas encontradas na costa do litoral nordestino brasileiro, além de enfrentarem constante ameaça em decorrência da

descaracterização dos seus habitats pelas atividades antrópicas, também são grandes vítimas da intoxicação dos seus tecidos por substâncias nocivas à saúde, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos que foram identificados nas análises desta pesquisa.

Esses fatores indicam que o derramamento de petróleo no mar, responsável por disseminar os HPAs petrogênicos, assim como as atividades *off-shore* que comumente promovem a liberação de HPAs pirolíticos e petrogênicos, uma vez acometendo o ambiente, atingem diretamente a fauna, contaminando-a e prejudicando os demais componentes do ecossistema. Os altos valores de HPAs contabilizados nas tartarugas coletadas, somados a ausência de diferença significativa entre as concentrações quantificadas no fígado e no músculo, sugerem a intensa contaminação desses animais. Além disso, as similaridades encontradas entre os padrões de distribuição de HPAs nas tartarugas marinhas analisadas e o petróleo derramado no nordeste, apontam que uma parte significativa dessa contaminação ocorreu devido ao desastre ambiental que acometeu o Nordeste do Brasil em 2019, fato que, até então, segue com origem desconhecida.

Porquanto, este é o primeiro estudo sistemático que evidencia o prejuízo ambiental causado a um grupo de tetrápodes devido ao derramamento de óleo no Nordeste brasileiro em 2019, uma vez que a maioria dos trabalhos realizados após este evento teve o intuito de analisar animais invertebrados ou foram voltados para a preocupação com a segurança alimentar.

Os resultados obtidos podem ser considerados como indicadores de exposição de curto a médio prazo após o derrame nas áreas estudadas, sendo importante acompanhar a evolução do quadro de exposição das tartarugas no médio-longo prazo.

Nessa perspectiva, a análise contínua dessas substâncias deve ser realizada tanto para as tartarugas marinhas, quanto para os demais componentes da fauna e da flora que entraram em contato com o evento recente de derramamento de óleo no Brasil, assim como os demais eventos crônicos ou agudos, que ocorrem frequentemente, em zonas de altíssimo potencial ecológico ao redor do mundo.

Por fim, destaca-se que o desequilíbrio de populações de espécies chaves, como as tartarugas marinhas, é capaz de alterar o funcionamento de serviços ecossistêmicos essenciais promovidos por essas, como atividades predatórias, de pastagem, associações cooperativas com outros animais e principalmente, o transporte de nutrientes.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem primeiramente a Fundação de Amparo à Pesquisa Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco - FACEPE, pela bolsa de mestrado concedida à Aluna Giulia Bertotti para auxílio da realização desta pesquisa. Agradecem também ao Programa de pós-graduação em biodiversidade e conservação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, ao Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos – UFRPE, ao Laboratório de Estudos Marinhos e Ambientais – PUC-Rio, à ONG ECOASSOCIADOS e o Projeto Cetáceos da Costa Branca – UERN.

7. REFERÊNCIAS

- BAIRD, C., CANN, M. **Química Ambiental**. Bookman, Porto Alegre, 4a ed., 50p., 2011.
- BOEHM, Paul D. et al. Improving rigor in polycyclic aromatic hydrocarbon source fingerprinting. **Environmental Forensics**, v. 19, n. 3, p. 172-184, 2018.
- BOLTEN, A. B. Techniques for measuring sea turtles. **Research and management techniques for the conservation of sea turtles**, p. 110-114, 1999.
- BURT, J. A. et al. Oman's coral reefs: A unique ecosystem challenged by natural and man-related stresses and in need of conservation. **Marine pollution bulletin**, v. 105, n. 2, p. 498-506, 2016.

CAMACHO, M. et al. Crude oil as a stranding cause among loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the Canary Islands, Spain (1998–2011). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 49, n. 3, p. 637-640, 2013.

COLLIER, T. K. Forensic Ecotoxicology. **In: From Sources to Solution. Springer, Singapore**, p. 503-506, 2014.

COUTINHO, P. N. Geologia Marinha da plataforma continental. **Alagoas–Sergipe. Recife, sad., 119p (Tese Docente Livre)**, 1976.

DWH NRDA (Deepwater Horizon Natural Resource Damage Assessment) Trustees. Deepwater Horizon oil spill programmatic damage assessment and restoration plan and programmatic environmental impact statement. DWH NRDA, 2016. Disponível em Acesso: Junho de 2021.

HONDA, M.; SUZUKI, N.. Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 4, p. 1363, 2020.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Boletim Fauna Atingida: Manchas de Óleo, Nordeste brasileiro. Brasília, 2020.

ICMBio/MMA. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília, DF. v. 1, 1. ed., 492 p., 2018.

IGWE, J. C.; UKAOGO, P. O. Environmental effects of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Natural Sciences Research**, v. 5, n. 7, p. 117-132, 2015

JUPP, Barry P. et al. Assessment of heavy metal and petroleum hydrocarbon contamination in the Sultanate of Oman with emphasis on harbours, marinas, terminals and ports. **Marine Pollution Bulletin**, v. 121, n. 1-2, p. 260-273, 2017.

Lake, J. L.; Haebler, R.; McKinney, R.; Lake, C. A.; Sadove, S. S. PCBs and other chlorinated organic contaminants in tissues of juvenile kemp's ridley turtles (*Lepidochelys kemp*). **Mar. Environ. Res.** 1994, 38, 313–327.

LAWAL, Abdulazeez T. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. **Cogent Environmental Science**, v. 3, n. 1, p. 1339841, 2017.

LOURENÇO, R. A. et al. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in a produced water disposal area in the Potiguar Basin, Brazilian equatorial margin. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 17, p. 17113-17122, 2016.

MACEDO, Gustavo Rodamilans et al. Ingestão de resíduos antropogênicos por tartarugas marinhas no litoral norte do estado da Bahia, Brasil. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1938-1941, 2011.

MACEDO, S. J., MUNIZ, K., FLORES MONTES, M. J. Hidrologia da região costeira e plataforma continental do Estado de Pernambuco. **In: Oceanografia um cenário tropical. Recife. Org. Eskinazi-Leça, E., Neumann-Leitão, S., Costa, M. Ed. Bargaço, 761p. 2004.**

MAGALHÃES, K. M. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. **Marine Pollution Bulletin**, v. 175, p. 113334, 2022.

MANAHAN, S.E., 2000. Environmental Chemistry 7th ed. Lewis Publisher, Boca Raton, Florida

MOURA, G. J. B. et al. Distribuição geográfica e caracterização ecológica dos répteis do estado de Pernambuco. **Herpetologia do Estado de Pernambuco**, v. 1, p. 229-290, 2011.

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

MUÑOZ, Cynthia C. et al. Internal and Maternal Distribution of Persistent Organic Pollutants in Sea Turtle Tissues: A Meta-Analysis. **Environmental science & technology**, v. 55, n. 14, p. 10012-10024, 2021.

NEGRÃO, R. G. Tartarugas Marinhas: Hábitos e Aspectos da Biologia da Reprodução e as Causas da Extinção Devido a Ação Antrópica. 2009. Disponível em: www.webartigos.com. Acesso em: 20 de julho de 2020.

OLIVEIRA, Patricia Reis Alencar. Caracterização morfológica e sedimentológica da plataforma continental brasileira adjacente aos municípios de Fortim, Aracati e Icapuí-CE. 2009.

PROJETO TARTARUGAS DO ARVOREDO. **Rebiomar do Arvoredo**. SC – Brasil, 2008. Disponível em: [marinha/projetos/relatorio_projeto_tartarugas_marinhas_do_arvoredo.pdf](#). Acesso em: 1 de setembro de 2020.

REIS, E. C.; DE MOURA, J. F.; SICILIANO, S. Tartarugas marinhas do estado do Rio de Janeiro, Brasil: diversidade, distribuição, sazonalidade e ameaças. **V Jornada De Pesquisa e Conservação De Tartarugas Marinhas Do Atlântico Sul Ocidental (ASO)**, p. 27, 2011.

ROMERO, Isabel C. et al. Decadal assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in mesopelagic fishes from the Gulf of Mexico reveals exposure to oil-derived sources. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 19, p. 10985-10996, 2018.

SHIGENAKA, G.; LUTZ, P.; MILTON, S. Oil toxicity and impacts on sea turtles. Oil and Sea Turtles: Biology, Planning, and Response. **NOAA National Ocean Service**, p. 35-47, 2003.

SILVEIRA, J. D. Morfologia do litoral. In: AZEVEDO, A. (Org.). **Brasil, a terra e o homem**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1964. p. 253-305.

SOARES, M. O. et al. Brazil oil spill response: Time for coordination. **Science**, v. 367, n. 6474, p. 155-155, 2020.

SOARES, E. C. et al. Oil impact on the environment and aquatic organisms on the coasts of the states of Alagoas and Sergipe, Brazil-A preliminary evaluation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 171, p. 112723, 2021.

STACY, N. I.; INNIS, C. J.; HERNANDEZ, J. A. Development and evaluation of three mortality prediction indices for cold-stunned Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*). **Conservation Physiology**, v. 1, n. 1, 2013.

SILVEIRA, J. D. Morfologia do litoral. In: AZEVEDO, A. (Org.). Brasil, a terra e o homem. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1964. p. 253-305.

THURMAN, Harold V.; TRUJILLO, Alan P. **Oceanografie**. Computer Press, 2005.

VAUGHAN, G.O., AL-MANSOORI, N., BURT, J., 2019. The Arabian Gulf. In: Sheppard, C. (Ed.), World Seas: An Environmental Evaluation, second edition. Elsevier Science, Amsterdam, NL, pp. 1–23.

VILCA, F. Z. et al. Concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in liver samples of juvenile green sea turtles from Brazil: Can these compounds play a role in the development of fibropapillomatosis? **Marine pollution bulletin**, v. 130, p. 215-222, 2018.

WYNEKEN, J. Guide to the anatomy of sea turtles. **Jacksonville: NOAA Technical Memorandum MNFS-SEFSC**. 470p., 2001.

YAGHMOUR, Fadi; SAMARA, Fatin; ALAM, Isra. Analysis of polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in the tissues of green sea turtles, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) from the eastern coast of the United Arab Emirates. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, p. 111574, 2020.

YLITALO, G. M. et al. Determining oil and dispersant exposure in sea turtles from the northern Gulf of Mexico resulting from the Deepwater Horizon oil spill. **Endangered Species Research**, v. 33, p. 9-24, 2017.

APÊNDICE 1 – INDICAÇÃO DE COLETA DOS ESPÉCIMES ANALISADOS

Espécime	Espécie	Biometria (CCCxLCC)	Fase de Vida	Município	Estado	Local de coleta	Data de coleta
CM_01	<i>Chelonia mydas</i>	84cm x 83cm	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem/PE	09/09/2020
CM_02	<i>Chelonia mydas</i>	86cm x 96cm	Adulto	Recife	PE	Boa Viagem/PE	30/09/2020
CM_03	<i>Chelonia mydas</i>	82cm x 35cm	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem/PE	05/10/2020
CM_04	<i>Chelonia mydas</i>	33cm x 30cm	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Jaboatão/PE	17/10/2020
CM_05	<i>Chelonia mydas</i>	65cm x 62cm	Juvenil	Olinda	PE	Olinda/PE	17/10/2020
CM_06	<i>Chelonia mydas</i>	22cm x 18,5cm	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Jaboatão/PE	09/12/2020
CM_07	<i>Chelonia mydas</i>	58,2cm x 53cm	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto de Galinhas/PE	14/01/2020
CM_08	<i>Chelonia mydas</i>	105cm x 103cm	Adulto	Ipojuca	PE	Porto de Galinhas/PE	25/04/2021
CM_09	<i>Chelonia mydas</i>	33,5cm x 30,2cm	Juvenil	Ipojuca	PE	Muro Alto/PE	25/02/2021
CM_10	<i>Chelonia mydas</i>	93,5cm x 83cm	Adulto	Ipojuca	PE	Merepe/PE	14/05/2021
CM_11	<i>Chelonia mydas</i>	30,8cm x 28,2cm	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto de Galinhas/PE	25/04/2021
CM_12	<i>Chelonia mydas</i>	51cm x 47,2cm	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracaipe/PE	23/03/2021
LO_01	<i>Lepidochelys olivacea</i>	70cm x 69cm	Adulto	Olinda	PE	Olinda/PE	23/09/2020
LO_02	<i>Lepidochelys olivacea</i>	64cm x 64cm	Adulto	Cabo de Santo Agostinho	PE	Itapuama/PE	26/01/2021
CC_01	<i>Caretta caretta</i>	73cm x 74cm	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem/PE	08/11/2020
02-DEZ2020- AQAR	<i>Chelonia mydas</i>	50,9cm x 49,4cm	Juvenil	Aracati	CE	Praia de Quixaba - Aracati/CE	29/12/2020
01-JAN2021- AQAR	<i>Chelonia mydas</i>	34,2cm x 32,5cm	Juvenil	Aracati	CE	-	08/01/2021
03- JAN2021- AQAR	<i>Lepidochelys Olivacea</i>	64,7cm x 65cm	Adulto	Beberibe	CE	Praia de Morro Branco - Beberibe/CE	22/01/2021
03-MAR2021- AQAR	<i>Chelonia mydas</i>	50,7cm x 45,9cm	Juvenil	Aracati	CE	Praia de Canoa Quebrada - Aracati/CE	07/03/2021
03-OUT2020- ABPM	<i>Caretta caretta</i>	70,6cm x 67,7cm	Juvenil	Areia Branca	RN	Praia do Meio - Areia Branca	21/10/2020

01-JUL2020-AQAR	<i>Lepidochelys Olivacea</i>	64cm x 68cm	Adulto	Aquiraz	CE	Praia - Aquiraz/ CE	13/07/2020
01-FEV2021-AQAR	<i>Caretta caretta</i>	76cm x 69,5cm	Juvenil	Aracati	CE	Praia de Murici - Aracati/CE	03/02/2021
06-MAI2021-GM	<i>Chelonia mydas</i>	54cm x 47,6cm	Juvenil	Macau	RN	Praia de Barreiras - Macau/RN	24/05/2021
01-MAR2021-GM	<i>Chelonia mydas</i>	56cm x 54,2cm	Juvenil	Guamaré	RN	Amaro - Guamaré	08/03/2021
05-FEV2020-ABPM	<i>Caretta caretta</i>	66,5cm x 64cm	Juvenil	Areia Branca	RN	Praia de Morrinhos - Areia Branca/RN	02/02/2021
01-JAN2021-GRIC	<i>Chelonia mydas</i>	83,9cm x 78cm	Juvenil	Grossos	RN	Praia de Alagamar - Grossos/RN	02/01/2021
12-DEZ2020-ABPM	<i>Chelonia mydas</i>	105,5cm x 101cm	Adulto	Areia Branca	RN	Praia de Upanema - Areia Branca/RN	27/12/2020
01-JAN2020-AQAR	<i>Chelonia mydas</i>	35cm x 33,5cm	Juvenil	Aquiraz	CE	Praia - Aquiraz/CE	12/01/2020
01-JAN2020-ABPM	<i>Chelonia mydas</i>	34,4cm x 32,3cm	Juvenil	Areia Branca	RN	Praia de Ponta do Mel - Areia Branca/RN	08/01/2020
01-FEV2020-ABPM	<i>Chelonia mydas</i>	30cm x 29cm	Juvenil	Areia Branca	RN	Praia de São Cristovão - Areia Branca/RN	01/02/2020
02-FEV2021-AQAR	<i>Chelonia mydas</i>	101,5 cm x 92,5cm	Adulto	Aracati	CE	Rio em Aracati - Aracati/CE	14/02/2021
02-FEV2021-GRIC	<i>Chelonia mydas</i>	31,5 cm x 31,5cm	Juvenil	Grossos	RN	Praia de Alagamar - Grossos/RN	02/02/2021
27-JUN2021-GRIC	<i>Chelonia mydas</i>	88,9cm x 81,2cm	Adulto	Icapuí	CE	Praia de Manibu - Icapuí/CE	21/06/2021
54-JAN2021-GRIC	<i>Chelonia mydas</i>	46,8cm x 41cm	Juvenil	Icapuí	CE	Praia de Vila Nova - Icapuí/CE	31/01/2021
CM_27	<i>Chelonia mydas</i>			Ipojuca	PE		06/08/2021
CM_28	<i>Lepidochelys olivaceae</i>	64,5cm x 67,3cm	Juvenil	Ipojuca	PE	Serrambi/PE	01/08/2021
CM_29	<i>Chelonia mydas</i>	25,7cm x 23,1cm	Juvenil	Ipojuca	PE	Cupe/PE	07/08/2021
CM_30	<i>Chelonia mydas</i>	59cm x 46,5cm	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracaípe/PE	31/08/2021

Artigo a ser submetido à revista: Tropical Ecology (normas da revista em anexo)

Conceito: A3

Análises de elementos-traço nos tecidos hepáticos e musculares de *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no período pré e pós derramamento de óleo no nordeste brasileiro em 2019.

GIULIA DE ANDRADE LIMA BERTOTTI¹, PIERRE CASTRO SOARES², DANIEL NUNES ARAÚJO GONÇALVES², MÍDIÃ DA SILVA RODRIGUES³, GERALDO JORGE BARBOSA DE MOURA^{4*}

¹*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos. Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação – UFRPE.*

²*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-9000, Dois Irmãos, Recife- Pernambuco, Brasil. Departamento de Medicina Veterinária, Laboratório de Doenças Metabólicas dos Ruminantes.*

³*Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-9000, Dois Irmãos, Recife- Pernambuco, Brasil. Departamento de Biologia, Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos.*

⁴*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-9000, Dois Irmãos, Recife- Pernambuco, Brasil. Departamento de Biologia, Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos. Programa de Pós-graduação em Biodiversidade-UFRPE. Programa de Pós-graduação em Biociência Animal-UFRPE, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais-UFRPE.*

*Autor de Correspondência: geraldo.jbmoura@ufrpe.br

Resumo

O petróleo no mar contribui significativamente para a bioacumulação de substâncias tóxicas em tartarugas marinhas, como os elementos-traço, esses, que em relação a sua classificação e concentração, podem acarretar prejuízos para o funcionamento dos organismos. A partir disso, o objetivo deste trabalho foi realizar análises quali-quantitativas de elementos-traço retidos nos tecidos hepáticos e musculares de tartarugas marinhas pré e pós derramamento de óleo documentado no Nordeste do Brasil em 2019, utilizando *Chelonia mydas* como espécie modelo. Foram coletados materiais de 43 animais entre os anos de 2016 e 2018 (Grupo 1) e 29 entre os anos de 2020 e 2021 (Grupo 2). Foram realizadas necrópsias para remover o fígado e o tecido muscular peitoral do animal. Uma amostra de cada tecido foi enviada para o LDMN/UFRPE onde foi realizado secagem e pesagem das amostras e encaminhado para o CENAPESQ/UFRPE, onde foram submetidas à digestão úmida em digestor de micro-ondas, e análise por espectrometria de absorção atômica com plasma indutivamente acoplado, possibilitando a quantificação dos elementos Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn. Para ambos os grupos, os elementos mais abundantes foram Zn, Al, Cu e Ni, no entanto, para o grupo 2, as concentrações de Pb também apresentaram altas quantidades em relação aos demais elementos. O grupo 1 apresentou maiores concentrações quando comparado ao grupo 2, com exceção do Pb e os dois grupos apresentaram maiores concentrações no fígado do que nos músculos. Ambos os grupos não demonstraram diferenças significativas entre as medidas biométricas dos animais.

Abstract

Oil spill in the sea contributes significantly to the bioaccumulation of toxic substances in marine environments, such as trace elements, which can bring damage to the functioning of aquatic organisms. From this, the objective of this work was to perform a qualitative and quantitative analysis of trace elements retained in the liver and muscle tissues of sea turtles, before and after the oil spill documented in Northeast Brazil in 2019, using *Chelonia mydas* as a model species. 43 specimens were collated between the years 2016 and 2018 and 29 between 2020 and 2021. Necropsies were performed to remove the liver and skeletal muscle. A sample of each tissue was sent to CENAPESQ – UFRPE where they were submitted to wet microwave digestion and atomic absorption spectrometry with inductively coupled plasma, allowing the quantification of the elements Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb and Zn. For the two groups, the most abundant elements were Zn, Al, Cu and Ni, however, for group 2, in addition to the elements cited, Pb was also abundant in relation to the others. Group 2 showed great differences when compared to Group 1. Groups 1 and 2 presented bigger concentrations in the liver than the muscle. Both groups are not significant between biometrics and substances.

1. INTRODUÇÃO

O derramamento de óleo que atingiu o litoral brasileiro no segundo semestre do ano de 2019, alastrou-se por todos os estados da zona costeira do Nordeste e algumas localidades da região Sudeste, sendo reconhecido como um dos maiores desastres ambientais da história do país. Foi documentada a contaminação por petróleo cru em 11 estados do território brasileiro, em uma faixa litorânea de mais de 5 mil quilômetros de extensão, atingindo ambientes pelágicos, recifais, costeiros e estuarinos (Lourenço et al. 2020; Magris et al. 2020).

O petróleo quando derramado no ambiente, afeta os aspectos originais dos ecossistemas, interferindo na estabilidade das relações entre os organismos vivos e o meio, gerando o desequilíbrio da saúde ambiental (Ribeiro 2012). Os impactos ambientais e sociais decorrentes desse desastre ainda estão sendo identificados e analisados, no entanto, muitos já foram considerados de larga escala (Soares et al. 2020). Os efeitos desse evento contabilizaram inúmeras consequências socioeconômicas para os setores da pesca e turismo, os quais tiveram de ser estagnados para garantir a saúde e segurança alimentar dos consumidores. Além dos impactos sociais, foi documentada uma série de prejuízos causados à saúde ambiental e a biodiversidade dos locais atingidos (Araújo et al. 2020; Lourenço et al. 2020).

Durante o recolhimento do óleo nas praias do litoral nordestino, foram reportados diversos organismos florísticos e faunísticos recobertos pelo petróleo cru, sendo as tartarugas marinhas os indivíduos mais atingidos, registrando-se 105 tartarugas encontradas parcialmente ou totalmente oleadas, entre o período de setembro de 2019 e janeiro de 2020 (IBAMA, 2020).

No Brasil, ocorrem cinco das sete espécies de tartarugas marinhas viventes, sendo essas *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758), *Caretta caretta* (LINNAEUS, 1758), *Eretmochelys imbricata* (LINNAEUS, 1766) e *Lepidochelys olivacea* (ESCHSCHOLTZ, 1829) (MARCOVALDI; MARCOVALDI, 1999) e a *Dermochelys coriacea* (LINNEAUS, 1766). Todas as espécies citadas sofrem ameaça de extinção, em diferentes escalas, (Livro Vermelho

de Ameaça de Extinção, 2018; IUCN, 2020), sendo as ações antrópicas tais como a pesca, a destruição de habitats e a poluição do ambiente as principais causas da redução populacional dos animais.

O despejo de substâncias derivadas do petróleo em alto mar contribui significativamente como uma fonte direta de poluentes no ambiente aquático, facilitando a bioacumulação substâncias nos organismos, como os elementos-traço. Os elementos-traço são caracterizados por metais catiônicos retidos em baixas concentrações e que podem ou não alterar a homeostase do funcionamento dos organismos vivos.

Os elementos-traço são divididos em essenciais e tóxicos. Os elementos essenciais, são aqueles que os organismos necessitam para realizar suas atividades metabólicas e bioquímicas. No entanto, eles devem estar concentrados em pouca quantidade, caso contrário, podem ser prejudiciais para o indivíduo. Os elementos tóxicos, também chamados de não essenciais, são aqueles, que mesmo em pequenas concentrações são danosos aos organismos.

Ao longo dos anos, estudos tem relatado que as tartarugas marinhas, estão se caracterizando como animais sentinelas quando se trata de alterações de elementos-traço em seu habitat, tendo em vista o grande poder acumulativo de tais substância que esses animais possuem (Cortes-Goméz et al. 2017). Isso se dá em decorrência do lento metabolismo e baixa explosão energética das tartarugas, o que dificulta os processos metabólicos dos elementos em questão. Além disso, o ciclo de vida longo e a grande variedade na dieta das tartarugas, as deixam ainda mais vulneráveis a entrar em contato com substâncias tóxicas (Grain et al. 1995).

Observando o cenário pós derramamento de petróleo na costa brasileira, torna-se necessário avaliar as consequências decorrentes da contaminação dos habitats atingidos. Utilizar as tartarugas marinhas como ferramenta de biomonitoramento para investigar os padrões de retenção de substâncias tóxicas presentes no petróleo cru, como elementos-traço,

além estipular a saúde ambiental do ecossistema atingido, é capaz de indicar possíveis impactos à saúde e sobrevivência desses animais devido ao impacto antrópico nas zonas costeiras (Miguel et al. 2022).

A partir disso, o objetivo deste trabalho foi realizar a análise qualiquantitativa de elementos traços nos tecidos hepáticos e musculares de tartarugas marinhas, utilizando *Chelonia mydas* como espécie modelo, estabelecendo os padrões de retenção de substâncias para cada um dos tecidos estudados, assim como, realizar uma análise comparativa entre resultados obtidos de animais coletados antes e depois do derramamento de óleo documentado no Nordeste do Brasil em Setembro de 2019.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram recolhidos 73 exemplares de *Chelonia mydas* encalhados entre os anos de 2016 e 2021, ao longo das praias do litoral de Pernambuco (Olinda, Recife, Jaboatão dos Guararapes, Cabo de Santo Agostinho e Ipojuca), litoral do Rio Grande do Norte (Grossos, Guamaré, Macau e Areia Branca) e litoral do Ceará (Aracati, Beberibe, Aquiraz e Icapuí) (Figura 1). Os espécimes foram divididos em 2 grupos. O grupo 1 foi composto por animais coletados entre os anos de 2016 e 2018 (antes do derramamento de petróleo) e o grupo 2 foi composto pelos animais coletados entre os anos de 2020 e 2021 (pós derramamento de petróleo). Os exemplares foram classificados em diferentes níveis de decomposição, segundo Flint et. al (2009), utilizando apenas aqueles com carcaça nas fases D1, D2 ou D3 de decomposição.

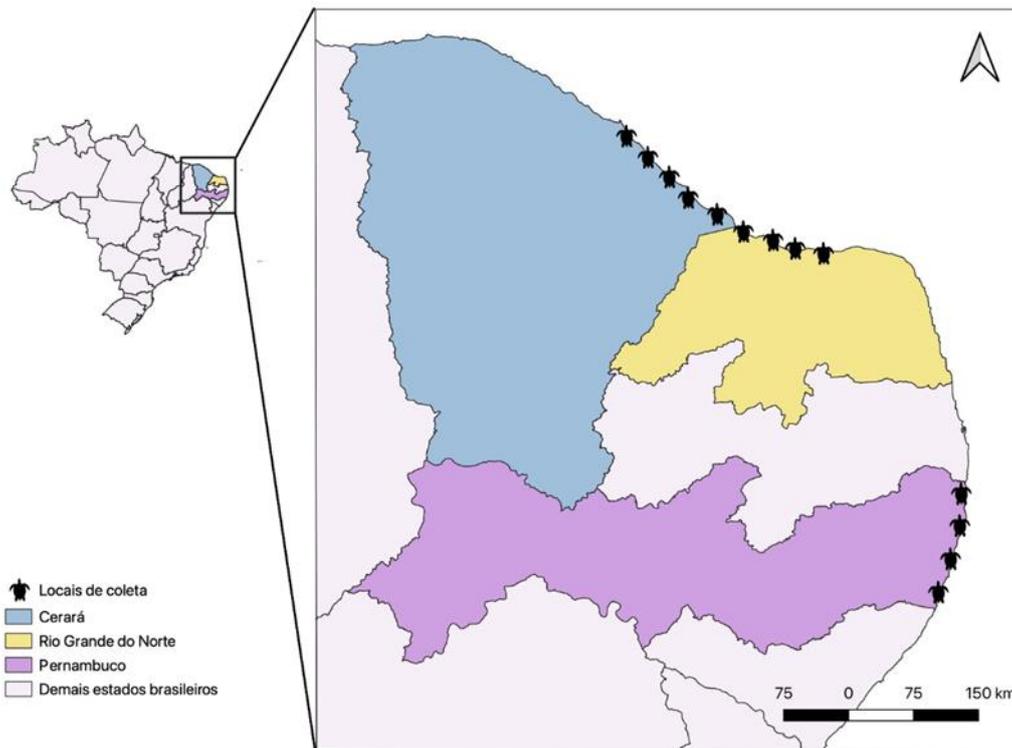


Figura 1. Representação Gráfica dos locais de coletas dos espécimes de tartarugas marinhas encontrados encalhados (Georreferenciar).

2.1 Triagem do material

Foram realizadas medições biométricas tais como o comprimento da curvatura da carapaça (CCL) e largura da curvatura da carapaça (CCW) com o intuito de caracterizar os espécimes quanto ao seu estágio de desenvolvimento ontogenético (Bolten 1999). Foram caracterizadas como juvenis as tartarugas marinhas com menos de 95 cm de comprimento curvilíneo de carapaça (CCL), baseado no tamanho mínimo de fêmeas documentadas em reprodução nas praias brasileiras (Grossman et al. 2007).

Após os procedimentos de triagem, foi realizada necrópsia para a remoção do tecido hepático e tecido muscular esquelético do animal, seguindo a metodologia de Wyneken 2001.

As amostras de fígado e musculatura coletadas foram armazenadas em recipientes de vidro, que foram rotulados e refrigerados. Na sequência, as amostras de cada tecido, foram enviadas para o Laboratório de doenças metabólicas e nutricionais (LDMN) no departamento

de medicina veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde foi realizado a preparação das amostras para posterior quantificação dos elementos-traço no centro de apoio à pesquisa (CENAPESQ) da UFRPE.

2.4 Preparo das amostras

As amostras de músculo e fígado foram descongeladas, armazenadas em placas de Petri e identificadas. Posteriormente, foram secas em estufa com temperatura variando entre 55°C e 60°C por aproximadamente 24 horas ou até a secagem completa. Após a secagem, o órgão foi triturado com o auxílio de almofariz e pistilo para homogeneização da amostra. Com o objetivo de evitar contaminação, os tecidos (músculo e fígado) foram secos em estufa separadamente.

2.4.1 Quantificação e qualificação dos elementos-traço

Anteriormente à quantificação dos elementos, as amostras foram submetidas à digestão ácida assistida por radiação micro-ondas em equipamento PROVECTO 3000. As soluções de branco analítico foram realizadas em triplicata e passaram por todas as etapas de preparo das amostras descritas abaixo.

2.4.2 Digestão

Foram pesadas 500 mg de cada amostra (fígado e músculo) em balança digital analítica e transportados para frasco de politetrafluoroetileno modificado (TFM), juntamente com 5 ml de ácido nítrico concentrado (14 mol L⁻¹, 65% m/m) (Química Moderna, Brasil). Os vasos foram fechados e submetidos ao forno de micro-ondas (DGT 100 Plus, Provecto Analítica, Brasil) com o seguinte procedimento de aquecimento: (a) 330 W por 5 min, (b) 660 W por 5 minutos, (c) 900 W por 4 minutos e (d) 0 W por 7 minutos. Após a digestão, o conteúdo foi transferido para um tubo cônico de polietileno, completando-se o volume para 15 mL com água destilada-deionizada.

2.5. Determinação do limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD)

Os limites de quantificação (LQ) e de detecção (LD) foram obtidos a partir da preparação de 10 brancos analíticos que seguiram o procedimento de digestão estabelecido para as demais amostras. O limite de detecção é definido como $3 \times \text{DP Branco/a}$ e o limite de quantificação como $10 \times \text{DP Branco/a}$, sendo “DP Branco” o desvio padrão do sinal analítico do branco ($n = 10$) e “a” o coeficiente angular da curva analítica (Analytical Methods Committee, 1987). Neste trabalho, foram analisadas as concentrações dos elementos que apresentaram valor acima do limite de quantificação.

2.6. Quantificação dos minerais

Os elementos alumínio (Al), cádmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), chumbo (Pb) e zinco (Zn) foram identificados e quantificados com o auxílio de um espectrômetro de absorção atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) modelo 5100 Agilent Technologies, EUA. Para a operação do equipamento foi utilizada potência de radiofrequência de 1200 W; vazão de gás do plasma de 12 L min^{-1} , vazão de gás auxiliar de $1,0 \text{ L min}^{-1}$; vazão de gás de nebulização de $0,7 \text{ L min}^{-1}$, vazão de amostra de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$; tempo de lavagem (*flush time*) de 10 segundos; tempo de atraso de registro de sinal (*delay time*) de 15 segundos; nebulizador concêntrico e câmara de nebulização ciclônica.

As faixas de emissão (nm) registradas na vista axial do plasma, que representaram a curva de calibração da análise, foram: Al I 396,152, Cd II 214,439, Co II 228,615, Cr II 267,716, Cu I 327,395, Fe II 238,204, Mn II 257,610, Mo II 202,032, Ni II 231,604, Pb II 220,353 e Zn I 213,857.

A curva analítica multielementar foi preparada a partir de uma solução mãe multielementar (Specsol, Brasil) na concentração de 1000 mg/L cada. As soluções foram preparadas em meio de HNO_3 a 5% (v/v) para aumentar sua estabilidade, evitando a precipitação e adsorção dos analitos nos recipientes.

2.5 Análises estatísticas

Foi calculada a média e o desvio padrão dos resultados obtidos. Para testar a normalidade dos dados analisados, em cada uma das espécies estudadas, foi utilizado o teste Kolmogorov-Smirnov. Os resultados que não apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variância, foram submetidos à transformação com base logarítmica ($\text{Log}X+1$) ou radical ($x+1$). As análises foram realizadas no Statistical Analysis System (SAS), utilizando-se o procedimento General Linear Model (GLM) do SAS.

3. RESULTADOS

O grupo 1 (espécimes coletados entre 2016 e 2018) foi composto por 43 exemplares de *Chelonia mydas* encontradas encalhadas ao longo das praias do litoral sul de Pernambuco, nos municípios de Olinda, Recife, Jaboatão dos Guararapes e Cabo de Santo Agostinho (Tabela 1). O comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) apresentou média de 46,6 e desvio padrão de 14,8 variando de 32 a 67 cm; e a largura da curvatura da carapaça (LCC) apresentou média de 41,6 e desvio padrão de 9,92 variando de 29 a 61 cm.

Tabela 1. Quantidade de indivíduos recolhidos no litoral do Nordeste brasileiro entre os anos de 2016 e 2018 e seus respectivos locais de coleta.

Localidade	Indivíduos Coletados
Ipojuca/PE	17
Recife/PE	4
Jaboatão dos Guararapes/PE	14
Cabo de Santo Agostinho/PE	2

O grupo 2 (espécimes coletados entre 2020 e 2021), foi composto por 29 indivíduos da espécie *Chelonia mydas* encontrados encalhados ao longo do litoral Nordestino, dos quais 15 foram recolhidas ao longo da faixa litorânea de Pernambuco, 7 ao longo do litoral norte do Rio Grande do Norte e 7 no litoral sul do Ceará. As localidades de coleta, em cada um dos estados, estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2. Quantidade de indivíduos recolhidos no litoral do Nordeste brasileiro nos anos de 2020 e 2021 e seus respectivos locais de coleta.

Localidade	Indivíduos Coletados
Ipojuca/PE	10
Recife/PE	4
Jaboatão dos Guararapes/PE	2
Cabo de Santo Agostinho/PE	1
Olinda/PE	2
Aracati/CE	4
Beberibe/CE	1
Aquiraz/CE	2
Icapuí/CE	2
Areia Branca/RN	5
Grossos/RN	2
Guamaré/RN	1
Macau/RN	1

O comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) apresentou média de 53,46 cm e desvio padrão de 23,09, variando de 22 a 93,5 cm; e a largura da curvatura da carapaça (LCC) apresentou média de 49,5 e desvio padrão de 21,83, variando de 18,5 a 86 cm.

3.1 Limite de quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação do método para os elementos analisados estão representados na Tabela 3.

Tabela 3. Limite de quantificação do método para os elementos determinados

Amostra (mg Kg ⁻¹)	Al	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Pb	Zn
Fígado	4,0	0,05	0,19	0,11	0,35	3,3	0,055	0,28	2,2	6,1	12
Músculo	1,7	0,053	0,18	0,13	0,21	3,1	0,099	0,28	0,46	1,4	1,7

3.2 Concentrações de elementos-traço nos tecidos

Os animais do Grupo 1 tiveram 10 elementos identificados, apresentando diferentes concentrações de acordo com o tecido analisado. Tais concentrações estão destacadas na Tabela 4, representadas pelos seus valores médios, mínimos e máximos. O músculo apresentou

menores valores de retenção em relação ao fígado para todos os elementos, com exceção do Pb e do Ni, que apresentaram os maiores valores de concentração encontrados no músculo. No fígado, o elemento com maior concentração detectada foi o Al. Os elementos Cr, Cd, Mn e Cu apresentaram concentrações elevadas no fígado, enquanto foram quantificados em baixas concentrações no músculo. Co e Mo apresentaram baixa retenção nos dois tecidos analisados.

Tabela 4. Valores médios, mínimos e máximos das concentrações de elementos traço de 43 tartarugas (Grupo 1) em amostras de fígado e músculo.

	Fígado				Músculo			
	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo
Al	440,60	314,25	4,00	927,91	17,67	103,49	1,70	672,40
Cd	12,26	8,66	3,49	44,22	0,30	0,69	0,05	4,56
Co	0,78	0,53	0,29	3,14	0,19	0,07	0,18	0,61
Cr	14,56	10,82	0,11	32,07	0,69	3,62	0,13	23,57
Cu	64,68	48,99	6,39	212,29	1,53	5,30	0,21	34,89
Mn	7,05	3,69	0,42	16,97	0,36	1,07	0,10	5,63
Mo	0,89	0,61	0,28	3,06	0,30	0,11	0,28	1,01
Ni	4,41	2,38	2,20	10,55	16,41	12,59	0,46	31,16
Pb	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,18	2,37	1,40	7,42
Zn	81,92	34,50	30,59	193,36	74,28	36,97	17,90	225,05

* DP = Desvio Padrão; * LD = Limite de Detecção

Os animais do Grupo 2 também tiveram os 10 elementos identificados, os quais suas concentrações estão dispostas na Tabela 4, representadas pelos seus valores médios, mínimos e máximos. O tecido muscular apresentou menores concentrações dos elementos identificados. O elemento com maior concentração para ambos os tecidos foi o Zn, seguido pelo Pb, Ni e Al. No músculo, Cd, Co, Cr e Mo ficaram abaixo do limite de detecção das concentrações, enquanto no fígado nenhum dos elementos quantificados ficaram abaixo desse valor.

Tabela 5. Valores médios, mínimos e máximos das concentrações de elementos traço de 29 tartarugas (Grupo 2) em amostras de fígado e músculo.

	Fígado				Músculo			
	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo
Al	2,28	4,82	0,23	22,99	1,56	3,96	0,14	18,42
Cd	0,62	0,62	<LQ	2,30	0,03	0,15	<LQ	0,68
Co	0,01	0,04	<LQ	0,10	<LQ	0,01	<LQ	<LQ
Cr	0,02	0,05	<LQ	0,21	<LQ	0,01	<LQ	0,03
Cu	3,18	2,34	0,29	10,63	0,40	0,97	0,01	4,26
Mn	0,60	0,64	0,05	2,59	0,03	0,09	<LQ	0,34
Mo	0,02	0,04	<LQ	0,16	<LQ	0,01	<LQ	<LQ
Ni	2,83	0,92	1,42	4,25	1,72	1,55	<LQ	3,53
Pb	3,75	1,20	1,89	5,66	2,25	2,05	<LQ	4,61
Zn	36,14	9,65	19,40	48,67	22,11	17,52	1,73	45,63

* DP = Desvio Padrão; * LD = Limite de Detecção

A representação gráfica das concentrações dos elementos no tecido hepático para os grupos 1 e 2 estão dispostas na figura 2, com exceção do Al, uma vez que a concentrações deste foram muito altas, discrepando-se dos demais elementos. Todos os elementos apresentaram maiores valores de retenção no grupo 1, com exceção do Pb, o qual ficou abaixo do limite de quantificação no grupo 1 e apresentou média de $3,75 \pm 1,02$ ng/g para o grupo 2.

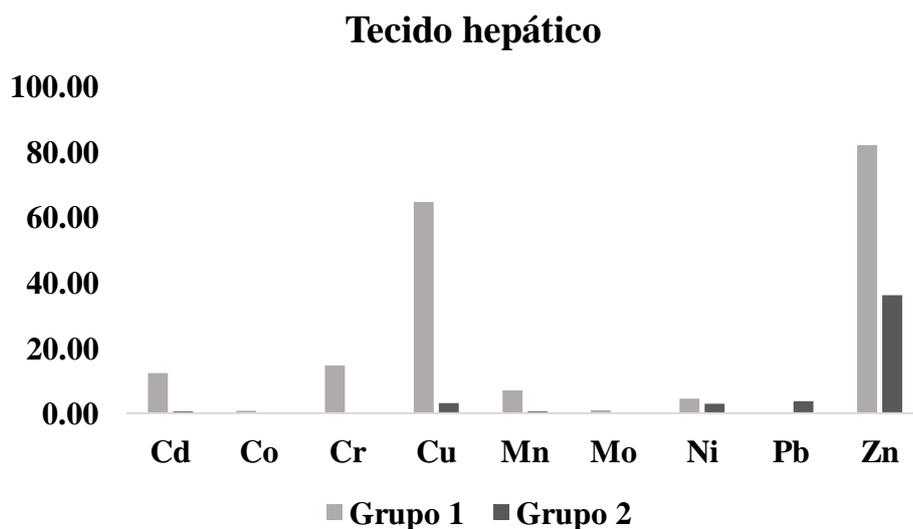


Figura 2. Médias das concentrações dos elementos Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn no tecido hepático para cada um dos grupos analisados.

Para o tecido muscular, a representação gráfica das concentrações encontradas de acordo com o grupo de referência está na figura 3, com exceção do Al. Para este tecido, todas as concentrações foram maiores no grupo 1 quando comparado ao grupo 2.

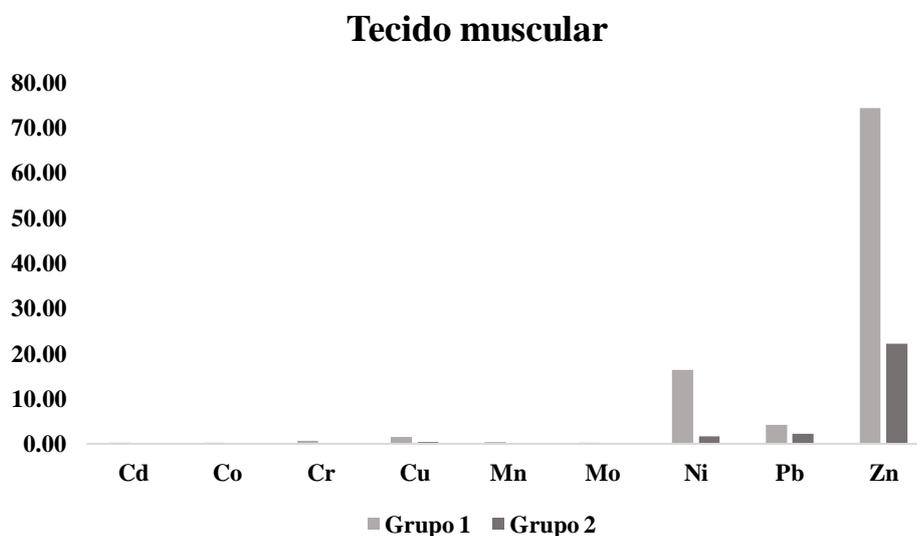


Figura 3. Médias das concentrações dos elementos Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn no tecido muscular para cada um dos grupos analisados.

3. DISCUSSÃO

Sabe-se que o derramamento de óleo que se estendeu pelo litoral brasileiro foi responsável por causar uma série de prejuízos sociais e ambientais, incluindo a contaminação da biota atingida pelas substâncias do petróleo (Disner et al. 2020; Araújo et al. 2020). O petróleo é composto por uma série de substâncias, em sua maioria tóxicas, sendo os hidrocarbonetos os mais abundantes. Estudos vem sendo realizados para estimar a contaminação das zonas atingidas, no entanto, as pesquisas têm sido voltadas para a quantificação e identificação de tais hidrocarbonetos (Lourenço et al. 2020; De Santana Campelo et al. 2021; Magalhães et al., 2022). Todavia, a determinação dos elementos metálicos neste resíduo é significativa na obtenção de uma avaliação correta do impacto ambiental causado por eventos de derramamento (Souza 2003).

No presente estudo, as análises comparativas entre as concentrações de elementos-traço em tartarugas coletadas antes e depois do óleo, sugerem que, ainda que tais compostos sejam encontrados no petróleo cru, em uma análise geral, o contato desses animais com os resíduos não foi significativo para o aumento da retenção das substâncias em seus tecidos, tendo em vista que as concentrações presentes nos animais do grupo 1 foram significativamente maiores do que no grupo 2, para quase todos os elementos quantificados. Entretanto, especificamente a quantificação do Pb, foi maior nos indivíduos coletados depois do derramamento nas amostras de fígado. O Pb está presente nos resíduos do petróleo em pequenas concentrações, no entanto, é considerado um dos elementos mais tóxicos da sua composição. Os níveis de chumbo quando presente em tecidos animais, é considerado baixo apenas para concentrações <0,5 ng/g. Quanto às tartarugas, as concentrações de chumbo aparecem geralmente em valores mais baixos do que os identificados nas amostras (Gardner et al. 2006; Medeiros Silva 2011; Faust et al. 2014; Cortés-Goméz 2017).

O Pb é um metal não essencial para o funcionamento dos organismos vivos, capaz de causar uma série de complicações patológicas como efeitos teratogênicos e desordens nos processos de fosforilação oxidativa mitocondrial (Storelli et al. 2005; Hueza et al. 2008). Este elemento, quando está na sua forma metilada, se torna mais lipossolúvel, facilitando a bioacumulação nos tecidos que apresentam células gordurosas, como o tecido hepático. Estudos anteriores realizados com tartarugas marinhas (Godley et al. 1999) mostram que este elemento possui preferência de acumulação em tecidos calcificados, como ossos e carapaça, o que também pode causar deficiência nos níveis de Ca nos organismos. No entanto, para os órgãos internos analisados neste estudo, a tendência é que o Pb se deposite primeiramente no fígado, e em seguida no músculo, como observado para o grupo 2, mas contrário ao grupo 1, que não apresentou valores significativos de Pb no fígado e valores elevados no músculo. As investigações do chumbo em diferentes tecidos de tartarugas marinhas são recorrentes, tendo em vista a capacidade tóxica deste metal (Cortés-Gomez et al. 2017). Silva et al. em 2011,

encontrou resultados que acusaram relação positiva entre as concentrações de Pb nos tecidos de tartarugas, com a presença de fibropapilomatose. Também documentou, a relação entre o CCC e os valores deste elemento, sugerindo que quanto mais desenvolvidas, se tornam mais expostas aos malefícios dessa bioacumulação.

As concentrações de Zn foram significativas nos dois grupos analisados, no qual o grupo 1 apresentou maiores valores de retenção. Diferente do Pb, o Zn é um elemento essencial para o funcionamento dos organismos vivos. No entanto, a depender da concentração, este pode causar efeitos tóxicos (Sandstead 2014). O Zn tem sido identificado em demais pesquisas como o mais abundante dos elementos estudados em tartarugas marinhas (Camacho et al. 2013; Ley-Quiñónez et al. 2013).

O Al foi o mineral com a maior concentração encontrada dentre todas as amostras (média Al grupo 1 fígado = $440,60 \pm 314,25$ ng/g), sendo também abundante para as amostras de músculo desse grupo. Para o grupo 2, os valores de Al também foram relativamente altos, em relação aos demais minerais. O Al não é um elemento essencial para o funcionamento dos seres vivos, no entanto, este é o elemento mais abundante no planeta, facilitando os processos de bioacumulação (European Aluminium Association 2011). Sabe-se que o Al possui atividade tóxica quando acumulado em altas concentrações, entretanto, para tartarugas marinhas, as investigações sobre os efeitos da retenção do alumínio são escassas (McFadden et al. 2014).

O grupo 1, apresentou altos valores de Ni, especificamente no tecido muscular (Ni grupo 1 músculo = $16,41 \pm 12,58$ ng/g). Para o grupo 2, em relação aos demais elementos quantificados, os níveis de Ni também se mostraram elevados, principalmente no fígado (Ni grupo 2 fígado = $2,83 \pm 0,79$ ng/g). O Ni é um elemento não essencial, porém também tem sido reportado em altos valores nos tecidos de tartarugas marinhas (Labrada et al 2011; Lam et al. 2006; Simões 2016). Apesar de ser um elemento potencialmente tóxico, assim como o alumínio, as investigações sobre as consequências patológicas da bioacumulação do Ni para testudines

ainda é desconhecida, mas sabe-se que, provavelmente a retenção do níquel está relacionada com a dieta do animal, uma vez que ele consome alimentos em áreas contaminadas (Ley-Quinóñez et al. 2013; Macêdo et al. 2015).

Quanto ao Cu, altas concentrações foram registradas para os dois tecidos no grupo 1, e para o tecido hepático do grupo 2. O Cu além de ser um elemento essencial é bastante investigado em várias gamas do ecossistema, uma vez que funciona como um indicador de poluição, estando presente em diversos rejeitos de atividades antrópicas como queima de combustíveis e exploração petroléira. Altas concentrações de cobre são comuns em fígado de tartarugas marinhas (Storelli et al. 2005). Os efeitos adversos que este elemento propicia aos organismos estão geralmente relacionados com a atividade respiratória dos animais (Adreanni et al. 2008).

Para os dois grupos estudados nesta pesquisa, foi observado que o tecido hepático apresentou maior propensão à retenção dos minerais analisados, o que corrobora com demais estudos realizados utilizando tartarugas marinhas (Anan 2001; Frías-Espericueta et al. 2006; Silva 2011; De Farias et al. 2022; Cortés-Gómez et al. 2017; Nicolau et al. 2017).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O despejo desequilibrado de minerais liberado no meio ambiente em decorrência de atividades antrópicas, é responsável por causar a contaminação de diferentes ecossistemas, sendo os ambientes marinhos costeiros, um dos mais atingidos. Eventos de derramamento de petróleo são uns dos responsáveis por este fenômeno e com isso, conclui-se que, após o desastre documentado no Nordeste, é possível que esses elementos estejam dissolvidos nas zonas atingidas, ainda que baseado nos resultados do presente estudo, as tartarugas marinhas analisadas não tenham apresentado diferenças significativas de concentrações para a maioria dos elementos investigados, entre os organismos coletados antes e depois do derramamento. Este resultado pode estar relacionado com o tempo de exposição dos animais do grupo 2

coletados às substâncias, o qual pode influenciar nos níveis de retenção, por isso, sugere-se que tal monitoramento torne-se periódico para a espécie *Chelonia mydas*, a qual é considerada como importante sentinela ambiental. Tendo em vista que os elementos-traço em grande quantidade, ou para alguns, em quantidades mínimas, são altamente nocivos para a saúde dos organismos, faz-se necessário a investigação e monitoramento do aumento das concentrações nos tecidos dos representantes da fauna e da flora que habitam as zonas atingidas pelo derramamento de petróleo no Nordeste do Brasil em 2019, utilizando da comparação com resultados coletados anteriormente no local, buscando manter os táxons estudados e a metodologia aplicada.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem primeiramente a Fundação de Amparo à Pesquisa Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco - FACEPE, pela bolsa de mestrado concedida à Aluna Giulia Bertotti para auxílio da realização desta pesquisa. Agradecem também ao Programa de pós-graduação em biodiversidade e conservação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, ao Laboratório de Estudos Herpetológicos e Paleoherpetológicos – UFRPE, ao Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE e à ONG ECOASSOCIADOS e ao Projeto Cetáceos da Costa Branca – UERN.

6. REFERÊNCIAS

- Anan Y et al. (2002) Subcellular distribution of trace elements in the liver of sea turtles. Mar. Poll. Bull., 45(1-12)224-229.
- Araújo MED, Ramalho CWN, Melo PWD (2020). Artisanal fishers, consumers and the environment: immediate consequences of the oil spill in Pernambuco, Northeast Brazil. Cad. de Sal. Pub., 36.
- BOLTEN AB (1999) Techniques for measuring sea turtles. In: Research and management techniques for the conservation of sea turtles, pp 110-114.

Camacho M et al. (2013) Crude oil as a stranding cause among loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the Canary Islands, Spain (1998–2011). *Jour. Wild. Dis.*, 49(3):637-640.

Cortés-Gómez AA, Romero D, Girondot M (2017). The current situation of inorganic elements in marine turtles: a general review and meta-analysis. *Env. Poll.* 229:567-585.

Coutinho PN (1976) *Geologia Marinha da plataforma continental Alagoas–Sergipe*. Recife, Sad., Recife.

De Farias DSD et al. (2022). Bioaccumulation of total mercury, copper, cadmium, silver, and selenium in green turtles (*Chelonia mydas*) stranded along the Potiguar Basin, northeastern Brazil. *Chem.*, 299:134331.

De Santana Campelo RP et al. (2021) Oil spills: The invisible impact on the base of tropical marine food webs. *Mar. Pollu. Bull.*, 167:112281.

Disner GR, Torres M (2020) The environmental impacts of 2019 oil spill on the Brazilian coast: Overview. *Rev. Bras. Gest. Amb. Sust.*, 7(15):241-256.

European Aluminium Association (2011) *O alumínio no corpo humano*, Belgium.

Faust DR et al. (2014) Inorganic elements in green sea turtles (*Chelonia mydas*): relationships among external and internal tissues. *Environ. Toxicol. Chem.* 33:2020-2027.

Flint M et al. (2009) Postmortem diagnostic investigation of disease in free-ranging marine turtle populations: a review of common pathologic findings and protocols. *Jou. Vet. Diag. Inv.*, 21(6):733-759.

Frías-Espericueta MG et al. (2006) Heavy metals in the tissues of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* from a nesting site of the northwest coast of Mexico. *Bull. Env. Cont. Tox.* 77(2).

Gardner SC et al. (2006) Heavy metal accumulation in four species of sea turtles from the Baja California peninsula, Mexico. *Biometals*, 19(1):91-99.

Godley BJ, Thompson DR, Furness, RW (1999) Do heavy metal concentrations pose a threat to marine turtles from the Mediterranean Sea? *Mar. Pollu. Bull.*, 38(6):497-502.

Grain DA, Bolten AB, Bjorndal KA (1995) Effects of beach nourishment on sea turtles: review and research initiatives. *Rest. Eco.* 3(2):95-104.

HUEZA IM et al. (2008) Toxicologia do chumbo, mercúrio, arsênio e de outros metais. In: *Toxicologia aplicada à medicina veterinária*, Editora Manole, Brasil.

Ibama, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2020) *Boletim Fauna Atingida: Manchas de Óleo, Nordeste brasileiro*, Brasil.

ICMBio/MMA (2018) *Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção*. 1º edição, Brasília, DF.

IUCN (2021) *The IUCN Red List of Threatened Species*. Versão 2021. www.iucnredlist.org

Ley-Quinónez CP et al. (2013) Selected heavy metals and selenium in the blood of black sea turtle (*Chelonia mydas agasiizzi*) from Sonora, Mexico. *Bull. Env. Cont. Tox.* 91(6):645-651.

Lourenço RA, Combi T, da Rosa Alexandre M, Sasaki ST, Zanardi-Lamardo E, Yogui GT. (2020). Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019–2020): trying to find answers and filling data gaps. *Mar. Pollut Bull.*, 156:111219.

Macedo SJ, Muniz K, Flores Montes MJ (2004). Hidrologia da região costeira e plataforma continental do Estado de Pernambuco. In: *Oceanografia um cenário tropical*, Recife, Bargaço, pp. 761.

Magalhães KM et al. (2022) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. *Mar. Pollu. Bull.*, 175: 113334.

Magris RA, Giarrizzo T. (2020). Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, 153:110961.

Mcfadden KW et al. (2014) Potential impacts of historical disturbance on green turtle health in the unique & protected marine ecosystem of Palmyra Atoll (Central Pacific). **Mar. Poll. Bull.**, 89(1-2):160-167.

Miguel C et al. (2022) Health condition of *Chelonia mydas* from a foraging area affected by the tailings of the collapsed dam in southeast Brazil. *Sci. Tot. Env.* 153353.

Nicolau L et al. (2017) Trace elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) stranded in mainland Portugal: Bioaccumulation and tissue distribution. *Chem.*, 179:120-126.

Oliveira, PRA (2009) Caracterização morfológica e sedimentológica da plataforma continental brasileira adjacente aos municípios de Fortim, Aracati e Icapuí-CE. 2009.

Rainbow PS, Furness, RW (1990) Heavy metals in the marine environment. CRC Press, Boca Raton.

Ribeiro H (2012) Impactos de exploração do petróleo na saúde humana. *Revista USP* 95:61-71.

Sandstead HH, Freeland-Graves JH (2014) Dietary phytate, zinc and hidden zinc deficiency. *Jou. Trac. Elem. Med. Biol.* 28(4):414-417.

Silva CC et al. (2016) Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. *Aqua. Tox.*, 170:42-51.

Silva LM (2011) Metais pesados em tecidos de *Chelonia mydas* encalhadas no litoral do Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

Silveira JD (1964) Morfologia do litoral. In: AZEVEDO, A. (Org.). Brasil, a terra e o homem.

Simões TN (2016) Metais pesados em sedimento, cascas de ovos e sangue de tartarugas marinhas da espécie *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766). Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

Soares MO et al. (2020) Brazil oil spill response: Time for coordination. *Science*, 367:155-155.

Souza, R. M. (2003), “Determinação de elementos refratários em óleo lubrificante usado e em óleo combustível por ICP OES após emulsificação da amostra”. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio.

Storelli MM et al. (2005) Trace elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the eastern Mediterranean Sea: overview and evaluation. *Env. Pollu.*, 135(1):163-170.

Thurman HV; Trujillo AP (2005) *Océanografie*. Computer Press, Paris.

Wyneken J (2001) Guide to the anatomy of sea turtles. NOAA Technical Memorandum MNFS-SEFSC, Jacksonville.

APÊNDICE 1 - INDICAÇÃO DE COLETA DOS ESPÉCIMES ANALISADOS NO GRUPO 1

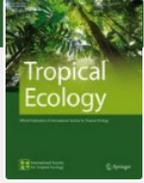
Espécime	CCC (cm)	LCC (cm)	Fase de vida	Município	Estado	Local de coleta	Data de coleta
A1	38	35,5	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem	30/11/16
A2	55	51	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem	27/03/17
A3	64,5	58	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem	31/03/17
A4	48	46	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	04/05/2017
A5	62	58	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	18/04/17
A6	36	32	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem	28/04/17
A7	42	39	Juvenil	Ipojuca	PE	Merepe	17/06/17
A8	37	34	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	20/06/17
A9	32	30	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	29/06/17
A10	34	31	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	31/06/17
A11	33,5	31	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	18/07/17
A12	38	35,3	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	08/07/2017
A13	39	36	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	14/08/17
A14	51	47,2	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	14/08/17
A15	33	32,5	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	25/08/17
A16	48	44,3	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	09/04/2017
A17	66	60	Juvenil	Ipojuca	PE	Serrambi	09/09/2017
A18	33	29	Juvenil	Ipojuca	PE	Muro Alto	20/09/27
A19	34,5	32,5	Juvenil	Ipojuca	PE	Muro Alto	20/09/17
A20	37	36,5	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	25/09/17
A21	67	61	Juvenil	Ipojuca	PE	Merepe	10/03/2017
A22	56	52,5	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	10/04/2017
A23	47,5	45	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	10/06/2017
A24	57	49,5	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáipe	16/11/17

A25	50	45,5	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	20/11/17
A26	35,5	33	Juvenil	Cabo de Santo Agostinho	PE	Suape	20/11/17
A27	40	36,7	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	12/04/2017
A28	49	34	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáípe	13/12/17
A29	35	31,5	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	18/12/17
A30	111	102,5	Adulto	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	27/12/17
A31	37	36,7	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	01/07/2018
A32	42	40	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	01/08/2018
A33	42,7	39,7	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáípe	15/01/18
A34	39	37	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáípe	16/01/18
A35	50	44	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáípe	21/01/18
A36	40	36,4	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	20/03/18
A37	54	51	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáípe	04/12/2018
A38	46,5	44,5	Juvenil	Ipojuca	PE	Cupe	25/04/18
A39	42	38	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto	18/05/17
A40	43	40	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáípe	13/06/18
A41	42,5	35	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáípe	13/06/18
A42	43	40,5	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracáípe	21/06/18
A43	37,5	32,5	Juvenil	Cabo de Santo Agostinho	PE	Paiva	07/01/2018
A44	55,5	50	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Piedade	18/9/18

APÊNDICE 2 - INDICAÇÃO DE COLETA DOS ESPÉCIMES ANALISADOS NO GRUPO 2

Espécime	CCC	LCC	Fase de Vida	Município	Estado	Local de coleta	Data de coleta
CM_01	84	83	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem/PE	09/09/2020
CM_02	86	96	Adulto	Recife	PE	Boa Viagem/PE	30/09/2020
CM_03	82	35	Juvenil	Recife	PE	Boa Viagem/PE	05/10/2020
CM_04	33	30	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Jaboatão/PE	17/10/2020
CM_05	65	62	Juvenil	Olinda	PE	Olinda/PE	17/10/2020
CM_06	22	18,5	Juvenil	Jaboatão dos Guararapes	PE	Jaboatão/PE	09/12/2020
CM_07	58,2	53	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto de Galinhas/PE	14/01/2020
CM_08	105	103	Adulto	Ipojuca	PE	Porto de Galinhas/PE	25/04/2021
CM_09	33,5	30,2	Juvenil	Ipojuca	PE	Muro Alto/PE	25/02/2021
CM_10	93,5	83	Adulto	Ipojuca	PE	Merepe/PE	14/05/2021
CM_11	30,8	28,2	Juvenil	Ipojuca	PE	Porto de Galinhas/PE	25/04/2021
CM_12	51	47,2	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracaípe/PE	23/03/2021
02-DEZ2020-AQAR	50,9	49,4	Juvenil	Aracati	CE	Praia de Quixaba - Aracati/CE	29/12/2020
01-JAN2021-AQAR	34,2	32,5	Juvenil	Aracati	CE	-	08/01/2021
03-MAR2021-AQAR	50,7	45,9	Juvenil	Aracati	CE	Praia de Canoa Quebrada - Aracati/CE	07/03/2021
06-MAI2021-GM	54	47,6	Juvenil	Macau	RN	Praia de Barreiras - Macau/RN	24/05/2021
01-MAR2021-GM	56	54,2	Juvenil	Guamaré	RN	Amaro - Guamaré	08/03/2021
01-JAN2021-GRIC	83,9	78	Juvenil	Grossos	RN	Praia de Alagamar - Grossos/RN	02/01/2021
12-DEZ2020-ABPM	105,5	101	Adulto	Areia Branca	RN	Praia de Upanema - Areia Branca/RN	27/12/2020
01-JAN2020-AQAR	35	33,5	Juvenil	Aquiraz	CE	Prainha - Aquiraz/CE	12/01/2020
01-JAN2020-ABPM	34,4	32,3	Juvenil	Areia Branca	RN	Praia de Ponta do Mel - Areia Branca/RN	08/01/2020
01-FEV2020-ABPM	30	29	Juvenil	Areia Branca	RN	Praia de São Cristovão - Areia Branca/RN	01/02/2020
02-FEV2021-AQAR	101,5	92,5	Adulto	Aracati	CE	Rio em Aracati - Aracati/CE	14/02/2021
02-FEV2021-GRIC	31,5	31,5	Juvenil	Grossos	RN	Praia de Alagamar - Grossos/RN	02/02/2021
27-JUN2021-GRIC	88,9	81,2	Adulto	Icapuí	CE	Praia de Manibu - Icapuí/CE	21/06/2021
54-JAN2021-GRIC	46,8	41	Juvenil	Icapuí	CE	Praia de Vila Nova - Icapuí/CE	31/01/2021
CM_27	65	65		Ipojuca	PE		06/08/2021

CM_29	25,7	23,1	Juvenil	Ipojuca	PE	Cupe/PE	07/08/2021
CM_30	59	46,5	Juvenil	Ipojuca	PE	Maracaibe/PE	31/08/2021



Tropical Ecology

[Journal home](#) > [Submission guidelines](#)

Submission guidelines

Links and downloads

[Instructions for Authors \(Download pdf, 115 kB\)](#) ↓

TROPICAL ECOLOGY

Instructions to Authors

Tropical Ecology is the official journal of the International Society for Tropical Ecology (ISTE) and is open to persons of all nations. Membership of ISTE is not a prerequisite for submitting a research article in Tropical Ecology. However, first or the corresponding author of an accepted paper should be a member of the Society for the year of acceptance/publication. Scope: Research and review papers in all fields of ecology related to the tropics and subtropics are considered for publication. Areas of current interest include: Biological diversity and its management; Conservation and restoration ecology; Human ecology; Ecological economics; Ecosystem structure and functioning; Ecosystem services; Ecosystem sustainability; Stress and disturbance ecology; Ecology of global change; Ecological modelling; Evolutionary ecology; Quantitative ecology; and Social ecology. Papers on new ecological concepts, methodology and reviews on contemporary themes, not necessarily confined to the tropics, may also be considered.

Tropical Ecology will also publish Short Communications containing technical comments, new ideas/concepts, or present a complete study that is more limited in scope than is found in full-length papers. A short communication shall not have subsection headings except for Acknowledgement(s) and References. It should not exceed 2000 words with a maximum of four small display items (Figure/Table) and 25–30 references. Refereeing: All manuscripts are peer reviewed. Authors must provide names of 3–4 potential referees with complete postal and email addresses as well as their area of expertise.

Authors shall ascertain the accuracy of the suggested reviewers' addresses and e-mails. However, the editors are not obligated to use any of the referees provided by the authors.

Language: Manuscripts should be written in English. British spellings are preferred, but it is more important to have uniformity throughout the text. Special attention should be paid to diacritical marks and spellings of words from other languages, in the text as well as in References.

Manuscript Format: The manuscript must be typed using Times New Roman size 12 font, in double space throughout including abstract, text, references, legends to figures, tables and figures. The manuscript should be arranged in the following sequence: Title-page, Abstract, Text, Acknowledgement(s), References, Legend to Figure(s), Table(s), Figure(s). Line numbers should be inserted to facilitate the review process.

Title Page: The title should concisely reflect the contents and the by-line should comprise name(s) of the author(s) and complete address of the institution where the work was carried out. Title of the paper should be in bold letters, name(s) of author(s) in capital letters and addresses in italics. If there is more than one author, the corresponding author should be indicated by an asterisk along with email address. Change of address of author(s) should also be given as a footnote on this page. A running headline of not more than 40 letters including spaces should be indicated on the title page.

Abstract: Following the title page, an abstract not exceeding 250 words and typed on a 2 separate page should be placed in all Research and Review articles including Short Communications.

Keywords: From 6 to 10 keywords (do not repeat words from the title), arranged alphabetically, should be listed and placed after the abstract.

Text: The text should begin on a fresh page and may be divided into sections, such as Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, and Conclusions. Not more than

three levels of headings should ordinarily be used in the text. A Short Communication shall not have subsection headings except for Acknowledgement(s) and References. Indicate the authority for all Latin names only once, when the name is first mentioned in the text, tables or figures. Alternatively, provide a general reference to a standard source of nomenclature, such as a well-known regional Flora, at an appropriate place. Latin names must always be italicized in the text.

References in text:

In the text, the references are cited chronologically. Example, Singh and Kushwaha (2006), Gunter et al. (2008), Zhang et al. (2010) and Sulistyawati et al. (2012) demonstrated that, (Singh and Kushwaha 2006; Gunter et al. 2008; Zhang et al. 2010; Sulistyawati et al. 2012). Note that the references are arranged year wise first and then arranged alphabetically.

References in the list:

However, references in the list seem to follow name and then the year:

Work of a single author shall come first followed by work by two authors and then multiple authors, arranged chronologically

Journal article:

Shapiro AM (2002) The Californian urban butterfly fauna is dependent on alien plants. *Divers Distrib* 8:31–40.

Shapiro AM, Shapiro AR (1973) The ecological associations of the butterflies of Staten Island. *J Res Lepid* 12:65–128.

Book:

Leps J, Smilauer P (2003) *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO*. Cambridge University Press, Cambridge

Edited book:

Chakrabarti DK, Lahiri N, Sinha S (2006) A preliminary report on the Stone Age of the Union Territory of Delhi and Haryana. In: Singh U (ed) *Delhi: ancient history*. Social Science Press, New Delhi, pp 6–13

Proceedings:

Vadivelu S (2007) Soil of coastal ecosystem in the southern states and their problems and potentials for land use planning. In: Proceedings of national symposium on the soil science research, Indian Society of Soil Science, Kolkata, pp 31–353

PhD dissertation:

Sina S (2006) Reproduction et diversité génétique chez *Parkia biglobosa* (Jacq.) PhD Dissertation. Wageningen University, Wageningen

On-line materials

Keita B (2000) Les sols dominants du Mali. Quatorzième réunion du Sous-Comité ouest et centre africain de corrélation des sols. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/005/y3948f/y3948f04.pdf>